

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE CEPAS DE *Salmonella* Typhimurium
OBTIDAS DE CARÇAÇAS E SUBPRODUTOS SUÍNOS**

Dissertação de Mestrado

FÁBIO MARCELO DE LIMA

Porto Alegre, fevereiro de 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE CEPAS DE *Salmonella* Typhimurium
OBTIDAS DE CARÇAÇAS E SUBPRODUTOS SUÍNOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Veterinárias

FÁBIO MARCELO DE LIMA

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Franciele Maboni Siqueira

Porto Alegre, fevereiro de 2022

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

CIP - Catalogação na Publicação

DE LIMA, FÁBIO MARCELO
Caracterização genômica de cepas de Salmonella
Typhimurium obtidas de carcaças e subprodutos suínos /
FÁBIO MARCELO DE LIMA. -- 2022.
205 f.
Orientador: Franciele Maboni Siqueira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2022.

1. S. Typhimurium. 2. WGS. 3. subproduto suíno. 4.
resistência antimicrobiana. I. Maboni Siqueira,
Franciele, orient. II. Título.

Fábio Marcelo de lima

CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE CEPAS DE *Salmonella* Typhimurium
OBTIDAS DE CARCAÇAS E SUBPRODUTOS SUÍNOS

Aprovado em 22/02/2022

APROVADO POR:

Prof. Dr^a. Franciele Maboni Siqueira
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof. Dr^a. Marisa Ribeiro de Ipanema Cardoso

Prof. Dr. Samuel Cibulski

Prof. Dr. Siomar Soares

*Aos meus queridos pais,
que como um farol iluminam
meu caminho, mesmo sabendo
que para isso seria necessário
lançar-me ao mar.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que foram exemplo de caráter e persistência e proporcionaram todo o suporte para que eu chegasse até aqui. Eu amo vocês.

À minha orientadora Franciele Maboni Siqueira, pelos ensinamentos, paciência e motivação, assim como às colegas do Laboratório de Bacteriologia Veterinária por terem me recebido cordialmente no grupo e pelo aprendizado.

Aos meus amigos, José Ravison e João Nacif, pelo incentivo e em especial ao Paulo Armendaris por todo o apoio. Também, aos colegas do LFDA-RS, especialmente, o pessoal do Laboratório de Diagnóstico, pela compreensão nos momentos em que tive que me ausentar.

RESUMO

Salmonella enterica subsp. *enterica* sorovar Typhimurium é o sorotipo de *Salmonella* mais prevalente e disseminado mundialmente em alimentos de origem cárnea, principalmente suína, e o mais relacionado à resistência múltipla a antimicrobianos em humanos. Apesar de sua grande relevância, poucos estudos têm sido conduzidos no Brasil com *S. Typhimurium* para caracterização de marcadores de virulência e resistência a antimicrobianos, e genômica comparativa entre isolados de diferentes origens. Portanto, o objetivo deste trabalho foi: i) descrever, através da análise de genoma completo, o repertório de genes de virulência, conteúdo plasmidial, genes de resistência a antimicrobianos, fagos e ilhas de patogenicidade de cepas de *S. Typhimurium*; e ii) determinar a relação filogenética das cepas estudadas (cepas não-clínicas) com cepas provenientes de casos clínicos humanos e suínos. Vinte e um isolados de *S. Typhimurium* obtidos de subprodutos suínos e carcaça suína da região sul do Brasil foram caracterizados e comparados genomicamente a isolados brasileiros, disponíveis nos bancos de dados públicos, obtidos de casos clínicos humanos e suínos. Todas as cepas sequenciadas foram classificadas como ST19 e cinco delas são variantes monofásicas *S. 1,4,[5],12:i:-*. Dentre os 21 genomas foram identificadas 15 sequências plasmidiais totalizando 12 perfis diferentes. As *S. Typhimurium* apresentaram perfis de virulência bastante parecidos, sendo preditos 476 genes de virulência e 10 ilhas de patogenicidade. Os genomas foram considerados multirresistentes, com altos níveis de resistência para aminoglicosídeos, tetraciclina, β -Lactâmicos, sulfonamida, fenicóis e trimetoprim. Os resultados das análises filogenéticas sugerem que há duas linhagens de *S. Typhimurium* disseminadas tanto em humanos quanto na cadeia produtiva de alimentos, mostrando relação filogenética direta entre isolados de origem clínica e não-clínica, enquanto que, parece haver uma terceira linhagem circulando exclusivamente em humanos.

Palavras-chave: *S. Typhimurium*, WGS, subproduto suíno, resistência antimicrobiana

ABSTRACT

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Typhimurium is the most prevalent and disseminated *Salmonella* serotype in meat food, mainly pork, and the most related to multiple antimicrobial resistance in humans. Despite its great relevance, few studies have been conducted in Brazil with *S. Typhimurium* to characterize virulence and antimicrobial resistance markers, and comparative genomics between isolates from different origins. Therefore, the objective of this work was: i) to describe, through whole genome analysis, the repertoire of virulence genes, plasmid content, antimicrobial resistance genes, phages and pathogenicity islands of *S. Typhimurium* strains; and ii) determine the phylogenetic relationship of the studied strains (non-clinical strains) with strains from human and swine clinical cases. Twenty-one *S. Typhimurium* isolates obtained from swine by-products and swine carcass from southern Brazil were characterized and genomically compared to Brazilian isolates, available in public databases, obtained from human and swine clinical cases. All sequenced strains were classified as ST19 and five of them are monophasic variants *S. 1,4,[5],12:i:-*. Among the 21 genomes, 15 plasmid sequences were identified, adding up to 12 different profiles. *S. Typhimurium* showed very similar virulence profiles, with 476 virulence genes and 10 pathogenicity islands predicted. The genomes were considered multidrug resistant, with high levels of resistance to aminoglycosides, tetracycline, β -Lactams, sulfonamides, phenicols and trimethoprim. The results of the phylogenetic analyzes suggest that there are two lineages of *S. Typhimurium* disseminated both in humans and in the food production chain, showing direct phylogenetic relationship between isolates of clinical and non-clinical origin, while there seems to be a third lineage circulating exclusively in humans.

Keywords: Typhimurium, WGS, swine by-product, antimicrobial resistance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição global dos cinco principais sorotipos de <i>Salmonella</i> não-tifoidal associados à doença clínica em humanos.	14
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Subespécies da espécie <i>S. enterica</i>	16
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	Resistência antimicrobiana
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
cgMLST	<i>Core genome Multi-Locus Sequence Typing</i>
eBG	eBurst groups
EU	União Europeia
GC	Conteúdo guanina-citosina
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MLST	<i>Multi-Locus Sequence Typing</i>
Mpb	Milhões de pares de bases
MS	Ministério da Saúde
NTS	<i>Salmonella</i> não tifoïdal
OMS	Organização mundial da Saúde
PAN-BR	Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos do Brasil
PFGE	<i>Pulsed field gel eletrophoresis</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polimorfism</i>
SPI	Ilha de patogenicidade de <i>Salmonella</i>
spv	<i>Salmonella plasmid of virulence</i>
ST	<i>Sequence type</i>
USA	Estados Unidos da América
wgMLST	<i>Whole genome Multi-Locus Sequence Typing</i>

SUMÁRIO

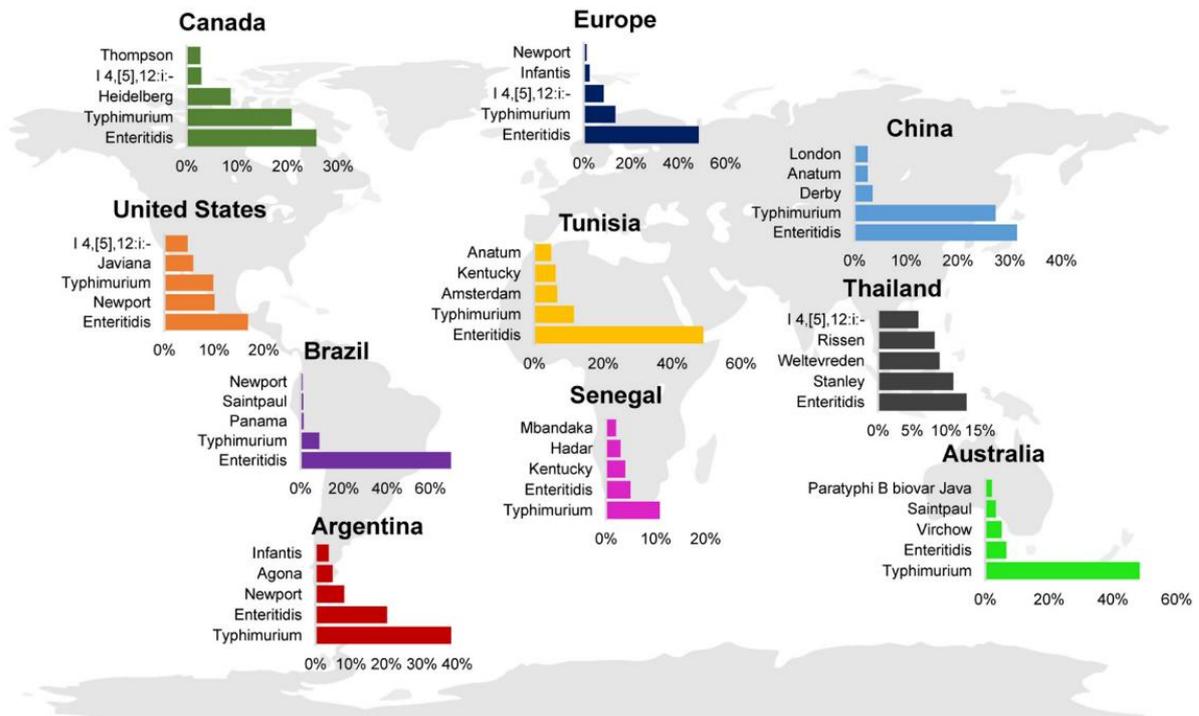
1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	16
2.2	CARACTERÍSTICAS GENÔMICAS DO GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	17
2.3	CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DO SOROTIPO <i>S. TYPHIMURIUM</i>	19
2.4	PARTICULARIDADES GENÉTICAS DO SOROTIPO <i>S. TYPHIMURIUM</i> E SUA VARIANTE MONOFÁSICA	20
2.5	IMPORTÂNCIA DA RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS NA SAÚDE PÚBLICA	25
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4	DISCUSSÃO.....	30
5	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Salmonelose, doença causada por uma variedade de sorovares de *Salmonella* spp., é uma das doenças transmitidas por alimentos mais comuns provocadas por bactérias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015a; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2019). Foi a segunda zoonose mais relatada em 2019 na União Europeia (UE), ficando atrás apenas da campilobacteriose. Foram contabilizados 87.923 casos humanos confirmados de salmonelose, dos quais 42,5 % necessitaram de hospitalização e 140 evoluíram para óbito (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2021a). Nos Estados Unidos da América (EUA), estima-se que 1,35 milhão de infecções, 26.500 hospitalizações e 420 mortes por ano sejam causadas por *Salmonella* spp. não tifóide (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019). Entre 2009 e 2018, *Salmonella* spp. foi o segundo patógeno mais identificado em doenças de origem alimentar no Brasil (BRASIL, 2019). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Typhimurium é um dos sorotipos mais importantes em saúde pública (Figura 1). No Brasil, apesar da falta de dados epidemiológicos, *S. Typhimurium* foi o sorovar mais comumente isolado de humanos e o terceiro de fontes não humanas na década de 90 (TAUNAY *et al.*, 1996) e tem sido relatado como o principal sorotipo isolado de infecções sistêmicas em humanos (REIS *et al.*, 2018).

Este sorotipo está disseminado pelo planeta e a carne suína é uma importante fonte de *S. Typhimurium* e sua variante monofásica (FERRARI *et al.*, 2019). Cepas multirresistentes têm sido reportadas ao longo da cadeia produtiva da suinocultura (POSSEBON *et al.*, 2020), incluindo suínos destinados ao abate e cortes cárneos, bem como em casos clínicos humanos (ALMEIDA *et al.*, 2015; MENEGUZZI *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019).

Figura 1 - Distribuição global dos cinco principais sorotipos de *Salmonella* não-tifoidal associados à doença clínica em humanos.



Distribuição geográfica dos cinco principais sorotipos de *Salmonella* não-tifoidal associados à doença clínica em humanos no período de 2004-2016. O gráfico de barras apresenta a proporção de ocorrência de cada sorotipo. Fonte: (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019).

S. Typhimurium representa risco à saúde pública devido a sua facilidade em alcançar alimentos e ambientes de processamento. A disponibilidade de dados sobre fatores de virulência, genes de resistência a antimicrobianos e a relação clonal de cepas circulantes em determinadas regiões pode contribuir no processo de decisão nas ações de saúde pública referentes a este agente.

Historicamente, métodos tradicionais de cultivo e identificação têm sido usados para caracterização fenotípica de patógenos bacterianos. No entanto, tais métodos têm passado por processos de melhoria com consequente automatização e/ou miniaturização. Na década de 90 métodos baseados na reação de PCR foram introduzidos e, mais recentemente, as técnicas de sequenciamento massivo de genomas, propiciando a obtenção de resultados mais rápidos e precisos. O sequenciamento de genoma completo (WGS) é uma ferramenta poderosa para estudo de rotas de transmissão e atribuição de fonte, sendo altamente adequada para patógenos como *Salmonella* (RANTSIOU *et al.*, 2018).

Como a disseminação de genes de resistência antimicrobiana (AMR) é um grande problema para a saúde pública em todo o mundo, estudos de disseminação de AMR,

mudanças de padrões e tendências em produtos de origem animal, bem como em isolados clínicos, ao longo do tempo, são importantes para fornecer informações em uma perspectiva de saúde única, orientando a terapia antimicrobiana empírica e contribuindo para a resposta global à resistência antimicrobiana (CAMPOS *et al.*, 2019), principalmente em um país de revelância mundial na produção de carne suína como o Brasil. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização genômica, determinar o perfil de clonalidade, e analisar a persistência de genes de resistência a antibióticos de isolados de *S. Typhimurium* provenientes de carcaças e subprodutos suínos na região Sul do Brasil (Santa Catarina e Rio Grande do Sul) através da análise por WGS.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características gerais do Gênero *Salmonella*

Salmonella é um gênero da família *Enterobacteriaceae* composto por duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica* (LAN; REEVES; OCTAVIA, 2009; JAJERE, 2019). De acordo com propriedades bioquímicas e relação genômica, a espécie *S. enterica* contém seis subespécies (Tabela 1), das quais a chamada *enterica* é comumente isolada de humanos e animais de sangue quente, e inclui mais de 2600 sorotipos. São bactérias Gram-negativas, em forma de bastão e anaeróbias facultativas. Enquanto a maioria dos membros do gênero *Salmonella* é móvel pela existência de flagelos peritriquiais, os sorotipos *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum são imóveis (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2013; RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017). O trato gastrointestinal de animais de sangue quente e frio é o reservatório da maior parte dos sorovares deste gênero (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2013; SHEKHAR, 2018; JAJERE, 2019). Assim, a presença de *Salmonella* em outros habitats como água, ambiente e alimentos indica contaminação fecal (CRUMP *et al.*, 2015; JAJERE, 2019).

