



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de la diversidad genómica y las relaciones filogenéticas de *Salmonella enterica* aislada a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato mediante secuenciación de Tercera Generación

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingenieras Biotecnólogas, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autoras: Yajaira Ivanova Castelo Fiallos

Sasha Carolina Constante Chimborazo

Tutor: Dr. William Ricardo Calero Cáceres

Ambato – Ecuador

Julio – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. William Ricardo Calero Cáceres

CERTIFICA:

Que el presente Informe del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 5 de junio de 2026



Dr. William Ricardo Calero Cáceres

17XXXXXX59

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

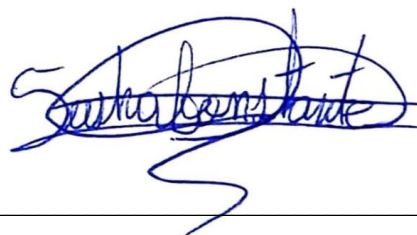
Nosotras, Yajaira Ivanova Castelo Fiallos y Sasha Carolina Constante Chimborazo, manifestamos que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieras Biotecnólogas son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Yajaira Ivanova Castelo Fiallos

18XXXXXX50

AUTOR



Sasha Carolina Constante Chimborazo

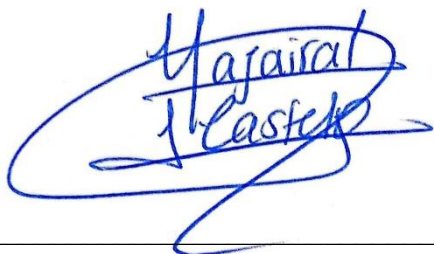
05XXXXXX90

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedemos los Derechos en línea patrimoniales de nuestro Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además aprobamos la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando nuestros derechos de autor.



Yajaira Ivanova Castelo Fiallos

18XXXXXX50

AUTOR



Sasha Carolina Constante Chimborazo

05XXXXXX90

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Dra. Liliana Paulina Lalaleo Córdova

18XXXXXX53



Dr. Alex Fabian Valencia Silva

18XXXXXX84

Ambato, 19 de junio de 2026

DEDICATORIA

"Our deepest fear is not that we are inadequate. Our deepest fear is that we are powerful beyond measure."

Marianne Williamson

Dedico este trabajo a mi madre, Jenny, la mujer que me enseñó que el amor también se demuestra en sacrificios silenciosos, en esfuerzos que nadie ve y en la capacidad de seguir adelante aun cuando las circunstancias parecen adversas. Cada página de esta tesis lleva consigo una parte de todo lo que construyó para que yo pudiera llegar hasta aquí.

A mi tío Eduardo, por enseñarme a mirar más allá de los límites que muchas veces me imponía a mí misma. Por inspirarme a soñar en grande, a aspirar siempre a más y a creer que ningún sueño es demasiado ambicioso cuando se persigue con determinación. A mi tía Liz, por ser uno de esos pilares que siempre permanecen firmes. Por abrirme las puertas de su hogar, de su apoyo y de su cariño cada vez que lo necesité.

A mi abuela Abigail, quien me recibió con el amor de una madre y me acompañó en cada etapa de mi crecimiento. A ella, por haber sido guía, refugio y ejemplo de fortaleza a lo largo de mi vida. A mi abuelo Gonzalo, cuya presencia constante ha sido una muestra de cariño, protección y apoyo incondicional. Su confianza en mí ha sido una de las fuerzas que me impulsó a continuar cuando el camino se volvía difícil.

A mis amigos, quienes transformaron los años universitarios en recuerdos que conservaré toda la vida. Porque entre clases, exámenes, risas y desafíos compartidos, hicieron que este camino fuera mucho más significativo.

A todos los docentes que formaron parte de mi formación académica, por sembrar no solo conocimientos, sino también curiosidad, disciplina e inspiración para continuar aprendiendo.