Tabela 1 – Subespécies da espécie *S. enterica*.

Designação numérica	Nomenclatura
I	<i>enterica</i>
II	<i>salamae</i>
IIIa	<i>arizonae</i>
IIIb	<i>diarizonae</i>
IV	<i>houtenae</i>
VI	<i>indica</i>

Fonte: MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA (2013).

A caracterização dos sorotipos da subespécie *enterica* é feita de acordo com o sistema Kauffman-White, que os classifica de acordo com determinantes antigênicos incluindo os antígenos O (somático), K (capsular) e H (flagelar) (BRENNER *et al.*, 2000). O antígeno O é termoestável, está localizado na parte externa da membrana celular, portanto é um dos componentes do lipopolissacarídeo (LPS), sendo possível a expressão de mais de um antígeno O. O antígeno H é termoestável e encontrado no flagelo. A maioria das *Salmonella* spp. possui dois genes que codificam as proteínas flagelares. Sendo assim, estas bactérias podem ser difásicas (fase 1 e fase 2), tendo a habilidade de expressar apenas uma proteína de cada vez. O antígeno K raramente é encontrado na maioria dos sorotipos e é composto por

polissacarídeos da superfície da cápsula. Um subtipo de antígeno K, o antígeno Vi, é encontrado apenas nos sorotipos Paratyphi C, Dublin e Typhi (JAJERE, 2019).

A subespécie *S. enterica* pode ser classificada em duas categorias de acordo com a especificidade de hospedeiro: tifoidal e não tifoidal (NTS). As chamadas tifoidais incluem cepas que causam a febre tifoide e possuem como hospedeiro somente os humanos; já as cepas NTS incluem todos os outros sorovares, os quais podem ser carreados por humanos e animais e são causa importante de intoxicação alimentar (OCTAVIA; LAN, 2014). Dentre as NTS, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis afetam humanos e animais causando geralmente gastroenterite (JAJERE, 2019). Aproximadamente 5 % das salmoneloses NTS pode evoluir para bacteremia (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2013; CRUMP *et al.*, 2015). Bebês, crianças, idosos, indivíduos imunocomprometidos e com comprometimento da barreira ácida do trato digestivo são mais propensos a desenvolver infecções extraintestinais (GYLES *et al.*, 2010; CRUMP *et al.*, 2015). Diversos fatores de virulência estão envolvidos na patogenia da infecção por *Salmonella*, incluindo flagelo, cápsula, plasmídeos, sistemas de adesão e sistema de secreção tipo 3 (T3SS) (JAJERE, 2019). Os genes que codificam fatores de virulência podem estar localizados no cromossomo, em regiões conhecidas como Ilhas de patogenicidade de *Salmonella* (SPI), ou em plasmídeos de virulência (SINGH *et al.*, 2018).

2.2 Características genômicas do gênero *Salmonella*

O genoma bacteriano é formado, geralmente, por um cromossomo carregando genes essenciais e opcionalmente genomas extracromossomais (plasmídeos), cada qual com propriedades particulares (DICENZO; FINAN, 2017). Regiões codificantes são predominantes nos genomas bacterianos atingindo 88 a 97 % de seu conteúdo. O restante é dedicado à codificação de RNAs estruturais e funções regulatórias (KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020).

A evolução bacteriana ocorre principalmente por mutações induzidas por erros durante o processo de replicação ou danos à molécula de DNA, transferência horizontal de genes, rearranjos, duplicação, excisão e formação de pseudogenes. A transferência horizontal pode ocorrer por substituição ou inversão de sequências idênticas ou quase idênticas, ou pela incorporação de material genético novo através dos eventos de transformação, conjugação ou transdução (VILA NOVA *et al.*, 2019). Estes eventos são importantes em situações de adaptação a novos nichos. Por isso, a análise de similaridade do genoma em diferentes níveis, incluindo diferenças e similaridades nas SPIs é uma importante ferramenta para descrever a

relação entre isolados com diferentes especificidades de hospedeiro (JACOBSEN *et al.*, 2011). A transferência de material genético, através de elementos genéticos móveis, também tem importância na rápida disseminação de resistência a antimicrobianos, assim como os fagos (GUPTA *et al.*, 2019).

Ao contrário dos eucariotos, nos quais a diversificação do genoma ocorre em grande parte por duplicações de genes, nos procariotos a aquisição de material genético externo é o maior responsável pelas variações de seus genomas. Ainda assim, mutações, tanto em regiões bacterianas codificantes como não codificantes, podem resultar em novas funções e grandes alterações de fenótipo (PATEL, 2016; KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020). Embora tenha uma importância muito menor que nos eucariotos, há evidências de surgimento de genes a partir de regiões não codificantes em bactérias, como genes regulatórios envolvidos em formação de biofilme e virulência. Outro meio de “inovação” em genomas bacterianos já relatado se dá através de mudança da fase de leitura de um gene existente, que pode ser resultado de uma mutação, originando um novo produto gênico (KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020).

O material genético do gênero *Salmonella* está contido em um único cromossomo circular (MCCLELLAND *et al.*, 2001), sendo que cada cepa possui uma região genômica estável (*core*) e pode conter diversos genes acessórios incluindo ilhas de patogenicidade de *Salmonella* (SPIs), elementos transponíveis, fagos e plasmídeos. Ilhas de patogenicidade (SPI) são grupos de genes com conteúdo variável de G/C, podem estar localizadas no cromossomo ou plasmídeo, são flanqueados por sequências repetidas e codificam fatores de virulência (SINGH *et al.*, 2018; JAJERE, 2019) que conferem características à *Salmonella* as quais possibilitam a colonização do hospedeiro através de adesão, invasão, sobrevivência e evasão dos mecanismos de defesa como acidez gástrica, proteases gástricas e sistema imune (JAJERE, 2019). Em geral as SPIs são conservadas, havendo variabilidade entre isolados em determinadas regiões, o que pode implicar em diferenças como especificidade de hospedeiro (JACOBSEN *et al.*, 2011). Há 22 SPIs reportadas em *Salmonella*, sendo que nenhuma cepa contém todas as SPI, mas sim algumas específicas (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2013).

Cada ilha patogênica desempenha papéis diferentes na patogenicidade e virulência. Resumidamente, a SPI-1 é necessária para a invasão de células hospedeiras, por mediar rearranjos do citoesqueleto, e indução de apoptose de macrófagos; a SPI-2 está relacionada a infecções sistêmicas e replicação em macrófagos; a SPI-3 confere características que auxiliam

na adesão e na sobrevivência de *S. Typhimurium* em macrófagos além do crescimento de *Salmonella* em ambientes com baixo teor de magnésio; no que diz respeito à SPI-4 estão presentes genes responsáveis pela colonização intestinal, secreção de toxinas e apoptose, bem como sobrevivência intramacrófago; na SPI-5, existem genes agrupados que codificam várias proteínas efetoras do sistema de secreção tipo 3; já a SPI-6 estimula o transporte de proteínas para dentro da célula do hospedeiro; os genes da SPI-9 contribuem para a adesão às células epiteliais; os genes da SPI-13 possivelmente estão relacionados à infecção sistêmica enquanto que os genes da SPI-14 estão envolvidos no processo de invasão (FABREGA; VILA, 2013; MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2013; VELÁSQUEZ *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2018; DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019; JAJERE, 2019). Por sua vez, a região genômica C63PI codifica proteínas envolvidas na proteção contra estresse oxidativo e desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS), conferindo competitividade de sobrevivência à *Salmonella* dentro de células imunes que geram ROS (KIM *et al.*, 2017), e tem importância no transporte de ferro (DE MELO *et al.*, 2021). Por fim, a ilha genética no centíssimo 54 (ilha CS54) codifica proteínas relacionadas à colonização intestinal por *S. Typhimurium* (SABBAGH *et al.*, 2010; LÓPEZ *et al.*, 2012).

Estudos apontam que a maioria dos sorotipos de *Salmonella* possui plasmídeos de virulência sorotipo-específicos que estão presentes em pequeno número de cópias, e dependendo do sorotipo variam em tamanho de 50-100 kb (FABREGA; VILA, 2013; JAJERE, 2019).

A espécie *S. enterica* contém um pangenoma (conjunto total de genes, incluindo genes acessórios) de 25,3 Mbp com 1,5 Mbp contendo genes presentes em todos os genomas (*core genome*) e um *core genome* conservado de 3,2 Mbp presente em pelo menos 96 % dos genomas. Foram identificadas ainda 404 regiões genômicas de 1000 pb específicas das espécies de *S. enterica* (LAING *et al.*, 2017).

2.3 Características epidemiológicas do sorotipo *S. Typhimurium*

S. Typhimurium, patógeno com amplo espectro de hospedeiro (JAJERE, 2019), é um dos sorotipos mais frequentemente isolados ao redor do mundo envolvido em infecções entéricas em humanos e animais (HENDRIKSEN *et al.*, 2011; SHEKHAR, 2018; BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2019), podendo invadir sítios extraintestinais, o que pode resultar em bacteremia, meningite e outros tipos de infecções graves apresentando índice de mortalidade elevado, chegando a 24 % (FABREGA; VILA, 2013; WORLD HEALTH

ORGANIZATION, 2018; STANAWAY *et al.*, 2019). Surtos em humanos causados por *S. Typhimurium* tem sido atribuídos ao consumo de carne suína e seus subprodutos (ARNEDO-PENA *et al.*, 2016; BONARDI, 2017), embora outras rotas como o contato com diferentes espécies animais também sejam importantes (LUVSANSCHARAV *et al.*, 2020). Dados epidemiológicos sugerem que algumas de suas variantes patogênicas são altamente adaptadas a determinados hospedeiros, dentro de uma espécie ou grupo de espécies animais relacionadas, enquanto outras tem uma gama mais ampla (BRANCHU; BAWN; KINGSLEY, 2018). Suínos podem ser portadores assintomáticos por meses e situações estressantes, como o manejo pré-abate, podem resultar em aumento da excreção do patógeno (PATTERSON *et al.*, 2016; DOS SANTOS BERSOT *et al.*, 2019). Uma variante monofásica da *S. Typhimurium* que não expressa a segunda fase do antígeno flagelar, com fórmula *S. 4,[5],12:i:-*, foi inicialmente descrita na Espanha em 1997 (ECHEITA *et al.*, 1999) e desde então tem se espalhado pelo mundo.

No Estado de São Paulo, *S. Typhimurium* foi o sorotipo mais comumente isolado de humanos e o terceiro mais isolado de fontes não humanas antes da década de 1990 (ALMEIDA *et al.*, 2018). Estudos mais recentes indicam que este é o segundo sorotipo mais prevalente em alimentos (MIRANDA *et al.*, 2017), principalmente produtos produzidos a partir de carne suína (MOURA *et al.*, 2014), e está entre os três mais frequentes em amostras clínicas humanas (MIRANDA *et al.*, 2017; REIS *et al.*, 2018) no Brasil. Quando considerado juntamente com sua variante *S. 1,4,[5],12:i:-*, estão entre os mais encontrados, no Brasil, em amostras não humanas e ambientais (CASAS *et al.*, 2016) e produtos cárneos (RISTORI *et al.*, 2017). Já nos EUA *S. Typhimurium* ocupou a terceira posição entre os sorotipos mais comumente detectados em infecções em humanos em 2019 (TACK *et al.*, 2020). A variante monofásica *S. 1,4,[5],12:i:-* tem se tornado o sorotipo mais comum de *Salmonella* e está fortemente associado a subprodutos suínos, sendo reportado em muitos surtos nos EUA e Europa (SUN *et al.*, 2020a). Na União Europeia, *S. Typhimurium* e sua variante monofásica foram o segundo e terceiro sorotipos mais reportados em casos humanos confirmados em 2019, respectivamente (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2021a).

2.4 Particularidades genéticas do sorotipo *S. Typhimurium* e sua variante monofásica

A infecção pela *S. Typhimurium* inicia-se pela ingestão do patógeno através de água ou alimentos contaminados. A primeira barreira a ser ultrapassada para o estabelecimento da infecção é o ambiente ácido do estômago. Em resposta ao pH ácido são ativados mecanismos

de resposta para a manutenção do pH intracelular (proteínas de estress ácido). Em seguida, o patógeno alcança o intestino onde atravessa a camada mucosa e se adere às células epiteliais intestinais. O processo de adesão conduz a um rearranjo do citoesqueleto das células epiteliais provocado por proteínas efetoras produzidas e injetadas na célula do hospedeiro por sistema de secreção pela *Salmonella* que induzem o engolfamento do patógeno e formação de vesículas chamadas vacúolos contendo *Salmonella* (SCVs). Em consequência, os níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentam no intestino, estimulando a migração de fagócitos para o lúmen intestinal. Outra consequência é o aparecimento de diarreia e consequente perda de eletrólitos. Para evitar a ação das enzimas lisossomais da via endocítica, a *Salmonella* altera o tráfego endocítico, prevenindo a fusão dos SCVs com os lisossomos e garantindo a sobrevivência do micro-organismo. Com o intuito de manter a disponibilidade de nutrientes, longos filamentos (SIFs) são formados garantido a obtenção dos nutrientes para replicação da bactéria dentro dos SCVs. O patógeno pode alcançar a submucosa, seja por transcitose das células M e epiteliais ou diretamente através das células dendríticas. Uma vez localizada na submucosa, há a possibilidade de atingir a circulação sistêmica através de macrófagos e células dendríticas (FABREGA; VILA, 2013; KNUFF; FINLAY, 2017; SINGH *et al.*, 2018; DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019).

Os genes de virulência que propiciam o estabelecimento da infecção podem estar localizados nos cromossomos, principalmente nas ilhas de patogenicidade de *Salmonella* (SPIs), ou em plasmídeos. Algumas ilhas já têm seus genes e funções detalhadamente descritos. Os efetores que atuam no processo de invasão das células epiteliais intestinais através do rearranjo do citoesqueleto e seu sistema de translocação (sistema de secreção tipo III (T3SS-1)) são codificados na SPI-1 (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019; SINGH *et al.*, 2018). Já os genes localizados na SPI-2 contribuem para replicação e sobrevivência do patógeno dentro dos SCVs, tanto em células epiteliais como macrófagos. Assim como os efetores da SPI-1, os efetores da SPI-2 necessitam de um aparato de translocação o qual é formado pelo mesmo sistema da SPI-1, só que codificado na SPI-2 (T3SS-2). As SPIs 3 e 4, por sua vez, estão envolvidas na adesão inicial e sobrevivência durante a fase sistêmica da infecção (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019; SINGH *et al.*, 2018). A SPI-5 codifica genes de proteínas efetoras que atuam em diversas funções de patogenicidade durante a infecção como migração de leucócitos polimorfonucleares ao intestino assim como induzem à diarreia (DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019). Embora o produto dos genes codificados pela SPI-6 sejam relacionados à invasão, sua participação parece ser pequena já

que a deleção desta região não interfere na patogenia (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019; SINGH *et al.*, 2018). No entanto, sua atividade antibacteriana beneficia o patógeno do ponto de vista nutricional em face às demais espécies (SANA *et al.*, 2016; ANDERSON; KENDALL, 2017).