Y, finalmente, me dedico este logro a mí misma. A la persona que decidió seguir avanzando aun cuando las dudas, el cansancio y las dificultades parecían más grandes que las metas. A quien aprendió que la verdadera fortaleza no consiste en no caer, sino en encontrar la manera de levantarse una vez más.

Ivanova Fiallos

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, quién me ha guiado cada día y me ha dado fortaleza, sabiduría y perseverancia para poder superar cada reto que se ha presentado a lo largo de mi formación académica.

A mis padres, que han sido mi pilar fundamental y un apoyo incondicional, gracias por su amor, entrega y los sacrificios que han hecho por verme triunfar y darme aliento cuando yo estaba por rendirme. Gracias a ustedes hoy soy una persona fuerte y resiliente que siempre saldrá adelante.

A mi hermana, que ha estado conmigo cada día y cada noche acompañándome durante esta travesía, ayudándome cuando lo necesitaba y siendo mi compañía y confidente incondicional.

A mis abuelitos, quienes han sido parte de mi crianza y me ha inculcado su sabiduría, ha estado conmigo en todo momento y me ha enseñado a creer en Dios y ha estado orando por mí siempre, y aun que ya no todos estén conmigo este logro es para ustedes que me estarán cuidando desde el cielo.

A mis docentes, que me han impartido todos sus conocimientos a lo largo de la carrera, especialmente al Dr. William Calero por haberme guiado cada día y haberme permitido aprender más bajo su tutoría.

A mis amigos, quienes me han apoyado y acompañado en cada paso que he dado durante toda la carrera y también han sido una fuente de alegría y apoyo durante todo este proceso.

A mi misma, por haber culminado esta etapa de la vida y haber luchado para llegar hasta aquí, por no darme por vencida y haber sido perseverante, valiente y resiliente. Este logro también es una muestra de que existen más de un solo camino para llegar a la meta planteada y que puedes lograr todo lo que te propongas, porque eres una mujer fuerte, valiente y persistente.

Finalmente, a las futuras generaciones, que sean persistentes y valientes, que sepan que no existe un solo camino para llegar a una meta planteada. Que sepan que el esfuerzo al final da frutos y que confíen en ustedes mismo y en Dios para que logren todo lo que se han propuesto.

Sasha Constante

AGRADECIMIENTO

A mi madre, *Jenny*, por ser mi mayor ejemplo de fortaleza, perseverancia y amor incondicional. Gracias por cada sacrificio realizado para brindarme oportunidades, por impulsarme a seguir adelante cuando las dificultades parecían más grandes que mis fuerzas y por creer en mí incluso cuando yo misma dudaba de mis capacidades.

A mi tío *Eduardo*, por estar presente en cada momento en que necesité apoyo, por tenderme la mano sin dudarle y por enseñarme a aspirar siempre a más. Gracias por inspirarme a soñar en grande, por motivarme a perseguir metas cada vez más altas y por demostrarme que los límites muchas veces solo existen para ser superados. A mi tía *Liz*, por ser una persona en quien siempre he podido apoyarme. Gracias por acogerme, orientarme y acompañarme cuando más lo he necesitado. A mi abuela *Abigail*, por haber sido una guía constante a lo largo de mi vida. Gracias por el amor, los valores y las enseñanzas que me has transmitido desde que era pequeña. Tu apoyo y confianza han sido una fuente permanente de fortaleza durante este camino. A mi abuelo *Gonzalo*, por preocuparse siempre por mi bienestar, por acompañarme con su apoyo incondicional y por estar presente en cada etapa importante de mi vida.