Outro elemento genético carreador de genes da codificação de fatores de virulência em *Salmonella* são os plasmídeos. Os plasmídeos de virulência são encontrados em apenas nove sorovares (Abortusovis, Abortusequi, Choleraesuis, Dublin, Enteritidis, Gallinarum/Pullorum, Paratyphi C, Sendai, Typhimurium), cada qual com características próprias. Uma das principais regiões contidas em plasmídeo é a SPV (*Salmonella plasmid of virulence*), fundamental na virulência por aumentar a taxa de crescimento do patógeno durante a fase sistêmica da doença (FABREGA; VILA, 2013; DOS SANTOS; CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019; HILEY; GRAHAM; JENNISON, 2019). No sorotipo. *S. Typhimurium* esse plasmídeo de virulência é conhecido como pSLT. Ele tem 95 Kb de comprimento e 46 % menos GC que outras partes do genoma. Há nele uma região altamente conservada de 8 Kb contendo cinco ORFs (*Open Reading Frames*) chamada *spv* (*Salmonella plasmid of virulence*). Trabalhos sugerem que essa região tem papel fundamental na virulência deste sorotipo, aumentando a taxa de crescimento do patógeno durante a fase sistêmica da doença e suprimindo o sistema imune inato (FABREGA; VILA, 2013; DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019; HILEY; GRAHAM; JENNISON, 2019). Ademais, fímbrias desempenham papel importante na formação de biofilme, colonização e ataque inicial ao hospedeiro. Treze *operons* com homologia para genes de biossíntese de famílias de fímbrias foram identificados no genoma de *S. Typhimurium*. Estudos com diferentes linhagens de células epiteliais indicam que o repertório de adesinas fimbriais determina a quais tipos de células epiteliais a bactéria consegue se aderir durante a infecção intestinal. Soma-se a isto a produção de biofilme que proporciona à *S. Typhimurium* a habilidade de sobreviver a ambientes hostis, incluindo o organismo do hospedeiro, sendo importante fator para o processo de infecção (TASSINARI *et al.*, 2019). Já o flagelo capacita *S. Typhimurium* a passar a barreira epitelial e provoca forte reação inflamatória causando ativação de fatores envolvidos na resposta imune do hospedeiro (DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019).

O achado de cepas bacterianas geneticamente muito próximas em diferentes plantas de processamento de produtos de origem animal levanta dúvidas quanto à variabilidade genética esperada para alguns patógenos (RANTSIOU *et al.*, 2018). Estudos exploratórios da

diversidade genética entre cepas de um mesmo micro-organismo são necessárias, especialmente para aqueles altamente clonais como *Salmonella* (LEEKITCHAROENPHON *et al.*, 2014).

Sugere-se que *S. Typhimurium* tenha mais de um ancestral, já que seus diferentes *sequence types* (STs) não apresentaram relação filogenética próxima quando comparados com outros 20 sorotipos de *Salmonella* (LAN; REEVES; OCTAVIA, 2009). *S. Typhimurium* oriunda de humanos e animais na Malásia apresentaram alta diversidade genotípica quando analisados por *Pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) (ALMEIDA *et al.*, 2015). Já no Brasil, trabalhos têm reportado cepas geneticamente muito similares de diferentes fontes/origens (ALMEIDA *et al.*, 2015).

Trabalhos do final da década de 90 e início dos anos 2000 utilizando dados de *Multi-Locus Sequence Typing* (MLST) e estudo filogenético concluíram que o gênero *Salmonella* apresenta estrutura populacional hierárquica com alto nível de recombinação e baixo nível de clonalidade dentro das subespécies (LAN; REEVES; OCTAVIA, 2009), sendo os clones bastante estáveis (SPRATT, 2004). Já outro estudo filogenético baseado em sequenciamento de genoma completo de isolados de coleções representativas da diversidade genética de *S. Typhimurium* em populações naturais revela uma topologia de árvore similar a outros sorotipos da mesma subespécie, porém com múltiplas extremidades curtas dos ramos indicando expansão clonal em epidemias (BRANCHU; BAWN; KINGSLEY, 2018). Neste estudo, isolados obtidos de bovinos, suínos e aves domésticas ficaram alocados em um clado com alta diversidade nas extremidades caracterizando expansão clonal. Enquanto que um segundo clado abrigou uma diversidade maior de espécies de hospedeiros e ramos mais longos evidenciando menor expansão clonal (BRANCHU; BAWN; KINGSLEY, 2018).

Considerável microevolução ocorre em curtos períodos de tempo durante a expansão clonal, podendo alterar diversas características do genoma, incluindo susceptibilidade a antimicrobianos. De forma semelhante, variações genômicas fora das regiões determinantes de resistência a antimicrobianos podem ocorrer em clones epidêmicos. A plasticidade do genoma bacteriano é responsável por essa característica tendo em vista a ocorrência de deleções, inserções, rearranjos, recombinações, aquisição de fagos, elementos conjugativos e plasmídeos. Portanto, descendentes de um ancestral comum podem diferir de alguma forma em seus genótipos (SPRATT, 2004; BRANCHU; BAWN; KINGSLEY, 2018).

Sendo assim, a estrutura populacional e a relação entre isolados deve ser avaliada através de genes cuja variação genética na população seja devida principalmente à seleção

natural, como genes essenciais em processos metabólicos (genes *housekeeping*). Um método que atende estes requisitos é o MLST, capaz de identificar toda variação genética em cada *locus*, com alto nível de discriminação, usando variação genética neutra que se acumula vagarosamente ao longo da evolução (SPRATT, 2004). É importante ressaltar que o comportamento de clonalidade pode variar ao longo do tempo havendo troca do estilo de vida entre populações clonais e panmíticas (SHAPIRO, 2016).

A taxa de substituição de bases inicialmente calculada para *S. Typhimurium* foi de 10^{-10} à 10^{-9} por ano, o que significa que não se espera alterações no genoma em menos de 100 anos (OCHMAN; ELWYN; MORAN, 1999). No entanto, trabalhos mais recentes tem demonstrado taxas de substituição variando de 1×10^{-7} à 12×10^{-7} , significando um à cinco SNPs por genoma por ano (HAWKEY *et al.*, 2013), sendo esta a taxa empregada atualmente. O possível impacto dessas substituições é a possibilidade de perda de genes necessários para a circulação da variante patogêncica em múltiplos hospedeiros, resultando variantes hospedeiro-específicas (BRANCHU; BAWN; KINGSLEY, 2018).

Em 2012 foram identificadas 138 populações genéticas para a subespécie *enterica*, com base em análise de dados de MLST. Estas populações, conhecidas como eBurst Groups (eBG), consistem em agrupamentos de ST com diferença em apenas uma das sete sequências de genes *housekeeping*. Atualmente há 9.030 STs identificados para a subespécie *enterica* (<https://pubmlst.org/data/>). Para muitos isolados, a caracterização de eBG coincide com a caracterização por sorotipo (ACHTMAN *et al.*, 2012). No entanto, vários sorotipos foram associados a eBGs geneticamente não relacionados. O agrupamento formado pelo sorotipo *S. Typhimurium* incluiu suas variantes monofásica, rugosa e imóvel, indicando serem possivelmente resultado de mutações ou recombinações afetando a expressão dos antígenos LPS e flagelar. *S. Typhimurium* foi ainda agrupada com os sorotipos Kunduchi, Farsta e Hato, que pertencem a outros seis STs não relacionados entre si e nem com *S. Typhimurium* (ALIKHAN *et al.*, 2018).

Isolados de *S. Typhimurium* compõe majoritariamente o eBG1. No entanto, alguns isolados são encontrados no eBG138. Atualmente, a base de dados PubMLST contém 2.199 isolados de *S. Typhimurium* dos quais 101 não possuem atribuição de ST. Considerando os demais isolados, a coleção de *S. Typhimurium* apresenta 70 ST diferentes (https://pubmlst.org/bigsub?db=pubmlst_salmonella_isolates&page=query&genomes=1. Dados coletados em 17/01/2022). No Brasil, foram reportados o ST19 e ST1921 em suínos, ST19, ST213, ST313, ST1649, ST1921 e ST3343 em humanos e alimentos (WIESNER *et al.*,

2016; PANZENHAGEN *et al.*, 2018; SERIBELLI *et al.*, 2021b) assim como o ST3438 na cadeia de produção de alimentos de origem suína (MONTE *et al.*, 2019). É importante ressaltar que novos clones da variante monofásica S. 4,[5],12:i:- têm surgido a partir de diferentes cepas de *S. Typhimurium* através de eventos genéticos independentes (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020).

No estado de São Paulo, o ST mais isolado a partir de fontes humanas é o ST19 seguido pelo ST313 (ALMEIDA *et al.*, 2017). Os genomas brasileiros de ST313 apresentam alta similaridade entre eles independente da fonte (humanos ou alimentar) e do método utilizado no sequenciamento (SERIBELLI *et al.*, 2020a). Em *S. enterica* nota-se o agrupamento de isolados por sorotipo e ST, sendo essas duas características mais relevantes para a formação de agrupamento que o perfil de resistência antimicrobiana, ano, fonte e região geográfica de isolamento (MONTE *et al.*, 2019). A existência de alta similaridade entre sorotipos independentemente do ano de isolamento, sugere ampla distribuição e persistência de cepas de *Salmonella* no Brasil (MONTE *et al.*, 2019). No Brasil, pelas análises *in silico* disponíveis até o momento, o agrupamento de isolados de *S. Typhimurium* tem se caracterizado de forma que aqueles de origem alimentar tendem a se apresentar tanto em clados de cepas alimentares quanto humanas. Já os de origem humana foram mais prevalentes em clado distinto. Isto sugere a existência de mais de um subtipo alimentar circulando no Brasil, e que parece haver um subtipo mais adaptado aos humanos (ALMEIDA *et al.*, 2015, 2018).

2.5 Importância da resistência a antibióticos na saúde pública

Os antibióticos são o alicerce no tratamento de doenças infecciosas provocadas por micro-organismos (SAIMA *et al.*, 2020) e seu uso teve início na década de 20 com a descoberta da penicilina e mais tarde da sulfonamida (VAN HOEK *et al.*, 2011). Estima-se que em 2010 o uso mundial de antimicrobianos na produção de animais para consumo foi de 63.151 toneladas com um incremento estimado de 67 % até 2030. Em 2010 o Brasil ocupou a terceira posição no *ranking* de consumo global de antimicrobianos. Projeta-se que para 2030 seja mantida a posição no *ranking* atrás apenas de China e EUA (SAIMA *et al.*, 2020).

Resistência a antibióticos é a habilidade que micro-organismos têm de combater (SAIMA *et al.*, 2020), se adaptar e crescer na presença de antibióticos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015b), sendo essa característica conferida por bases moleculares. Estima-se que nos EUA, a cada ano, 23.000 pessoas vêm a óbito em consequência de

infecções causadas por patógenos resistentes e são contabilizados mais de 20 bilhões de dólares em prejuízo econômico (MUNITA; ARIAS, 2016).

O desenvolvimento de resistência a antibióticos pode se dar por modificação ou destruição da molécula, diminuição da entrada ou aumento da eliminação da droga, alterações do sítio alvo e adaptação de processos metabólicos do patógeno, e pode ser resultado de mutações cromossômicas ou obtenção de determinantes genéticos de resistência através de transferência horizontal (MUNITA; ARIAS, 2016; SAIMA *et al.*, 2020). A resistência a antimicrobianos desenvolvida por modificações da molécula antimicrobiana acontece pela ação de enzimas produzidas pelo patógeno alvo, estando a maioria relacionada à inibição proteica em nível de ribossomos. Já a resistência caracterizada pela destruição da droga ocorre pela ação de enzimas que atuam em sua estrutura química, resultando em um produto inerte. Diversos antibióticos atuam em alvos intracelulares, portanto, a sua passagem pela membrana citoplasmática é indispensável. A limitação do fluxo de substâncias em direção ao interior do micro-organismo é um dos meios utilizados para sobreviver à ação dessas drogas, sendo particularmente importante em bactérias Gram-negativas (MUNITA; ARIAS, 2016). A permeabilidade da membrana externa é controlada por canais chamados porinas que controlam seletivamente a entrada de substâncias, podendo contribuir em diferentes níveis para a inacessibilidade da droga ao seu alvo. Em contrapartida, a capacidade de remover substâncias antibióticas do citoplasma para o meio externo também pode atuar no desenvolvimento de resistência. As chamadas bombas de efluxo têm sido descritas em patógenos Gram-positivos e negativos, com especificidade restrita ou ampla a substratos. Outra possibilidade para superar a ação de substâncias antibióticas é a alteração de seus sítios alvo. Este mecanismo pode ser alcançado pela produção de proteínas que protegem o sítio alvo ou pela diminuição da afinidade entre a droga e seu sítio alvo obtida por mutações, alterações bioquímicas ou até substituição do alvo. Igualmente importante aos mecanismos já citados, a adaptação do metabolismo constitui um importante processo para sobrevivência. Seu papel está relacionado à manutenção de processos metabólicos em face à ação de drogas antimicrobianas (VAN HOEK *et al.*, 2011; MUNITA; ARIAS, 2016).

O uso incorreto e indiscriminado de antibióticos, tanto em medicina humana quanto animal, agricultura, e pecuária tem acelerado a seleção e manutenção de cepas bacterianas resistentes em nível global (LIKOTRAFITI *et al.*, 2018).

Considerando o impacto na saúde humana e animal, o combate à resistência aos antibióticos tem alta prioridade para a Organização Mundial da Saúde (OMS). Desde 2015,

esforços têm sido direcionados ao combate à resistência aos antimicrobianos através do plano mundial para resistência, o qual tem como objetivo garantir a prevenção e tratamento de doenças infecciosas de forma segura e efetiva (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). Em convergência aos objetivos da OMS neste tema, elaborou-se o Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos do Brasil (PAN-BR) com participação de vários atores, dentre eles Ministério da Saúde (MS), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Dentre seus objetivos está a construção e estabelecimento de um sistema nacional de monitoramento integrado de resistência a antimicrobianos tendo como uma de suas atividades a implementação de vigilância de resistência em bactérias isoladas de animais destinados à produção de alimentos, da indústria de alimentação animal e dos programas oficiais de patógenos (BRASIL, 2018).

O sucesso da análise de riscos ligados à cadeia produtiva de alimentos, auxiliando na tomada de decisões e priorização de medidas para mitigação destes riscos, depende de um sistema adequado de vigilância. A vigilância de resistência a antimicrobianos tem sido feita por métodos fenotípicos dependentes de cultura. No entanto, estes métodos não fornecem informações completas dos mecanismos que levam à resistência ou sobre presença ou disseminação de genes. O sequenciamento de genoma completo tem demonstrado grande potencial para vigilância epidemiológica e estudo de surtos (ONICIUC *et al.*, 2018) com alta capacidade de predição *in silico* de resistência antimicrobiana, demonstrada por diversos trabalhos que relatam altos níveis de concordância com métodos fenotípicos permitindo aplicação na seleção de terapias antimicrobianas em casos clínicos ou análise de tendência em AMR (ZANKARI *et al.*, 2013; MCDERMOTT *et al.*, 2016; ONICIUC *et al.*, 2018; GUPTA *et al.*, 2019). O controle e monitoramento contínuos de sorotipos de *Salmonella* multirresistentes relacionados a produtos de origem suína, como *S. Typhimurium*, assim como os níveis de resistência a antibióticos, são críticos para minimizar a introdução do patógeno na cadeia produtiva de alimentos de origem animal e consequente transmissão aos humanos (CAMPOS *et al.*, 2019).