A mis amigos, en especial a *Mario*, *Eve*, *Jesse* y *Karlita*, por convertir los años universitarios en una experiencia llena de aprendizajes, risas y recuerdos inolvidables. Su amistad hizo este camino mucho más llevadero. A *Fernando*, *Debby*, *Mateo* y *Sol* amigos que compartieron conmigo parte de esta etapa, gracias por su compañía, su cariño y por las distintas formas en que contribuyeron a hacer más significativa esta experiencia. A *Joel*, por acompañarme durante los momentos de incertidumbre, por escucharme cuando las cosas no salían como esperaba y por recordarme constantemente que era capaz de alcanzar esta meta. Gracias por tu paciencia, apoyo y confianza durante este recorrido.

A mi tutor, el *Dr. William Calero*, por la confianza depositada en mí desde el inicio. Gracias por su guía, exigencia, apoyo y por motivarme constantemente a desarrollar mi potencial académico y profesional. Sus enseñanzas y orientación fueron fundamentales para la realización de este trabajo. Al equipo de *UTA RAM*, especialente a *Angie*, *Pao* y *Gene*, gracias por las enseñanzas compartidas, por la ayuda brindada. Cada experiencia vivida dentro de este espacio representó una oportunidad de aprendizaje y crecimiento que contribuyó significativamente a mi formación.

A mi padre, quien, a su manera, contribuyó a que pudiera continuar mi formación académica. Gracias por el apoyo brindado a lo largo de este proceso. Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que, de manera directa o indirecta, formaron parte de este camino. A quienes me ofrecieron una palabra de aliento, un consejo, una oportunidad o un gesto de apoyo cuando más lo necesité, les expreso mi más sincero agradecimiento.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haber sido una fuente de inspiración y apoyo espiritual necesario para poder llegar a este momento. Gracias por haberme escuchado en mis oraciones, por cuidarme en cada paso que he dado para alcanzar el objetivo que me había planteado, por él es que he tenido la fuerza espiritual para hoy poder tener este logro.

A mis padres, *María y Rafael*, quienes con su ejemplo, guía y amor infinito me han enseñado a ser persistente y que el esfuerzo siempre da sus frutos. Gracias por haber estado conmigo en las largas noches de estudio y por haberme dado ánimos y levantado cuando sentía que no iba a lograrlo. Gracias por los sacrificios que han hecho para que yo pueda llegar hoy a donde estoy, por enseñarme que el esfuerzo y sacrificio siempre da sus frutos y que yo soy una mujer fuerte que va a poder con todo lo complicado que venga.

A mi hermana *Andrea*, que ha estado conmigo siempre, me ha escuchado cuando he tenido que resolver algún problema y me ha ayudado cuando la he necesitado, le agradezco también por enseñarme el valor de la paciencia y la perseverancia que son dos valores que admiro de ella.

A mis abuelitos, *María Paula*, que ha sido mi segunda madre y me ha cuidado y me ha enseñado el valor de la fé en Dios, a *Etelvina y Carlos* que, aunque ahora ya no estén conmigo fueron una fuente de inspiración y gracias a ellos y sus palabras de aliento que siempre las recuerdo, este logro es para ellos que siempre quisieron verme graduada.

A mis amigos de la infancia *Mishel y Alexander*, por su ayuda y apoyo incondicional y que en cada pequeño logro lo celebraron conmigo y han estado orgullosos. A mis amigos de la universidad *Ale, Cris y Eli* quienes me han permitido conocerlos y ser un apoyo mutuo para poder salir adelante todos juntos y me han brindado su ayuda durante la carrera.

Al *Dr. William Calero*, mi profesor y tutor, gracias a sus primeras clases, sus enseñanzas y guía continua desde microbiología y por la materia que hizo que me guste más la carrera, la paciencia que ha tenido conmigo, así como su exigencia ha permitido que yo de lo mejor de mí y me ha enseñado a ser una persona más segura. A todos los chicos de *UTA RAM*, gracias por el apoyo y las risas en momentos de tensión y por haberme brindado su apoyo durante la realización de este trabajo, a todos los que me han brindado palabras de apoyo, les expreso mi más sincero agradecimiento.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
AGRADECIMIENTO	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN EJECUTIVO	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1. Justificación.....	1
1.1.2. <i>S. enterica</i> como patógeno de importancia en la salud pública.....	2
1.1.2.1. Características generales y serotipos de importancia clínica de <i>S. enterica</i>	2
1.1.2.2. Salmonelosis como enfermedad transmitida por alimentos.....	3
1.1.2.3. Impacto epidemiológico a nivel mundial.....	4
1.1.3. <i>S. enterica</i> en productos avícolas	4
1.1.3.1. Aves como reservorio y contaminación en la cadena avícola.....	5
1.1.3.2. Presencia en carne de pollo y riego en mercados tradicionales	5
1.1.3.3. Situación en Ecuador y contexto local	6
1.1.4. Métodos de detección e identificación de <i>Salmonella</i>	7

1.1.4.1.	Métodos microbiológicos y pruebas bioquímicas.....	7
1.1.4.2.	Técnicas moleculares (PCR y genes marcadores).....	7
1.1.4.3.	Limitaciones de los métodos tradicionales	8
1.1.5.	Secuenciación del genoma completo (WGS) en bacterias	8
1.1.5.1.	Fundamentos y aplicaciones del WGS en microbiología.....	8
1.1.5.2.	Identificación de resistencia, virulencia y elementos móviles	9
1.1.5.3.	Importancia del WGS en estudios de patógenos alimentarios	10
1.1.6.	Secuenciación de tercera generación.....	11
1.1.6.1.	Principios y tecnología Oxford Nanopore.....	11
1.1.6.2.	Ventajas frente a tecnologías de segunda generación.....	11
1.1.6.3.	Aplicaciones en genómica bacteriana	12
1.1.7.	Análisis genómico de <i>S. enterica</i>	13
1.1.7.1.	Ensamblaje y anotación de genomas bacterianos	13
1.1.7.2.	Tipificación molecular (MLST) e identificación de genes	14
1.1.7.3.	Elementos genético móviles.....	15
1.1.8.	Análisis filogenético y diversidad genética	15
1.1.8.1.	Fundamentos de filogenia bacteriana y análisis de SNPs	16
1.1.8.2.	Construcción e interpretación de árboles filogenéticos.....	16
1.1.9.	Vigilancia epidemiológica y trazabilidad basadas en genómica	17
1.2.	Objetivos.....	19
1.2.1.	Objetivo General	19
1.2.2.	Objetivos Específicos	19
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA		20
2.1	Materiales.....	20
2.2	Métodos	23
2.2.1	Obtención de las secuencias de genoma completo (WGS) de cepas de <i>S. enterica</i> mediante secuenciación de tercera generación	23