A resistência a antimicrobianos é um problema global de saúde pública. Nos EUA tem-se registrado o aumento de cepas de *Salmonella* não tifoidal (NTS) menos suscetíveis a antibióticos essenciais (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019). O Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC) estima que a incidência anual de infecções humanas causadas por *Salmonella* com resistência clinicamente importante

aumentou em 40 % durante 2015-2016 comparado com 2004-2008 (MEDALLA *et al.*, 2021). Na UE a maior proporção de resistência múltipla em *Salmonella* spp. foi reportada em casos humanos e altos níveis de *Salmonella* spp. multirresistentes foram encontrados em carcaças de animais destinados à alimentação, alcançando 88 % em carcaças suínas (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2021b).

S. Typhimurium é reportada como o principal sorotipo relacionado à resistência múltipla a antimicrobianos em humanos (CRUMP *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2018), resultando em aumento no número de mortes humanas, longos períodos de internação hospitalar e altos custos de tratamento devido à falha terapêutica (REIS *et al.*, 2018; JAJERE, 2019). Esta mesma característica de resistência múltipla a antimicrobianos ocorre em isolados de *S. Typhimurium* de casos clínicos oriundos de rebanhos suínos no Brasil (MENEGUZZI *et al.*, 2017) e linfonodos mesentéricos coletados em abatedouros do Estado de São Paulo (POSSEBON *et al.*, 2020). Embora haja divergência na proporção de isolados resistentes encontrados, vários trabalhos relatam altos níveis de resistência para *S. Typhimurium* no Brasil (ALMEIDA *et al.*, 2015, 2018; REIS *et al.*, 2018). Já na UE, os níveis de resistência múltipla reportados são bastante altos alcançando 30,9 % em *S. Typhimurium* e 73,8 % para sua variante monofásica *S. 1,4,[5],12:i:-* (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2021b).

Micro-organismos resistentes podem circular em populações humanas e animais através de alimentos, água e ambiente, e a transmissão pode ser influenciada por comércio, viagens e migração animal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015; SHEKHAR, 2018). Portanto, o controle e monitoramento de *Salmonella* e seus clones multirresistentes ao longo da cadeia de produção de subprodutos oriundos da carne suína, em especial o sorotipo *S. Typhimurium*, são de fundamental importância para a redução da introdução deste patógeno no sistema de produção alimentar e sua consequente disseminação (AERTS *et al.*, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterização genômica de isolados de *Salmonella* Typhimurium provenientes da cadeia produtiva suinícola da região Sul do Brasil e suas relações filogenéticas com isolados clínicos.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a montagem e anotação de 21 genomas de *S. Typhimurium*.
- Realizar a caracterização genômica dos isolados.
- Identificar os genes de resistência a antimicrobianos e virulência presentes nos genomas anotados.
- Determinar as relações filogenéticas dos 21 genomas com isolados de *S. Typhimurium* provenientes de surtos alimentares em humanos do Brasil, bem como isolados clínicos suínos.

4 DISCUSSÃO

Salmonella Typhimurium é um dos patógenos mais importantes em doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo relacionado a produtos suínos e causa sérias perdas econômicas. Neste trabalho 21 genomas de *S. Typhimurium* obtidos de carcaças de suínos e linguiça suína entre 2001 e 2015, em dois estados brasileiros (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) foram montados, anotados, caracterizados *in silico* e comparados filogeneticamente com genomas de *S. Typhimurium* obtidos de amostras humanas (sangue e fezes) e de suínos (fezes) do Brasil. Mostramos que as cepas de *S. Typhimurium* estudadas carregavam vários genes de virulência, bem como múltiplos genes de resistência antimicrobiana e apresentaram estreita relação filogenética com cepas de casos clínicos humanos e de suínos. Este cenário sugere alto potencial patogênico de nossas cepas de *S. Typhimurium* para humanos e uma possibilidade de disseminação de genes de resistência a antimicrobianos, no que diz respeito a questões de Saúde Única.

Todas as cepas analisadas foram caracterizadas como ST19, um clone de *S. Typhimurium* emergente associado a doença clínica em humanos (PANZENHAGEN *et al.*, 2018; BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2019), e o ST de *S. Typhimurium* mais associado a gastroenterite no mundo (KINGSLEY *et al.*, 2009; MONTE *et al.*, 2019). *S. Typhimurium* ST19 tem sido relatado como o *sequence type* predominante em alimentos e carne suína no Brasil (ALMEIDA *et al.*, 2017; SERIBELLI *et al.*, 2021b) e geneticamente distinto de cepas ST19 associadas a gastroenterite em todo o mundo (MONTE *et al.*, 2019). Outros autores, ainda, relataram diferentes STs em *S. Typhimurium* recuperados de uma variedade de alimentos e amostras clínicas (fezes) de pacientes no Brasil (DE MELO *et al.*, 2021). Contrastando com nossos dados, a variante monofásica de *S. Typhimurium* foi mais associada ao ST34 do que ao ST19 em estudo realizado na Espanha (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020).

De acordo com o SPIFinder, 10 ilhas de patogenicidade de *Salmonella* foram preditas nas cepas de *S. Typhimurium* (C63PI, ilha CS54, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14). SPIs são regiões do cromossomo bacteriano que abrigam genes de virulência obtidos por transmissão horizontal de outras bactérias durante a evolução. A presença da C63PI em 20 cepas sugere alto potencial para sobrevivência prolongada dentro de células do sistema imune (KIM *et al.*, 2017). Estudos anteriores têm reportado a ausência em *S. Typhimurium* da cadeia produtiva de alimentos de algumas das SPIs encontradas em nossos isolados como a SPI-9 e CS54 (MONTE *et al.*, 2019), CS54 em isolados de diferentes

matrizes em Portugal (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020), e ainda C63PI e CS54 em isolados suínos (SERIBELLI *et al.*, 2021a). Outro estudo contemplando isolados de *S. Typhimurium* a partir de alimentos e casos clínicos humanos reportou todas as SPIs encontradas em nossos isolados com exceção da SPI-9 e CS54 (DE MELO *et al.*, 2021). Acrescenta-se também que a SPI-8, a qual carrega genes de virulência para bacteriocinas (VILA NOVA *et al.*, 2019), ausente em nossas cepas foi encontrada recentemente em análise de *S. Typhimurium* isolada de suínos no Estado de Santa Catarina (Brasil) (SERIBELLI *et al.*, 2021a). Possivelmente, sua ausência pode dever-se ao fato de que a SPI-8 ocupa exatamente a mesma localização genômica da SPI-13 (ESPINOZA *et al.*, 2017), presente em nossas cepas.

Além disso, cinco (23,8 %) cepas foram caracterizadas como potencial variante monofásica de *S. Typhimurium* pelo *pipeline* Seqsero (ZHANG *et al.*, 2015) e plataforma SISTR (YOSHIDA *et al.*, 2016). A variante monofásica da *S. Typhimurium* (*S.* 1,4,[5],12:i:-) tem se tornado um dos sorotipos mais comumente associados a produtos de carne suína (FERRARI *et al.*, 2019), e tem sido reportado em muitos surtos nos EUA e Europa (SUN *et al.*, 2020a). Embora o Seqsero tenha sido considerado mais confiável para predição sorológica do que ferramentas semelhantes, ele não identificou corretamente as variantes monofásicas positivas para *fljB* (*S.* 4, [5], 12: i :-) em trabalhos recentes (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020; BANERJI *et al.*, 2020). Como podemos ver no ANEXO G, nossas cepas monofásicas não continham os genes *fljA*, codificante de um repressor de *fliC* que é responsável pela primeira fase, e *fljB* cujo produto codifica a segunda fase flagelar (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020).

Destacamos ainda que todos os genomas de *S. Typhimurium* analisados foram semelhantes em relação ao conteúdo de genes de virulência, tal como relatado em trabalho anterior que estudou cepas humanas e de alimentos de *S. Typhimurium* do Brasil (SERIBELLI *et al.*, 2020b).

O processo de infecção por *S. Typhimurium* envolve adesão bacteriana, invasão, maturação e replicação no vacúolo contendo *Salmonella* (SCV). Por fim, o patógeno vence os mecanismos de defesa do hospedeiro para desenvolver um estilo de vida intracelular (LÓPEZ *et al.*, 2012). Para que o patógeno tenha êxito nesse processo, vários fatores de virulência são utilizados. As cepas de *S. Typhimurium* estudadas contêm um amplo repertório de fatores de virulência que favorece a adaptação ao hospedeiro (CAMPOS *et al.*, 2019; SERIBELLI *et al.*, 2020b). Dentre os fatores de virulência podemos destacar genes que codificam para maior eficiência na colonização (*clpB*), adesão (*csgA*, *fimA/C*, *pefA*, *stbD*, *marT*), invasão intestinal

(*invA*, *invE*, *spvC*, *sopE2*), colicinas (*cvpA*, *cirA*, *fepA*, *tolA*), sobrevivência em tecidos do hospedeiro (*sopA*, *avrA*, *sseI*, *mig-5*), evasão do sistema imune (*pagC*, *sseA*, *steA*, *sopD2*, *fadD*, *STM0972*, *steC*, *sseL*, *gtrA*), adaptação ao estresse (*hfq*, *rpoB*, *spoT*, *clpB*, *ibpB*, *hscC*, *hslT*, *cstA*, *ompR*, *relA*), formação de biofilme (*adeG*), entre outros. Alguns genes bastante importantes na capacidade de virulência do sorotipo Typhimurium foram localizados nos fagos preditos nas cepas estudadas como *gogB* e *sodC1* (sobrevivência intracelular), *invABEFGH* e *sopE2* (invasão intestinal), *ssek2* (formação de biofilme), *ssph2* e *sseL* (evasão do sistema imune).

Tanto *sopE* quanto *sopE2*, importantes fatores de virulência que codificam uma proteína efetora do T3SS-1 que aumenta tanto a inflamação intestinal quanto a invasividade durante a infecção por *S. Typhimurium* (BAKSHI *et al.*, 2000; RAFFATELLU *et al.*, 2005; LOPEZ *et al.*, 2012), são sugeridos como produto de duplicação gênica, sendo o último gene mais amplamente distribuído e conservado do que o primeiro (BAKSHI *et al.*, 2000). Nossas análises *in silico* identificaram o gene *sopE2* em maior proporção (em todas as cepas estudadas) do que *sopE* (SA043 e SA045), tal qual reportado em estudo anterior (DE MELO *et al.*, 2021). Por sua vez, tem sido sugerido que *safA* (identificado no genoma SA050) e *safD* (identificado nos genomas SA030, SA032, SA034, SA035, SA038, SA041, SA047, SA048 e SA050) são necessários para reconhecimento do hospedeiro e essenciais para a interação inicial (ZENG *et al.*, 2017). Já a ORF (*Open Reading Frame*) *spvRABCD*, encontrada em plasmídeos de três cepas monofásicas (SA034, SA049 e SA051), contém genes importantes no estabelecimento da infecção sistêmica, contribuindo para a translocação do patógeno através do epitélio intestinal (SUN *et al.*, 2020b), inibindo a formação do autofagossoma e aumentando a sobrevivência intracelular em células imunes, assim como diminuindo a resposta inflamatória (CHU *et al.*, 2016; DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2019; ZHOU *et al.*, 2021).

Colicinas são moléculas proteicas com características antimicrobianas produzidas por bactérias em condições de estresse para matar ou inibir espécies intimamente relacionadas, proporcionando competitividade durante a colonização intestinal (CURSINO *et al.*, 2002). Os genes envolvidos com a biossíntese de colicinas identificadas nos genomas de *S. Typhimurium* estudados codificam a proteína de produção/secreção de Colicina V (*cvpA*), o translocador e receptor de colicina 1a, assim como receptor de membrana externa envolvido na captação de ferro (*cirA*) (ZHANG *et al.*, 2019), receptor para sideróforos (*fepA*), e uma proteína transportadora (*tolA*).

Curiosamente, um pequeno número de genes de virulência foi identificado exclusivamente em genomas específicos, como por exemplo: *ipaH* (identificado nos genomas SA037 e SA041) e *Z4282* (identificado nos genomas SA045 e SA048), os quais codificam uma proteína efetora de T3SS com atividade de ubiquitina que age em diversas funções celulares (ASHIDA; SASAKAWA, 2016), e um suposto determinante de virulência presente em uma ilha de *Escherichia coli* O157:H7 (SPEARS; ROE; GALLY, 2006), respectivamente. Por outro lado, alguns genes foram preditos em genomas exclusivos, especificamente *supX* foi um gene identificado apenas na cepa SA032, *traJ* foi identificado apenas na cepa SA035, *safA* apenas na cepa SA050 e *pntB* apenas na cepa SA051. Tais genes codificam uma Piridina Nucleotídeo Transidrogenase, a principal subunidade do pili (ZENG *et al.*, 2017), uma proteína DNA topoisomerase I promovendo aumento dos níveis de super-enovelamento negativo do DNA podendo impactar na expressão de genes de virulência (DORMAN, 1991), e um ativador transcricional de operon de transferência, respectivamente.

Interessantemente, partes dos operons *stbABCDE*, *stcABCD* e *stdABCD*, que contribuem para persistência intestinal de longo prazo e habilidade de dispersão pelas fezes de *S. Typhimurium* (WEENING *et al.*, 2005), não foram encontrados em algumas cepas específicas, assim como os genes *STM0328.s*, *STM2585*, *STM4155*, *STM4206* e *STM4316* que codificam proteínas hipotéticas da cepa referência *S. Typhimurium* LT2 (MCCLELLAND *et al.*, 2001).

A maioria dos genes de resistência a antimicrobianos identificados esteve presente em todos os genomas de *S. Typhimurium* analisados no presente estudo, sendo as cepas consideradas potencialmente multirresistentes, segundo as análises *in silico*. Atualmente, a previsão de resistência bacteriana por análise de WGS mostra alta concordância com a determinação do perfil de resistência fenotípica (ZANKARI *et al.*, 2013; MCDERMOTT *et al.*, 2016; GUPTA *et al.*, 2019). Em um estudo que avaliou a concordância entre a predição de resistência por WGS e métodos fenotípicos de susceptibilidade especificamente em *S. Typhimurium*, concluiu-se que o método baseado em WGS é uma ferramenta efetiva para rastreamento dos mecanismos de resistência antimicrobiana. Por outro lado, é unânime que mais estudos são necessários para uso desta ferramenta como método único no diagnóstico clínico (MENSAH *et al.*, 2019). Altas proporções de isolados multirresistentes de *S. 1,4,[5],12:i:-* (73,8 %) e *S. Typhimurium* (30,9 %) obtidos de humanos foram relatadas em 2019 na Europa (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2021b). Vários outros estudos encontraram cepas de *S. Typhimurium* resistentes a múltiplas moléculas

antimicrobianas em amostras clínicas humanas, de alimentos, de bovinos e suínos (ALMEIDA *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2020a).