2.2.1.1	Selección y recuperación de cepas de <i>S. enterica</i>	23
2.2.1.2	Confirmación bioquímica de cepas bacterianas	25
2.2.1.3	Obtención de ADN genómico	26
2.2.1.4	Preparación de librerías, secuenciación y ensamblaje genómico.....	27
2.2.1.5	Caracterización genómica básica	29
2.2.2	Caracterización genómica de las cepas de <i>S. enterica</i>	30
2.2.2.1	Análisis bioinformático de factores genómicos	30
2.2.2.2	Análisis comparativo y generación de perfiles genómicos	32
2.2.3	Análisis de las relaciones filogenéticas entre los genomas obtenidos y cepas de referencia	32
2.2.3.1	Análisis filogenético comparativo.....	32
2.2.3.2	Visualización y análisis epidemiológico	33
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		35
3.1	Análisis y discusión de los resultados.....	35
3.1.1	Obtención de secuencias de genoma completo de cepas de <i>S.</i> <i>enterica</i> mediante secuenciación de tercera generación	35
3.1.2	Caracterización genómica de las cepas de <i>S. enterica</i>	43
3.1.3	Análisis de las relaciones filogenéticas entre los genomas obtenidos y secuencias de referencia de <i>S. enterica</i>	53
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		65
4.1	Conclusiones.....	65
4.2.	Recomendaciones	67
MATERIALES DE REFERENCIA		69
Referencias bibliográficas.....		69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Recursos materiales</i>	20
Tabla 2 <i>Cepas de S. enterica seleccionadas para la caracterización genómica mediante secuenciación de tercera generación.</i>	23
Tabla 3 <i>Morfología colonial en agar XLD y resultados de pruebas bioquímicas de las cepas reactivadas.</i>	36
Tabla 4 <i>Características genómicas básicas de las 12 cepas de S. enterica secuenciadas en este estudio.</i>	39
Tabla 5 <i>Tipificación MLST, islas de patogenicidad y profagos de las 12 cepas de S. enterica</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapas circulares representativos de los genomas ensamblados de <i>S. Infantis</i> (C) y <i>S. Kentucky</i> (D).....	42
Figura 2 Mapa de calor de genes de virulencia de las 12 cepas de <i>S. entérica</i>	48
Figura 3 Perfil de genes de resistencia a antibióticos de las 12 cepas de <i>S. entérica</i> ..	50
Figura 4 Mapa de replicones plasmídicos de las 12 cepas de <i>S. enterica</i> identificados mediante PlasmidFinder (DTU CGE).	52
Figura 5 Árbol filogenético circular de cepas de <i>S. enterica</i> serovar <i>Infantis</i> y su relación con los aislamientos obtenido de Enterobase.....	57
Figura 6 Árbol filogenético de 393 cepas de <i>S. enterica</i> serovar <i>Kentucky</i> descargadas de Enterobase, incluyendo la cepa AtL3C (cepa D) del presente estudio.....	63

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 <i>Resultados de pruebas bioquímicas aplicadas a las cepas reactivadas.....</i>	93
Anexo 2 <i>Verificación de la integridad de ADN en gel de agarosa</i>	94
Anexo 3 <i>Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato.....</i>	95
Anexo 4 <i>Mapas de calor de los genes de virulencia de las cepas de S. entérica</i>	100
Anexo 5 <i>Metadata de las cepas del clúster filogenético correspondientes a S. Infantis</i>	102
Anexo 6 <i>Metadata de las cepas del clúster filogenético al que pertenece la cepa AtL3C (cepa D) siendo correspondientes a S. Kentucky.....</i>	104

RESUMEN EJECUTIVO

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor importancia a nivel mundial, siendo *S. enterica* uno de los principales patógenos asociados a la cadena avícola. En Ecuador, la comercialización de pollo en mercados tradicionales constituye una fuente potencial de exposición, especialmente en ciudades como Ambato, donde existe información limitada sobre la caracterización genómica de las cepas circulantes. El presente estudio evaluó su diversidad genética y relaciones filogenéticas en 12 cepas de *S. enterica* aisladas de carcasas y menudencias de pollo comercializado en mercados de Ambato. Las cepas fueron secuenciadas mediante la tecnología Oxford Nanopore y caracterizadas mediante herramientas bioinformáticas para determinar serotipos, secuencias tipo, genes de virulencia, resistencia antimicrobiana, plásmidos y profagos. Las relaciones filogenéticas se establecieron mediante el análisis comparativo de polimorfismos de nucleótido único con cepas de referencia. Los genomas presentaron niveles de completitud entre 95,52 por ciento y 100 por ciento. Se identificaron 11 aislamientos pertenecientes al serotipo Infantis y uno al serotipo Kentucky. Todas las cepas portaron genes asociados a resistencia a aminoglucósidos y sulfonamidas, mientras que *bla*_{CTX-M-65} se detectó en siete aislamientos. El análisis filogenético evidenció la circulación de un linaje clonal predominante de *S. Infantis* relacionado con aislamientos avícolas previamente reportados en Ecuador. Los resultados demuestran la presencia de cepas multirresistentes de importancia epidemiológica y destacan el valor de la secuenciación de tercera generación para fortalecer la vigilancia genómica bajo el enfoque One Health.