Mais especificamente, nossas cepas continham genes que conferem resistência aos antimicrobianos mais frequentemente relatados pelo CDC e Sistema Nacional de Monitoramento da Resistência Antimicrobiana para Bactérias Entéricas (NARMS) entre 1996 e 2016 (*blaTEM*, *catA1*, *floR*, *aph(4)-Ia*, *aac(3)-IV*, *aac(3)-II*, *aph(6)-Id*, *aadA*, *aph(3)-Iia*, *aph(3)-Ib*, *aph(6)-Ic*, *sul1*, *sul2*, *sul3*, *tetA* e *tetB*), bem como resistências genotípicas muito semelhantes às obtidas no Brasil em isolados de suínos e humanos no período de 1990-2018 (RODRIGUES *et al.*, 2020a). Os genes *aac(6')-laa*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *aadA1* and *aadA*, *sul1*, *dfrA*, and *tetA*, *tetB*, *tetC* também têm sido identificados em *S. Typhimurium* isoladas de alimentos e amostras clínicas humanas no Brasil (DE MELO *et al.*, 2021).

Os genes da família dos aminoglicosídeos foram os mais comuns entre nossas cepas, assim como relatado em trabalho anterior (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020). Outros autores também relataram não somente genes marcadores de resistência a aminoglicosídeos, mas também trimetoprim, β -lactâmicos, fluoroquinolona, fenicol, fosfomicina e macrolídeos em cepas de *S. Typhimurium* (SERIBELLI *et al.*, 2021a).

Uma das nossas cepas foi identificada contendo o gene recentemente caracterizado *qnrE1* (ALBORNOZ *et al.*, 2017), que é responsável pela resistência às quinolonas. O primeiro relato global desse gene em *S. Typhimurium* ocorreu recentemente no Brasil (MONTE *et al.*, 2019), em isolados de suínos e aves datados do ano de 2000 até 2016. Nosso achado pode indicar a disseminação do gene *qnrE1*, e por isso, a vigilância epidemiológica molecular, bem como estratégias de mitigação são necessárias para conter a distribuição de patógenos que carregam esse gene.

Os altos níveis de resistência à tetraciclina observados neste estudo são comparáveis a trabalhos anteriores realizados em cepas de rebanhos suínos (MENEGUZZI *et al.*, 2017), humanos, animais e carnes no varejo (WANG *et al.*, 2019), e superiores aos encontrados por outros autores em amostras de humanos, alimentos e suínos (ALMEIDA *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020a). O uso de tetraciclina como aditivo para melhorar o desempenho animal está proibido no Brasil desde 2009 (MAPA, 2009). No entanto, tem sido o antibiótico mais utilizado na suinocultura em termos terapêuticos (ALMEIDA *et al.*, 2016).

De acordo com nossas análises *in silico*, cinco genomas de *S. Typhimurium* carregavam o gene *lnu(G)*, o qual confere resistência à lincosamida, molécula utilizada amplamente para tratamento de infecções comuns em animais de produção. Nas cepas, o gene *lnu(G)* foi

localizado em plasmídeos, apresentando 100% de cobertura e 100% de identidade com a sequência referência do banco de dados (ZANKARI *et al.*, 2012), com exceção de uma cepa (SA031 - 99,88 % de identidade). Enquanto a lincosamida tem ação contra diversos gêneros de bactérias Gram-positivas e poucos gêneros Gram-negativos, a subespécie *enterica* é naturalmente resistente a esta droga (PYÖRÄLÄ *et al.*, 2014; MURPHY; BISTAS; LE, 2021). O gene *lnu(G)* foi inicialmente identificado em transposon de uma cepa de *Enterococcus faecalis* isolada de suíno (ZHU *et al.*, 2017) e tem sido encontrado em patógenos suínos e bactérias zoonóticas em todo o mundo (PYÖRÄLÄ *et al.*, 2014). O gene foi reportado com baixa frequência (~2 %) em genomas brasileiros da subespécie *S. enterica*, sendo identificado nos sorovares Typhimurium, Infantis e Heidelberg. Dentre as 930 cepas avaliadas em um estudo anterior, somente sete cepas de *S. Typhimurium* carregavam o gene em questão, a maioria (quatro) com origem em alimentos de origem animal, todos relacionados à carne suína, com datas de isolamento entre 1996 e 2012 (RODRIGUES *et al.*, 2020b). O mecanismo de resistência à lincosamida se dá por O-nucleotidiltransferases codificadas pelos genes *lnu* (também chamados de *lin*), os quais são transportados por elementos genéticos móveis e identificados em vários gêneros de bactérias Gram-positivas (STOGIOS *et al.*, 2015).

Transposons tem potencial de serem inseridos em plasmídeos e consequentemente transferidos entre bactérias, inclusive entre espécies não relacionadas (BENGTSSON-PALME; KRISTIANSSON; LARSSON, 2018). Portanto, as cepas em questão podem atuar como reservatório de genes de resistência a antimicrobianos e transmití-los para patógenos de importância em saúde pública (VON WINTERSDORFF *et al.*, 2016). A manutenção do gene *lnu(G)* por um patógeno não susceptível a lincosamida causa surpresa, já que nesse caso não há pressão de seleção e mantê-lo gera um custo metabólico. Pode-se pensar que a disseminação deste gene a outras bactérias presentes no mesmo ambiente poderia conferir algum tipo de vantagem às cepas carreadoras estudadas ou que o gene assume outra função que não a de resistência antimicrobiana em *S. Typhimurium*. Enzimas bacterianas demonstram elevada plasticidade podendo ligar-se a substratos alternativos gerando inovação metabólica (KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020). Acrescenta-se que desde janeiro de 2020 o Brasil proibiu a importação, a fabricação, a comercialização e o uso de aditivos melhoradores de desempenho contendo lincomicina (BRASIL, 2020).

Com relação às mutações pontuais na região determinante de resistência às quinolonas (QRDR), 10 isolados (47,61 %), incluindo cinco monofásicos, apresentaram a mutação

conferindo resistência ao ácido nalidíxico e ciprofloxacina (FÀBREGA *et al.*, 2009; PALOMO *et al.*, 2013). Embora o ácido nalidíxico tenha caído em desuso, sabe-se que cepas resistentes ao ácido nalidíxico exibem susceptibilidade reduzida às fluoroquinolonas, molécula importante nas medicinas humana e veterinária (CAMPIONI *et al.*, 2017), podendo levar à falha terapêutica. Um trabalho anterior reportou níveis mais elevados de mutação em *gyrA*, comparados aos encontrados neste presente estudo (ALMEIDA *et al.*, 2018). A mutação em *gyrA* foi a única detectada nas cepas estudadas, estando localizadas nos códons Asp(87) e Ser(83). Estes são os códons mais frequentes em *S. enterica* (HOPKINS; DAVIES; THRELFALL, 2005) e as únicas mutações em *gyrA* previamente encontradas em *S. Typhimurium* (MONTE *et al.*, 2019). Além disso, a substituição de aminoácido predominante em *gyrA* foi Asp(87)→Asn em *S. Typhimurium* e Ser(83)→Phe na variante monofásica, corroborando com dados publicados anteriormente acerca de isolados de fontes humanas (sangue, urina e fezes) e não humanas (principalmente alimentos) (CASAS *et al.*, 2016). Estudos anteriores já indicavam a alta associação da variante monofásica de *S. Typhimurium* à resistência ao ácido nalidíxico e ciprofloxacina (CASAS *et al.*, 2016).

Ademais, os plasmídeos mais frequentes em nossos genomas foram do grupo IncF e IncH. A maioria deles carregava genes de resistência a antibióticos, assim como relatado anteriormente (MCMILLAN; JACKSON; FRYE, 2020) e rastreá-los pode fornecer informações sobre sua contribuição na disseminação de resistência a antimicrobianos (MCMILLAN; JACKSON; FRYE, 2020). Plasmídeos são conhecidos por transportar genes envolvidos em AMR e virulência (DOS SANTOS BERSOT *et al.*, 2019; EMOND-RHEAULT *et al.*, 2020) e podem ser transmitidos horizontalmente. Na Espanha, o plasmídeo mais identificado em *S. Typhimurium* foi o IncFII (S) (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020) também identificado em nossos genomas, mas em menor frequência. Muitos plasmídeos do grupo de incompatibilidade F (IncF) são associados à virulência e têm sido reportados como carreadores de genes de resistência. Plasmídeos do grupo IncHI são frequentemente isolados em *Salmonella* e muitos contêm genes de resistência a metais pesados assim como genes de resistência a antibióticos. Já os plasmídeos IncII são importantes na disseminação de resistência aos β -lactâmicos. Além disso, plasmídeos IncX têm sido associados à resistência aos β -lactâmicos e aminoglicosídeos (MCMILLAN; JACKSON; FRYE, 2020).

Adicionalmente, os fagos Gifsy-1 e Gifsy-2 foram os dois fagos mais encontrados nas cepas estudadas no presente estudo assim como publicado anteriormente (ARRIETA-GISASOLA *et al.*, 2020; SERIBELLI *et al.*, 2021b). No entanto, nossos dados mostraram

uma maior diversidade nesses elementos genéticos móveis em comparação a cepas de alimentos (SERIBELLI *et al.*, 2021b). Ambos, Gifsy-1 e Gifsy-2, contêm genes relacionados à virulência de *S. Typhimurium*. Fatores codificados por Gifsy-1 e Gifsy-2 desempenham um papel importante na replicação e sobrevivência de *S. Typhimurium* em macrófagos (FIGUEROA-BOSSI; BOSSI, 1999; KLUMPP; FUCHS, 2007). Assim como a infecção por fagos pode resultar em morte bacteriana, a inserção de profagos no genoma bacteriano também pode conferir características vantajosas à bactéria, como resistência a antibióticos e imunidade à infecção por outros fagos (KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020). Por isso, genomas bacterianos costumam abrigar fagos (KIRCHBERGER; SCHMIDT; OCHMAN, 2020), sendo uma vantagem seletiva para os mesmos.

A análise filogenética realizada com polimorfismos de nucleotídeo único de genomas inteiros (wgSNP) agrupou a maioria dos isolados de *S. Typhimurium* de humanos em um grande *cluster*, sugerindo que existe um subtipo prevalente no Brasil, o que está de acordo com dados anteriores (SERIBELLI *et al.*, 2021b). Os isolados de suínos foram alocados no mesmo clado de amostras de alimentos o que poderia sugerir que a contaminação de produtos alimentícios pode se originar destes animais atingindo o consumidor por meio de carne suína e produtos derivados, conforme afirmado em pesquisas prévias (ARGUELLO *et al.*, 2012; CAMPOS *et al.*, 2019; FERRARI *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2020a). Os subprodutos de carne suína têm sido associados como potencial elo de ligação de *S. Typhimurium* variante monofásica e infecções humanas (FERRARI *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2020a). Por outro lado, um estudo recente demonstrou que cepas de suínos não apresentaram relação genética com cepas humanas e alimentares (SERIBELLI *et al.*, 2021a).

Curiosamente, nossas cepas monofásicas (SA034, SA049, SA050 e SA051) foram mais relacionadas filogeneticamente a cepas provenientes de casos de infecção extraintestinal em humanos do que o sorotipo *S. Typhimurium*, comportamento semelhante ao encontrado no Vietnã onde a variante monofásica de *S. Typhimurium* foi associada à doença invasiva em indivíduos infectados pelo HIV (MATHER *et al.*, 2018). Destas, três cepas (SA034, SA049 e SA051) apresentaram perfil plasmidial de virulência exatamente igual, destacando-se: i) presença do operon *spvRABCD* associada à sobrevivência e crescimento do patógeno dentro de macrófagos, possibilitando o estabelecimento de infecção sistêmica; ii) presença do operon *pefABCD*, responsável pela adesão às células epiteliais intestinais; e, iii) presença dos genes *rck* e *mig-5* associados à invasão e resistência ao sistema complemento do hospedeiro, respectivamente. Um trabalho experimental incluindo cepas isoladas de humanos e alimentos

demonstrou que aquelas carreando os operons e genes acima mencionados demonstraram maior invasividade e maior sobrevivência em macrófagos humanos. Isto sugere que nossas cepas monofásicas filogeneticamente relacionadas a casos clínicos humanos poderiam potencialmente causar doença extraintestinal em humanos (SERIBELLI *et al.*, 2020b). Adicionalmente, é preciso ressaltar que as três cepas foram consideradas multirresistentes nas análises *in silico* e que a cepa SA034 carregava ainda o gene *mcr-1*, último recurso para tratamento de bactérias MDR. Convém lembrar que os hábitos alimentares da população brasileira incluem o consumo de carne suína e subprodutos após tratamento térmico, medida que elimina o patógeno em questão. No entanto, a falha no tratamento térmico ou a exportação destes produtos para países sem a mesma cultura pode resultar em risco aumentado de doença extraintestinal.

A primeira detecção de *mcr-1* ocorreu em isolados armazenados obtidos de frango na década de 1980 na China. *Shigella sonnei* foi a primeira bactéria portadora de *mcr-1* isolada de humanos em 2008 no Vietnã e desde 2009 sua detecção aumentou em muitos países. O primeiro relato do gene *mcr-1* na América Latina data de 2012 (MENDES OLIVEIRA; PAIVA; LIMA, 2019). No Brasil, cepas de *S. Typhimurium* carreando o gene *mcr-1* já foram reportadas, sendo que o isolado mais antigo data do ano de 2014 (RAU *et al.*, 2018, 2020). Porém, nossos dados sugerem que o gene já circulava em isolados brasileiros de *S. Typhimurium* desde muito antes de 2014, tendo em vista sua identificação na cepa SA034 isolada em 2005. Vale ressaltar que o uso de polimixinas como promotor de crescimento animal foi proibido no país em 2016 (BRASIL, 2016).

Em relação às cepas não-clínicas suínas (isoladas de alimentos) e clínicas suínas (isoladas de fezes), nossos dados sugerem a circulação de vários subtipos, confirmando resultado publicado anteriormente (ALMEIDA *et al.*, 2018).

Uma limitação de nosso estudo é sua limitada relevância geográfica e temporal. A amostragem de apenas dois estados do país limita a inferência de dados em um contexto epidemiológico. Mesmo assim, nossos resultados podem ser considerados em conjunto com outros trabalhos ampliando a visão da situação epidemiológica da resistência aos antimicrobianos no Brasil. Além disso, fornecemos informações sobre genomas inéditos que contribuirão para aprimorar o conhecimento da *S. Typhimurium*.

5 REFERÊNCIAS

ACHTMAN, M.; WAIN, J.; WEILL, F.-X.; NAIR, S.; ZHOU, Z.; SANGAL, V.; KRAULAND, M. G.; HALE, J. L.; HARBOTTLE, H.; UESBECK, A.; DOUGAN, G.; HARRISON, L. H.; BRISSE, S. Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella enterica*. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 6, p. 1–19, 2012. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002776. Disponível em:

<<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1002776>>. Acesso em: 10 jan. 2021.

AERTS, M.; BATTISTI, A.; HENDRIKSEN, R.; KEMPF, I.; TEALE, C.; TENHAGEN, B.; VELDMAN, K.; WASYL, D.; GUERRA, B.; LIÉBANA, E.; THOMAS-LÓPEZ, D.; BELCÉIL, P. Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. **EFSA Journal**, v. 17, n. 6, p. 122, 2019. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5709. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2019.5709>>. Acesso em: 5 dez. 2021.

ALBORNOZ, E.; TIJET, N.; DE BELDER, D.; GOMEZ, S.; MARTINO, F.; CORSO, A.; MELANO, R. G.; PETRONI, A. qnrE1, a Member of a New Family of Plasmid-Located Quinolone Resistance Genes, Originated from the Chromosome of Enterobacter Species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, 2017. DOI: 10.1128/AAC.02555-16. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.02555-16>>. Acesso em: 06 jul. 2020.

ALIKHAN, N.-F.; ZHOU, Z.; SERGEANT, M. J.; ACHTMAN, M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. **PLOS Genetics**, v. 14, n. 4, 2018. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007261. Disponível em:

<<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1007261>>. Acesso em: 8 jul. 2020.

ALMEIDA, F.; MEDEIROS, M. I. C.; RODRIGUES, D. P.; FALCÃO, J. P. Genotypic diversity, pathogenic potential and the resistance profile of *Salmonella* Typhimurium strains isolated from humans and food from 1983 to 2013 in Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, p. 1395–1407, 2015. DOI: 10.1099/jmm.0.000158. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000158>>.

ALMEIDA, F.; MEDEIROS, M. I. C.; KICH, J. D.; FALCÃO, J. P. Virulence-associated genes, antimicrobial resistance and molecular typing of *Salmonella* Typhimurium strains isolated from swine from 2000 to 2012 in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 6, p. 1677–1690, 2016. DOI: 10.1111/jam.13110. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.13110>>.

ALMEIDA, F.; SERIBELLI, A. A.; DA SILVA, P.; MEDEIROS, M. I. C.; RODRIGUES, D. P.; MOREIRA, C. G.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Multilocus sequence typing of *Salmonella* Typhimurium reveals the presence of the highly invasive ST313 in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 51, n. 8, p. 41–44, 2017. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.03.009. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134817300801>>.

ALMEIDA, F.; SERIBELLI, A. A.; MEDEIROS, M. I. C.; RODRIGUES, D. dos P.; MELLOVARANI, A. de; LUO, Y.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Phylogenetic and

antimicrobial resistance gene analysis of Salmonella Typhimurium strains isolated in Brazil by whole genome sequencing. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0201882. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0201882>>.

ANDERSON, C. J.; KENDALL, M. M. Salmonella enterica Serovar Typhimurium Strategies for Host Adaptation. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01983. Disponível em: <www.frontiersin.org>. Acesso em: 13 jan. 2020.

ARGUELLO, H.; CARVAJAL, A.; COLLAZOS, J. A.; GARCÍA-FELIZ, C.; RUBIO, P. Prevalence and serovars of Salmonella enterica on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 905–912, 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.04.017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399691100247X>>. Acesso em: 7 jan. 2020.

ARNEDO-PENA, A.; SABATER-VIDAL, S.; HERRERA-LEÓN, S.; BELLIDO-BLASCO, J. B.; SILVESTRE-SILVESTRE, E.; MESEGUER-FERRER, N.; YAGUE-MUÑOZ, A.; GIL-FORTUÑO, M.; ROMEU-GARCÍA, A.; MORENO-MUÑOZ, R. An outbreak of monophasic and biphasic Salmonella Typhimurium, and Salmonella Derby associated with the consumption of dried pork sausage in Castellon (Spain). **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 34, n. 9, p. 544–550, 2016. DOI: 10.1016/j.eimc.2015.11.016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X15004528>>.

ARRIETA-GISASOLA, A.; ATXAERANDIO-LANDA, A.; GARRIDO, V.; GRILLÓ, M. J.; MARTÍNEZ-BALLESTEROS, I.; LAORDEN, L.; GARAIZAR, J.; BIKANDI, J. Genotyping Study of Salmonella 4,[5],12:i:- Monophasic Variant of Serovar Typhimurium and Characterization of the Second-Phase Flagellar Deletion by Whole Genome Sequencing. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8122049. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/8/12/2049>>.

ASHIDA, H.; SASAKAWA, C. Shigella IpaH Family Effectors as a Versatile Model for Studying Pathogenic Bacteria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, 2016. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00100. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fcimb.2015.00100/abstract>>.

BAKSHI, C. S.; SINGH, V. P.; WOOD, M. W.; JONES, P. W.; WALLIS, T. S.; GALYOV, E. E. Identification of SopE2, a Salmonella Secreted Protein Which Is Highly Homologous to SopE and Involved in Bacterial Invasion of Epithelial Cells. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 8, p. 2341–2344, 2000. DOI: 10.1128/JB.182.8.2341-2344.2000. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.182.8.2341-2344.2000>>.

BALASUBRAMANIAN, R.; IM, J.; LEE, J.-S.; JEON, H. J.; MOGENI, O. D.; KIM, J. H.; RAKOTOZANDRINDRAINY, R.; BAKER, S.; MARKS, F. The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal Salmonella infections. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 15, n. 6, p. 1421–1426, 2019. DOI: 10.1080/21645515.2018.1504717. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2018.1504717>>. Acesso em: 11 fev. 2020.

BANERJI, S.; SIMON, S.; TILLE, A.; FRUTH, A.; FLIEGER, A. Genome-based Salmonella serotyping as the new gold standard. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-61254-1. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-61254-1>>. Acesso em: 8 mar. 2021.

BONARDI, S. Salmonella in the pork production chain and its impact on human health in the European Union. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 8, p. 1513–1526, 2017. DOI: 10.1017/S095026881700036X. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S095026881700036X/type/journal_article>.

BRANCHU, P.; BAWN, M.; KINGSLEY, R. A. Genome Variation and Molecular Epidemiology of Salmonella enterica Serovar Typhimurium Pathovariants. **Infection and Immunity**, v. 86, n. 8, 2018. DOI: 10.1128/IAI.00079-18. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/IAI>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 2016, n. 229, p. 6, 30 nov. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-45-de-22-de-novembro-de-2016.pdf/view>>. Acesso em: 27 jan. 2022.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 2020, n. 16, p. 6, 23 jan. 2020. Disponível em: <<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=23/01/2020&jornal=515&pagina=6>>. Acesso em: 1 out. 2021.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2021.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos, no Âmbito da Saúde Única 2018-2022**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/20/af-pan-br-17dez18-20x28-csa.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2021.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>>. Acesso em: 31 maio. 2021.

BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. Salmonella Nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465–2467, 2000. DOI: 10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86943/pdf/jm002465.pdf>>. Acesso em: 13

jan. 2020.

CAMPIONI, F.; SOUZA, R. A.; MARTINS, V. V.; STEHLING, E. G.; BERGAMINI, A. M. M.; FALCÃO, J. P. Prevalence of gyrA Mutations in Nalidixic Acid-Resistant Strains of Salmonella Enteritidis Isolated from Humans, Food, Chickens, and the Farm Environment in Brazil. **Microbial Drug Resistance**, v. 23, n. 4, p. 421–428, 2017. DOI: 10.1089/mdr.2016.0024. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2016.0024>>.

CAMPOS, J.; MOURÃO, J.; PEIXE, L.; ANTUNES, P. Non-typhoidal Salmonella in the Pig Production Chain: A Comprehensive Analysis of Its Impact on Human Health. **Pathogens**, v. 8, n. 19, p. 1–28, 2019. DOI: 10.3390/pathogens8010019. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-0817/8/1/19>>.

CASAS, M. R. T.; CAMARGO, C. H.; SOARES, F. B.; DA SILVEIRA, W. D.; FERNANDES, S. A. Presence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants and mutations in gyrase and topoisomerase in Salmonella enterica isolates with resistance and reduced susceptibility to ciprofloxacin. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 85, n. 1, p. 85–89, 2016. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.01.016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.01.016>>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2019**. DOI: 10.15620/cdc:82532. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html>.

CHENG, R. A.; EADE, C. R.; WIEDMANN, M. Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal Salmonella as a Foodborne Pathogen. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 26 jun. 2019.

CHU, Y.; GAO, S.; WANG, T.; YAN, J.; XU, G.; LI, Y.; NIU, H.; HUANG, R.; WU, S. A novel contribution of spvB to pathogenesis of Salmonella Typhimurium by inhibiting autophagy in host cells. **Oncotarget**, v. 7, n. 7, p. 8295–8309, 2016. DOI: 10.18632/oncotarget.6989. Disponível em: <<https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.6989>>.

CRUMP, J. A.; SJÖLUND-KARLSSON, M.; GORDON, M. A.; PARRY, C. M. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 901–937, 2015. DOI: 10.1128/CMR.00002-15. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/lookup/doi/10.1128/CMR.00002-15>>.

CURSINO, L.; ŠMARDA, J.; CHARTONE-SOUZA, E.; NASCIMENTO, A. M. A. Recent updated aspects of colicins of enterobacteriaceae. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 185–195, 2002. DOI: 10.1590/S1517-83822002000300001. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjm/a/h69DXhSshk4W88RcRG3Yq8H/?lang=en>>.

DE MELO, A. N. F.; MONTE, D. F. M.; DE SOUZA PEDROSA, G. T.; BALKEY, M.; JIN, Q.; BROWN, E.; ALLARD, M.; DE OLIVEIRA, T. C. R. M.; CAO, G.; MAGNANI, M.;

MACARISIN, D. 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, 2021. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109091. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109091>>.

DICENZO, G. C.; FINAN, T. M. The Divided Bacterial Genome: Structure, Function, and Evolution. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 81, n. 3, p. e00019-17, 2017. DOI: 10.1128/MMBR.00019-17. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.00019-17>>. Acesso em: 9 mar. 2022.

DORMAN, C. J. DNA supercoiling and environmental regulation of gene expression in pathogenic bacteria. **Infection and Immunity**, v. 59, n. 3, p. 745–749, 1991. DOI: 10.1128/iai.59.3.745-749.1991. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.59.3.745-749.1991>>.

DOS SANTOS, A. M. P.; FERRARI, R. G.; CONTE-JUNIOR, C. A. Virulence Factors in *Salmonella Typhimurium*: The Sagacity of a Bacterium. **Current Microbiology**, v. 76, n. 6, p. 762–773, 2019. DOI: 10.1007/s00284-018-1510-4. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00284-018-1510-4>>.

DOS SANTOS BERSOT, L.; QUINTANA CAVICCHIOLI, V.; VIANA, C.; KONRAD BURIN, R. C.; CAMARGO, A. C.; DE ALMEIDA NOGUEIRA PINTO, J. P.; NERO, L. A.; DESTRO, M. T. Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Diversity of *Salmonella* along the Pig Production Chain in Southern Brazil. **Pathogens**, v. 8, n. 4, 2019. DOI: 10.3390/pathogens8040204. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-0817/8/4/204>>.

ECHEITA, M. A.; ALADUEÑA, A.; CRUCHAGA, S.; USERA, M. A. Emergence and spread of an atypical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4,5,12:i:- strain in Spain. **Journal of clinical microbiology**, v. 37, n. 10, 1999. DOI: 10.1128/JCM.37.10.3425-3425.1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10488227>>.

EMOND-RHEAULT, J.-G.; HAMEL, J.; JEUKENS, J.; FRESCHI, L.; KUKAVICA-IBRULJ, I.; BOYLE, B.; TAMBER, S.; MALO, D.; FRANZ, E.; BURNETT, E.; DAIGLE, F.; ARYA, G.; SANDERSON, K.; WIEDMANN, M.; SLAWSON, R. M.; WEADGE, J. T.; STEPHAN, R.; BEKAL, S.; GRUENHEID, S.; *et al.* The *Salmonella enterica* Plasmidome as a Reservoir of Antibiotic Resistance. **Microorganisms**, v. 8, n. 7, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8071016. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/8/7/1016>>.

ESPINOZA, R. A.; SILVA-VALENZUELA, C. A.; AMAYA, F. A.; URRUTIA, Í. M.; CONTRERAS, I.; SANTIVIAGO, C. A. Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhi* with murine and human macrophages. **Biological Research**, v. 50, n. 5, 2017. DOI: 10.1186/s40659-017-0109-8. Disponível em: <<http://biolres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40659-017-0109-8>>.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 19, n. 2, 2021a. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6406.

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

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. **EFSA Journal**, v. 19, n. 4, 2021b. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6490. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2021.6490>>.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 17, n. 12, 2019. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5926. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2019.5926>>.

FÀBREGA, A.; MADURGA, S.; GIRALT, E.; VILA, J. Mechanism of action of and resistance to quinolones. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 40–61, 2009. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2008.00063.x. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-7915.2008.00063.x>>.

FERRARI, R. G.; ROSARIO, D. K. A.; CUNHA-NETO, A.; MANO, S. B.; FIGUEIREDO, E. E. S.; CONTE-JUNIOR, C. A. Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 14, 2019. DOI: 10.1128/AEM.00591-19. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00591-19>>. Acesso em: 31 maio. 2021.

FIGUEROA-BOSSI, N.; BOSSI, L. Inducible prophages contribute to Salmonella virulence in mice. **Molecular Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 167–176, 1999. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01461.x. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2958.1999.01461.x>>.

GUPTA, S. K.; SHARMA, P.; MCMILLAN, E. A.; JACKSON, C. R.; HIOTT, L. M.; WOODLEY, T.; HUMAYOUN, S. B.; BARRETT, J. B.; FRYE, J. G.; MCCLELLAND, M. Genomic comparison of diverse Salmonella serovars isolated from swine. **PLOS ONE**, v. 14, n. 11, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0224518. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224518.t001>>. Acesso em: 22 fev. 2020.

GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. Fourth ed. Ames: Blackwell Publishing, 2010.

HAWKEY, J.; EDWARDS, D. J.; DIMOVSKI, K.; HILEY, L.; BILLMAN-JACOB, H.; HOGG, G.; HOLT, K. E. Evidence of microevolution of Salmonella Typhimurium during a series of egg-associated outbreaks linked to a single chicken farm. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, 2013. DOI: 10.1186/1471-2164-14-800.

HENDRIKSEN, R. S.; VIEIRA, A. R.; KARLSMOSE, S.; LO FO WONG, D. M. A.; JENSEN, A. B.; WEGENER, H. C.; AARESTRUP, F. M. Global monitoring of salmonella serovar distribution from the world health organization global foodborne infections network country data bank: Results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, n. 8, p. 887–900, 2011. DOI: 10.1089/fpd.2010.0787.

HILEY, L.; GRAHAM, R. M. A.; JENNISON, A. V. Genetic characterisation of variants of

the virulence plasmid, pSLT, in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium provides evidence of a variety of evolutionary directions consistent with vertical rather than horizontal transmission. **PLOS ONE**, v. 14, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0215207. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0215207>>.