Palabras clave: genómica comparativa; mercados minoristas; secuenciación de tercera generación; resistencia antimicrobiana; *S. enterica*.

ABSTRACT

Salmonellosis is one of the most important foodborne diseases worldwide, with *S. enterica* being one of the main pathogens associated with the poultry production chain. In Ecuador, the commercialization of chicken in traditional markets constitutes a potential source of exposure, especially in cities such as Ambato, where information on the genomic characterization of circulating strains is limited. The present study evaluated the genetic diversity and phylogenetic relationships of 12 *S. enterica* strains isolated from chicken carcasses and giblets marketed in Ambato markets. The strains were sequenced using Oxford Nanopore technology and characterized through bioinformatics tools to determine serotypes, sequence types, virulence genes, antimicrobial resistance genes, plasmids, and prophages. Phylogenetic relationships were established through comparative analysis of single nucleotide polymorphisms with reference strains. The genomes showed completeness levels ranging from 95.52 percent to 100 percent. Eleven isolates belonged to the Infantis serotype and one to the Kentucky serotype. All strains carried genes associated with resistance to aminoglycosides and sulfonamides, whereas *bla*_{CTX-M-65} was detected in seven isolates. Phylogenetic analysis revealed the circulation of a predominant clonal lineage of *S. Infantis* related to poultry isolates previously reported in Ecuador. The results demonstrate the presence of multidrug-resistant strains of epidemiological importance and highlight the value of third-generation sequencing for strengthening genomic surveillance under the One Health approach.

Keywords: Comparative genomics; retail markets; third-generation sequencing; antimicrobial resistance; *S. enterica*.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Justificación

La salmonelosis constituye una de las principales enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) a nivel mundial, siendo *S. enterica* uno de los patógenos más frecuentemente asociados al consumo de productos avícolas, especialmente carne de pollo (**Zizza et al., 2025**). Esta bacteria es responsable de infecciones gastrointestinales que pueden manifestarse como gastroenteritis, diarrea, vómitos y dolor abdominal representando un importante problema de salud pública debido a su elevada incidencia y amplia distribución mundial (**Kumar et al., 2025**). La Organización Mundial de la Salud estima que una de cada diez personas en el mundo contrae una enfermedad transmitida por alimentos cada año, siendo *Salmonella* una de las principales causas de enfermedades diarreicas, con transmisión predominante a través de aves de corral, huevos y carne contaminada (**World Health Organization, 2018**).

En Ecuador, la comercialización de pollo en mercados tradicionales constituye una práctica ampliamente extendida debido a su accesibilidad y alto consumo a nivel poblacional. Estudios realizados a nivel nacional han evidenciado que estos espacios pueden presentar condiciones variables de control sanitario, lo que incrementa el riesgo de contaminación microbiológica y la diseminación de patógenos zoonóticos, entre ellos *S. enterica* (**Salazar-Llorente et al., 2021**). En la ciudad de Ambato, esta modalidad de comercialización también es frecuente, sin embargo, la información científica disponible sobre cepas de *S. enterica* asociadas a productos avícolas comercializados localmente es limitada, lo que dificulta la comprensión de su diversidad genética, potencial patogénico y relaciones filogenéticas en comparación con aislamientos reportados a nivel nacional e internacional (**La Hora, 2024**).