HOPKINS, K. L.; DAVIES, R. H.; THRELFALL, E. J. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 5, p. 358–373, 2005. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857905000518>>.

JACOBSEN, A.; HENDRIKSEN, R. S.; AARESTURP, F. M.; USSERY, D. W.; FRIIS, C. The *Salmonella enterica* Pan-genome. **Microbial Ecology**, v. 62, p. 487–504, 2011. DOI: 10.1007/s00248-011-9880-1. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00248-011-9880-1>>. Acesso em: 11 mar. 2020.

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, 2019. DOI: 10.14202/vetworld.2019.504-521. Disponível em: <www.veterinaryworld.org/Vol.12/April-2019/5.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2020.

KIM, S.; KIM, E.; PARK, S.; HAHN, T.-W.; YOON, H. 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, 2017. DOI: 10.4014/jmb.1708.08027. Disponível em: <<http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1708.08027>>.

KINGSLEY, R. A.; MSEFULA, C. L.; THOMSON, N. R.; KARIUKI, S.; HOLT, K. E.; GORDON, M. A.; HARRIS, D.; CLARKE, L.; WHITEHEAD, S.; SANGAL, V.; MARSH, K.; ACHTMAN, M.; MOLYNEUX, M. E.; CORMICAN, M.; PARKHILL, J.; MACLENNAN, C. A.; HEYDERMAN, R. S.; DOUGAN, G. Epidemic multiple drug resistant *Salmonella* Typhimurium causing invasive disease in sub-Saharan Africa have a distinct genotype. **Genome Research**, v. 19, p. 2279–2287, 2009. DOI: 10.1101/gr.091017.109. Disponível em: <<http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.091017.109>>.

KNUFF, K.; FINLAY, B. B. What the SIF Is Happening—The Role of Intracellular *Salmonella*-Induced Filaments. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, 25 jul. 2017.

KIRCHBERGER, P. C.; SCHMIDT, M. L.; OCHMAN, H. The Ingenuity of Bacterial Genomes. **Annual Review of Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 815–834, 2020. DOI: 10.1146/annurev-micro-020518-115822. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-micro-020518-115822>>. Acesso em: 9 mar. 2022.

KLUMPP, J.; FUCHS, T. M. Identification of novel genes in genomic islands that contribute to *Salmonella typhimurium* replication in macrophages. **Microbiology**, v. 153, n. 4, p. 1207–

1220, 2007. DOI: 10.1099/mic.0.2006/004747-0. Disponível em:
<<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.2006/004747-0>>.

LAING, C. R.; WHITESIDE, M. D.; GANNON, V. P. J. Pan-genome Analyses of the Species *Salmonella enterica*, and Identification of Genomic Markers Predictive for Species, Subspecies, and Serovar. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01345. Disponível em:
<<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01345/full>>.

LEEKITCHAROENPHON, P.; NIELSEN, E. M.; KAAS, R. S.; LUND, O.; AARESTRUP, F. M. Evaluation of Whole Genome Sequencing for Outbreak Detection of *Salmonella enterica*. **PLoS ONE**, v. 9, p. 1-11, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0087991. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0087991>>.

LIKOTRAFITI, E.; ONICIUC, E.; PRIETO, M.; SANTOS, J.; LÓPEZ, S.; ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A. Risk assessment of antimicrobial resistance along the food chain through culture-independent methodologies. **EFSA Journal**, v. 16, n. S1, p. e160811, 2018. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.e160811. Disponível em:
<<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2018.e160811>>.

LOPEZ, C. A.; WINTER, S. E.; RIVERA-CHÁVEZ, F.; XAVIER, M. N.; POON, V.; NUCCIO, S.-P.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J. Phage-Mediated Acquisition of a Type III Secreted Effector Protein Boosts Growth of *Salmonella* by Nitrate Respiration. **mBio**, v. 3, n. 3, p. e00143-12, 2012. DOI: 10.1128/mBio.00143-12. Disponível em:
<<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.00143-12>>.

LÓPEZ, F. E.; DE LAS MERCEDES PESCARETTI, M.; MORERO, R.; DELGADO, M. A. *Salmonella* Typhimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath? **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 842–851, 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.08.009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996911005035>>.

LUVSANSCHARAV, U. O.; VIEIRA, A.; BENNETT, S.; HUANG, J.; HEALY, J. M.; HOEKSTRA, R. M.; BRUCE, B. B.; COLE, D. *Salmonella* Serotypes: A Novel Measure of Association with Foodborne Transmission. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 2, p. 151–155, 2020. DOI: 10.1089/fpd.2019.2641. Disponível em:
<<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2019.2641>>.

MATHER, A. E.; PHUONG, T. L. T.; GAO, Y.; CLARE, S.; MUKHOPADHYAY, S.; GOULDING, D. A.; HOANG, N. T. Do; TUYEN, H. T.; LAN, N. P. H.; THOMPSON, C. N.; TRANG, N. H. T.; CARRIQUE-MAS, J.; TUE, N. T.; CAMPBELL, J. I.; RABAA, M. A.; THANH, D. P.; HARCOURT, K.; HOA, N. T.; TRUNG, N. V.; *et al.* New Variant of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Associated with Invasive Disease in Immunocompromised Patients in Vietnam. **mBio**, v. 9, n. 5, p. e01056-18, 2018. DOI: 10.1128/mBio.01056-18. Disponível em:
<<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01056-18>>.

MCCLELLAND, M.; SANDERSON, K. E.; SPIETH, J.; CLIFTON, S. W.; LATREILLE, P.; COURTNEY, L.; PORWOLLIK, S.; ALI, J.; DANTE, M.; DU, F.; HOU, S.; LAYMAN, D.;

LEONARD, S.; NGUYEN, C.; SCOTT, K.; HOLMES, A.; GREWAL, N.; MULVANEY, E.; RYAN, E.; *et al.* Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. **Nature**, v. 413, p. 852–856, 2001. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35101614>>.

MCDERMOTT, P. F.; TYSON, G. H.; KABERA, C.; CHEN, Y.; LI, C.; FOLSTER, J. P.; AYERS, S. L.; LAM, C.; TATE, H. P.; ZHAO, S. Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 9, p. 5515–5520, 2016. DOI: 10.1128/AAC.01030-16. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01030-16>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

MCMILLAN, E. A.; JACKSON, C. R.; FRYE, J. G. Transferable Plasmids of *Salmonella enterica* Associated With Antibiotic Resistance Genes. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.562181. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.562181/full>>.

MCVEY, D.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. **Veterinary Microbiology**. 3. ed. Ames: John Wiley & Sons Inc, 2013.

MEDALLA, F.; GU, W.; FRIEDMAN, C. R.; JUDD, M.; FOLSTER, J.; GRIFFIN, P. M.; HOEKSTRA, R. M. Increased Incidence of Antimicrobial-Resistant Nontyphoidal *Salmonella* Infections, United States, 2004–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, p. 1662–1672, 2021. DOI: 10.3201/eid2706.204486. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/6/20-4486_article.htm>.

MENDES OLIVEIRA, V. R.; PAIVA, M. C.; LIMA, W. G. Plasmid-mediated colistin resistance in Latin America and Caribbean: A systematic review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 31, 2019. DOI: 10.1016/j.tmaid.2019.07.015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1477893919301401>>.

MENEGUZZI, M.; KICH, J. D.; REBELATTO, R.; PISSETTI, C.; KUCHIISHI, S. S.; REIS, A. T.; GUEDES, R. M. C.; LEÃO, J. A.; REICHEN, C. *Salmonella* clinical isolates from Brazilian pig herds: genetic relationship and antibiotic resistance profiling. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF BIOLOGICAL, CHEMICAL AND PHYSICAL HAZARDS IN PIGS AND PORK, 12, 2017, Foz do Iguaçu, **Anais[...]** Iowa State University, Digital Press, 2017. DOI: 10.31274/safepork-180809-378. Disponível em: <<https://lib.dr.iastate.edu/safepork/2017/allpapers/35/>>.

MENSAH, N.; TANG, Y.; CAWTHRAW, S.; ABUOUN, M.; FENNER, J.; THOMSON, N. R.; MATHER, A. E.; PETROVSKA-HOLMES, L. Determining antimicrobial susceptibility in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium through whole genome sequencing: a comparison against multiple phenotypic susceptibility testing methods. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 148, 2019. DOI: 10.1186/s12866-019-1520-9. Disponível em: <<https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-019-1520-9>>.

MIRANDA, A. L.; CORDEIRO, S. M.; REIS, J. N.; CARDOSO, L. G.; GUIMARÃES, A. G. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolated from foods and clinical samples in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, 2017. DOI:

10.1590/0001-3765201720160449. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652017000301143&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 9 fev. 2020.

MONTE, D. F.; LINCOPAN, N.; BERMAN, H.; CERDEIRA, L.; KEELARA, S.; THAKUR, S.; FEDORKA-CRAY, P. J.; LANDGRAF, M. Genomic Features of High-Priority Salmonella enterica Serovars Circulating in the Food Production Chain, Brazil, 2000–2016. **Nature Scientific Reports**, v. 9, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-45838-0. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-45838-0>>. Acesso em: 8 jan. 2020.

MOURA, M. S.; OLIVEIRA, R. P.; MELO, R. T.; MENDONÇA, E. P.; FONSECA, B. B.; ROSSI, D. A. Genes de virulência e diversidade genética em Salmonella spp. isoladas de amostras de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, 2014. DOI: 10.1590/1678-6809. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352014000501367&lng=pt&tlng=pt>.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 2, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>>.

MURPHY, P. B.; BISTAS, K. G.; LE, J. K. Clindamycin. *In: StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519574/>>.

OCHMAN, H.; ELWYN, S.; MORAN, N. A. Calibrating bacterial evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, p. 12638–12643, 1999. DOI: 10.1073/pnas.96.22.12638. Disponível em: <<http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/a0028778>>.

OCTAVIA, S.; LAN, R. The Family Enterobacteriaceae. *In: The Prokaryotes: Gammaproteobacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 225–286. DOI: 10.1007/978-3-642-38922-1_167. ISBN: 978-3-642-38922-1. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_167>.

ONICIUC, E. A.; LIKOTRAFITI, E.; ALVAREZ-MOLINA, A.; PRIETO, M.; SANTOS, J. A.; ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A. The present and future of whole genome sequencing (WGS) and whole metagenome sequencing (WMS) for surveillance of antimicrobial resistant microorganisms and antimicrobial resistance genes across the food chain. **Genes**, v. 9, n. 5, 2018. DOI: 10.3390/genes9050268. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4425/9/5/268>>.

PALOMO, G.; CAMPOS, M. J.; UGARTE, M.; PORRERO, M. C.; ALONSO, J. M.; BORGE, C.; VADILLO, S.; DOMÍNGUEZ, L.; QUESADA, A.; PÍRIZ, S. Dissemination of antimicrobial-resistant clones of salmonella enterica among domestic animals, wild animals, and humans. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 2, p. 171–176, 2013. DOI: 10.1089/fpd.2012.1288. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2012.1288?journalCode=fpd>>.

PANZENHAGEN, P. H. N.; PAUL, N. C.; CONTE, C. A.; COSTA, R. G.; RODRIGUES, D. P.; SHAH, D. H. Genetically distinct lineages of Salmonella Typhimurium ST313 and ST19 are present in Brazil. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, n. 2, p. 306–316, 2018. DOI: 10.1016/j.ijmm.2018.01.005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422117304186>>.

PATEL, S. Drivers of bacterial genomes plasticity and roles they play in pathogen virulence, persistence and drug resistance. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 45, p. 151–164, 2016. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.08.030. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.030>>. Acesso em: 10 mar. 2022.

PATTERSON, S. K.; KIM, H. B.; BOREWICZ, K.; ISAACSON, R. E. Towards an understanding of Salmonella enterica serovar Typhimurium persistence in swine. **Animal Health Research Reviews**, v. 17, n. 2, p. 159–168, 2016. DOI: 10.1017/S1466252316000165. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1466252316000165/type/journal_article>.

POSSEBON, F. S.; TIBA CASAS, M. R.; NERO, L. A.; YAMATOJI, R. S.; ARAÚJO JR., J. P.; PINTO, J. P. de A. N. Prevalence, antibiotic resistance, PFGE and MLST characterization of Salmonella in swine mesenteric lymph nodes. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 179, 2020. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587719306749>>.

PYÖRÄLÄ, S.; BAPTISTE, K. E.; CATRY, B.; VAN DUIJKEREN, E.; GREKO, C.; MORENO, M. A.; POMBA, M. C. M. F.; RANTALA, M.; RUŽAUSKAS, M.; SANDERS, P.; THRELFALL, E. J.; TORREN-EDO, J.; TÖRNEKE, K. Macrolides and lincosamides in cattle and pigs: Use and development of antimicrobial resistance. **The Veterinary Journal**, v. 200, n. 2, p. 230–239, 2014. DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.02.028. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023314000823>>.

RAFFATELLU, M.; WILSON, R. P.; CHESSA, D.; ANDREWS-POLYMENIS, H.; TRAN, Q. T.; LAWHON, S.; KHARE, S.; ADAMS, L. G.; BÄUMLER, A. J. SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 Contribute to Salmonella enterica Serotype Typhimurium Invasion of Epithelial Cells. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 1, p. 146–154, 2005. DOI: 10.1128/IAI.73.1.146-154.2005. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.73.1.146-154.2005>>.

RANTSIOU, K.; KATHARIOU, S.; WINKLER, A.; SKANDAMIS, P.; SAINT-CYR, M. J.; ROUZEAU-SZYNALSKI, K.; AMÉZQUITA, A. Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing (WGS) for foodborne pathogen surveillance, source tracking and risk assessment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 287, p. 3–9, 2018. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.007>>.

RAU, R. B.; DE LIMA-MORALES, D.; WINK, P. L.; RIBEIRO, A. R.; MARTINS, A. F.; BARTH, A. L. 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, 2018. DOI: 10.1089/fpd.2017.2346. Disponível em: <

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

RAU, R. B.; DE LIMA-MORALES, D.; WINK, P. L.; RIBEIRO, A. R.; BARTH, A. L. Salmonella enterica mcr-1 Positive from Food in Brazil: Detection and Characterization. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 3, p. 202–208, 2020. DOI: 10.1089/fpd.2019.2700. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2019.2700>>.

REIS, R. O. dos; SOUZA, M. N.; CECCONI, M. C. P.; TIMM, L.; IKUTA, N.; SIMON, D.; WOLF, J. M.; LUNGE, V. R. Increasing prevalence and dissemination of invasive nontyphoidal Salmonella serotype Typhimurium with multidrug resistance in hospitalized patients from southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 424–432, 2018. DOI: 10.1016/j.bjid.2018.08.002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1413867018304653>>. Acesso em: 8 fev. 2020.

RISTORI, C. A.; ROWLANDS, R. E. G.; MARTINS, C. G.; BARBOSA, M. L.; DOS SANTOS, L. F.; JAKABI, M.; DE MELO FRANCO, B. D. G. 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, 2017. DOI: 10.1089/fpd.2016.2270. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2016.2270>>.

RODRIGUES, G. L.; PANZENHAGEN, P.; FERRARI, R. G.; PASCHOALIN, V. M. F.; CONTE-JUNIOR, C. A. Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal Salmonella Isolates from Human and Swine Sources in Brazil: A Systematic Review of the Past Three Decades. **Microbial Drug Resistance**, v. 26, n. 10, p. 1260–1270, 2020a. DOI: 10.1089/mdr.2019.0475. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2019.0475>>.

RODRIGUES, G. L.; PANZENHAGEN, P.; FERRARI, R. G.; DOS SANTOS, A.; PASCHOALIN, V. M. F.; CONTE-JUNIOR, C. A. Frequency of Antimicrobial Resistance Genes in Salmonella From Brazil by in silico Whole-Genome Sequencing Analysis: An Overview of the Last Four Decades. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020b. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01864. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.01864/full>>.

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**, 2017. DOI: 10.1155/2017/3782182. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2017/3782182>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

SABBAGH, S. C.; FOREST, C. G.; LEPAGE, C.; LECLERC, J.-M.; DAIGLE, F. So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of Salmonella enterica serovars Typhimurium and Typhi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 305, n. 1, p. 1–13, 2010. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x>>.

SAIMA, S.; FIAZ, M.; ZAFAR, R.; AHMED, I.; ARSHAD, M. Dissemination of antibiotic resistance in the environment. *In*: HASHMI, M. Z. **Antibiotics and Antimicrobial**

Resistance Genes in the Environment. Vol. I. Amsterdam. Elsevier, 2020. p. 99–116. ISBN: 978-0-12-818882-8.

SANA, T. G.; FLAUGNATTI, N.; LUGO, K. A.; LAM, L. H.; JACOBSON, A.; BAYLOT, V.; DURAND, E.; JOURNET, L.; CASCALES, E.; MONACK, D. M. Salmonella Typhimurium utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 34, p. E5044–E5051, 2016. DOI: 10.1073/pnas.1608858113. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1608858113>. Acesso em: 8 fev. 2020.

SERIBELLI, A.; GONZALES, J. C.; DE ALMEIDA, F.; BENEVIDES, L.; CAZENTINI MEDEIROS, M. I.; DOS PRAZERES RODRIGUES, D.; DE C. SOARES, S.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Phylogenetic analysis revealed that Salmonella Typhimurium ST313 isolated from humans and food in Brazil presented a high genomic similarity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, p. 53–64, 2020a. DOI: 10.1007/s42770-019-00155-6. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s42770-019-00155-6>>.

SERIBELLI, A.; CRUZ, M. F.; VILELA, F. P.; FRAZÃO, M. R.; PAZIANI, M. H.; ALMEIDA, F.; MEDEIROS, M. I. C.; RODRIGUES, D. dos P.; KRESS, M. R. von Z.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Phenotypic and genotypic characterization of Salmonella Typhimurium isolates from humans and foods in Brazil. **PLOS ONE**, v. 15, n. 8, 2020b. DOI: 10.1371/journal.pone.0237886. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0237886>>.

SERIBELLI, A.; DA SILVA, P.; FRAZÃO, M. R.; KICH, J. D.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Phylogenetic relationship and genomic characterization of Salmonella Typhimurium strains isolated from swine in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 93, 2021a. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104977. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134821002744>>.

SERIBELLI, A.; DA SILVA, P.; DA CRUZ, M. F.; DE ALMEIDA, F.; FRAZÃO, M. R.; MEDEIROS, M. I. C.; RODRIGUES, D. dos P.; KICH, J. D.; DE JESUS BENEVIDES, L.; SOARES, S. de C.; ALLARD, M. W.; FALCÃO, J. P. Insights about the epidemiology of Salmonella Typhimurium isolates from different sources in Brazil using comparative genomics. **Gut Pathogens**, v. 13, n. 27, 2021b. DOI: 10.1186/s13099-021-00423-7. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13099-021-00423-7>>.

SHAPIRO, B. J. How clonal are bacteria over time? **Current Opinion in Microbiology**, v. 31, p. 116–123, 2016. DOI: 10.1016/j.mib.2016.03.013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527416300285>>.

SHEKHAR, C. Global impact of salmonellosis on health and economy. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 4, p. 93–96, 2018. ISSN: 2278-4136.

SINGH, Y.; SAXENA, A.; KUMAR, R.; SAXENA, M. K. Virulence System of Salmonella with Special Reference to Salmonella enterica. In: MASCELLINO, M. T. **Salmonella - A Re-emerging Pathogen**. London - UK: IntechOpen, 2018. E-Book. ISBN: 978-1-83881-426-7. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/6354>>.

SPEARS, K. J.; ROE, A. J.; GALLY, D. L. A comparison of enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* pathogenesis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 255, n. 2, p. 187–202, 2006. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00119.x. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2006.00119.x>>.

SPRATT, B. G. Exploring the concept of clonality in bacteria. **Methods in molecular biology**, v. 266, p. 323–352, 2004. DOI: 10.1385/1-59259-763-7:323.

STANAWAY, J. D.; PARISI, A.; SARKAR, K.; BLACKER, B. F.; REINER, R. C.; HAY, S. I.; NIXON, M. R.; DOLECEK, C.; JAMES, S. L.; MOKDAD, A. H.; ABEBE, G.; AHMADIAN, E.; ALAHDAB, F.; ALEMNEW, B. T. T.; ALIPOUR, V.; ALLAH BAKESHEI, F.; ANIMUT, M. D.; ANSARI, F.; ARABLOO, J.; *et al.* The global burden of non-typhoidal salmonella invasive disease: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 12, p. 1312–1324, 2019. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30418-9. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(19\)30418-9/fulltext#:~:text=low%20case%20fatality,-,The%20Global%20Burden%20of%20Diseases%2C%20Injuries%2C%20and%20Risk%20Factors%20Study,7%2C%20B739\)%20in%202017](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(19)30418-9/fulltext#:~:text=low%20case%20fatality,-,The%20Global%20Burden%20of%20Diseases%2C%20Injuries%2C%20and%20Risk%20Factors%20Study,7%2C%20B739)%20in%202017)>. Acesso em: 17 jan. 2020.

STOGIOS, P. J.; EVDOKIMOVA, E.; MORAR, M.; KOTEVA, K.; WRIGHT, G. D.; COURVALIN, P.; SAVCHENKO, A. Structural and Functional Plasticity of Antibiotic Resistance Nucleotidyltransferases Revealed by Molecular Characterization of Lincosamide Nucleotidyltransferases Lnu(A) and Lnu(D). **Journal of Molecular Biology**, v. 427, n. 12, p. 2229–2243, 2015. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.04.008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283615002491>>.

SUN, H.; WAN, Y.; DU, P.; BAI, L. The Epidemiology of Monophasic Salmonella Typhimurium. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 2, p. 87–97, 2020a. DOI: 10.1089/fpd.2019.2676. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2019.2676>>.

SUN, L.; YANG, S.; DENG, Q.; DONG, K.; LI, Y.; WU, S.; HUANG, R. Salmonella Effector SpvB Disrupts Intestinal Epithelial Barrier Integrity for Bacterial Translocation. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 2020b. DOI: 10.3389/fcimb.2020.606541. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.606541/full>>.

TACK, D. M.; RAY, L.; GRIFFIN, P. M.; CIESLAK, P. R.; DUNN, J.; RISSMAN, T.; JERVIS, R.; LATHROP, S.; MUSE, A.; DUWELL, M.; SMITH, K.; TOBIN-D'ANGELO, M.; VUGIA, D. J.; ZABLOTSKY KUFEL, J.; WOLPERT, B. J.; TAUXE, R.; PAYNE, D. C. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 17, p. 509–514, 2020. DOI: 10.15585/mmwr.mm6917a1. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6917a1.htm>>.

TASSINARI, E.; DUFFY, G.; BAWN, M.; BURGESS, C. M.; MCCABE, E. M.; LAWLOR, P. G.; GARDINER, G.; KINGSLEY, R. A. Microevolution of antimicrobial resistance and

biofilm formation of *Salmonella* Typhimurium during persistence on pig farms. **Nature Scientific Reports**, v. 9, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-45216-w. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-45216-w>>.

TAUNAY, A.; FERNANDES, S.; TAVECHIO, A.; NEVES, B.; DIAS, A.; IRINO, K. The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med trop. São Paulo**, v. 38, p. 119–127, 1996. DOI: 10.1590/S0036-46651996000200006. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/ktrDBwH4fkBkzY8j4rhgXbR/?lang=en>>.

VAN HOEK, A. H. A. M.; MEVIUS, D.; GUERRA, B.; MULLANY, P.; ROBERTS, A. P.; AARTS, H. J. M. Acquired Antibiotic Resistance Genes: An Overview. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, 2011. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00203. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2011.00203/abstract>>.

VELÁSQUEZ, J. C.; HIDALGO, A. A.; VILLAGRA, N.; SANTIVIAGO, C. A.; MORA, G. C.; FUENTES, J. A. SPI-9 of *Salmonella enterica* serovar Typhi is constituted by an operon positively regulated by RpoS and contributes to adherence to epithelial cells in culture. **Microbiology**, v. 162, n. 8, p. 1367–1378, 2016. DOI: 10.1099/mic.0.000319. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.000319>>.

VILA NOVA, M.; DURIMEL, K.; LA, K.; FELTEN, A.; BESSIÈRES, P.; MISTOU, M.-Y.; MARIADASSOU, M.; RADOMSKI, N. Genetic and metabolic signatures of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* associated with animal sources at the pangenomic scale. **BMC Genomics**, v. 20, 2019. DOI: 10.1186/s12864-019-6188-x. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12864-019-6188-x>>. Acesso em: 13 mar. 2020.

VON WINTERSDORFF, C. J. H.; PENDERS, J.; VAN NIEKERK, J. M.; MILLS, N. D.; MAJUMDER, S.; VAN ALPHEN, L. B.; SAVELKOUL, P. H. M.; WOLFFS, P. F. G. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00173. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00173/abstract>>.

WANG, X.; BISWAS, S.; PAUDYAL, N.; PAN, H.; LI, X.; FANG, W.; YUE, M. Antibiotic Resistance in *Salmonella* Typhimurium Isolates Recovered From the Food Chain Through National Antimicrobial Resistance Monitoring System Between 1996 and 2016. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00985. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00985/full>>.

WEENING, E. H.; BARKER, J. D.; LAARAKKER, M. C.; HUMPHRIES, A. D.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J. The *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium *lpf*, *bcf*, *stb*, *std*, and *sth* Fimbrial Operons Are Required for Intestinal Persistence in Mice. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 6, p. 3358–3366, 2005. DOI: 10.1128/IAI.73.6.3358-3366.2005. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.73.6.3358-3366.2005?permanently=true>>.

WIESNER, M.; CALVA, J. J.; BUSTAMANTE, V. H.; PÉREZ-MORALES, D.; FERNÁNDEZ-MORA, M.; CALVA, E.; SILVA, C. A multi-drug resistant *Salmonella* Typhimurium ST213 human-invasive strain (33676) containing the *bla* CMY-2 gene on an

IncF plasmid is attenuated for virulence in BALB/c mice. **BMC Microbiology**, v. 16, 2016. DOI: 10.1186/s12866-016-0633-7. Disponível em: <<https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-016-0633-7>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases**, 2015a. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-who-estimates-global-foodborne-diseases.pdf>>. Acesso em: 12 jan 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global action plan on antimicrobial resistance**, 2015b. Disponível em: <http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Salmonella (non-typhoidal)**, 2018. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>. Acesso em: 9 jan. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antibiotic resistance**, 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>>. Acesso em: 11 nov. 2021.

YOSHIDA, C. E.; KRUCZKIEWICZ, P.; LAING, C. R.; LINGOHR, E. J.; GANNON, V. P. J.; NASH, J. H. E.; TABOADA, E. N. The Salmonella In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft Salmonella Genome Assemblies. **PLOS ONE**, v. 11, p. 1–17, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0147101. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0147101>>.

ZANKARI, E.; HASMAN, H.; COSENTINO, S.; VESTERGAARD, M.; RASMUSSEN, S.; LUND, O.; AARESTRUP, F. M.; LARSEN, M. V. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 11, p. 2640–2644, 2012. DOI: 10.1093/jac/dks261. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dks261>>.

ZANKARI, E.; HASMAN, H.; KAAS, R. S.; SEYFARTH, A. M.; AGERSØ, Y.; LUND, O.; LARSEN, M. V.; AARESTRUP, F. M. Genotyping using whole-genome sequencing is a realistic alternative to surveillance based on phenotypic antimicrobial susceptibility testing. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 4, p. 771–777, 2013. DOI: 10.1093/jac/dks496. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/68/4/771/705760?login=false>>.

ZENG, L.; ZHANG, L.; WANG, P.; MENG, G. Structural basis of host recognition and biofilm formation by Salmonella *Saf pili*. **eLife**, v. 6, 2017. DOI: 10.7554/eLife.28619. Disponível em: <<https://elifesciences.org/articles/28619>>.

ZHANG, S.; YIN, Y.; JONES, M. B.; ZHANG, Z.; DEATHERAGE KAISER, B. L.; DINSMORE, B. A.; FITZGERALD, C.; FIELDS, P. I.; DENG, X. Salmonella Serotype Determination Utilizing High-Throughput Genome Sequencing Data. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1685–1692, 2015. DOI: 10.1128/JCM.00323-15. Disponível em:

<<http://jcm.asm.org/lookup/doi/10.1128/JCM.00323-15>>.

ZHANG, Z.; CAO, C.; LIU, B.; XU, X.; YAN, Y.; CUI, S.; CHEN, S.; MENG, J.; YANG, B. Comparative Study on Antibiotic Resistance and DNA Profiles of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolated from Humans, Retail Foods, and the Environment in Shanghai, China. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 8, p. 481–488, 2018. DOI: 10.1089/fpd.2017.2414.

ZHANG, Z.; DU, W.; WANG, M.; LI, Y.; SU, S.; WU, T.; KANG, Y.; SHAN, X.; SHI, Q.; ZHU, G. Contribution of the colicin receptor CirA to biofilm formation, antibiotic resistance, and pathogenicity of *Salmonella* Enteritidis. **Journal of Basic Microbiology**, v. 60, n. 1, p. 72–81, 2019. DOI: 10.1002/jobm.201900418. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.201900418>>.

ZHOU, L.; LI, Y.; GAO, S.; YUAN, H.; ZUO, L.; WU, C.; HUANG, R.; WU, S. *Salmonella* spvC Gene Inhibits Autophagy of Host Cells and Suppresses NLRP3 as Well as NLRC4. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.639019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.639019/full>>.

ZHU, X.-Q.; WANG, X.-M.; LI, H.; SHANG, Y.-H.; PAN, Y.-S.; WU, C.-M.; WANG, Y.; DU, X.-D.; SHEN, J.-Z. Novel *lnu* (G) gene conferring resistance to lincomycin by nucleotidylation, located on Tn 6260 from *Enterococcus faecalis* E531. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, p. 993–997, 2017. DOI: 10.1093/jac/dkw549. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkw549>>.