Frente a este contexto, la caracterización de genomas completos de aislamientos circulantes de *S. enterica* permitiría identificar características genéticas relacionadas con mecanismos de resistencia a antimicrobianos, factores de virulencia y relaciones filogenéticas, aportando información relevante sobre su potencial epidemiológico como agente causante de ETAs (**Mileto et al., 2025**). Para este propósito, se empleará la secuenciación de tercera generación, la cual permite la obtención de lecturas largas, secuenciación en tiempo real y una mayor eficiencia en la generación de datos genómicos (**Hu et al., 2021**), facilitando el ensamblaje completo de cromosomas y plásmidos. Por tanto, el presente proyecto propone el análisis genómico de aislamientos circulantes de *S. enterica* provenientes de pollo comercializado en la ciudad de Ambato, con el fin de generar información científica que contribuya al conocimiento epidemiológico del patógeno y respalde estrategias de vigilancia y control sanitario.

1.1.2. *S. enterica* como patógeno de importancia en la salud pública

1.1.2.1. Características generales y serotipos de importancia clínica de *S. enterica*

S. enterica pertenece al orden *Enterobacterales*, familia *Enterobacteriaceae*, y se caracteriza por ser una bacteria Gram negativa, bacilar, no formadora de esporas, con metabolismo anaerobio facultativo y flagelos peritricos que le confieren motilidad (**Brock et al., 2004; Willey et al., 2022**). Estas características fisiológicas le permiten adaptarse a condiciones ambientales variables, favoreciendo su persistencia en la cadena alimentaria.

A nivel genómico, *S. enterica* codifica factores de virulencia en Islas de Patogenicidad (SPI) y elementos genéticos móviles como plásmidos, los cuales participan en la adhesión, invasión y supervivencia intracelular en el huésped (**J. Han et al., 2024; Shaji et al., 2023**). La especie exhibe una elevada diversidad genética reflejada en numerosos serotipos de diferente relevancia clínica (**Chen et al., 2024**). Entre los más importantes se encuentran *S.*

Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* y *S. Gallinarum*; los tres primeros se asocian principalmente con infecciones humanas y brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), mientras que *S. Gallinarum* constituye un patógeno adaptado a las aves de corral con alta relevancia para la sanidad avícola (El-Shall et al., 2026; Polat et al., 2023). La diversidad de serotipos y su distribución en distintos reservorios resaltan la necesidad de una caracterización genómica profunda para comprender la variabilidad, dinámica de transmisión y potencial epidemiológico de esta especie (Deng et al., 2025).

1.1.2.2. Salmonelosis como enfermedad transmitida por alimentos

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa de transmisión principalmente alimentaria, asociada al consumo de productos de origen animal contaminados, especialmente carne de pollo, huevos y lácteos no pasteurizados (Teklemariam et al., 2023). Las aves de corral constituyen uno de los principales reservorios del patógeno, facilitando su diseminación a lo largo de la cadena alimentaria (Skrzypiec et al., 2025). Las manifestaciones clínicas incluyen dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos y fiebre, con posibilidad de complicaciones graves en poblaciones vulnerables como niños y adultos mayores (Lu et al., 2025; Onyeke & Bahman, 2025).

S. enterica posee mecanismos de tolerancia ácida que le permiten sobrevivir al tránsito gástrico y colonizar el intestino delgado, donde expresa genes de virulencia localizados en las Islas de Patogenicidad (SPI) para invadir células epiteliales, replicarse intracelularmente y evadir la respuesta inmune del huésped (Gavrill et al., 2025; Mishra et al., 2025). La variabilidad genética entre serotipos influye directamente en su virulencia y perfil epidemiológico, lo que resalta la importancia de la caracterización genómica para comprender las diferencias en patogenicidad y transmisión (Achtman et al., 2020).

1.1.2.3. Impacto epidemiológico a nivel mundial

S. enterica es reconocida como uno de los principales agentes etiológicos de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial, representando una causa significativa de morbilidad en la población **(Ranjan et al., 2026)**. En países como Estados Unidos, aproximadamente el 66% de los casos humanos de salmonelosis han sido atribuidos a la transmisión alimentaria, evidenciando la importancia de los alimentos como principal vía de infección **(Rose et al., 2025)**. Se han documentado brotes de relevancia internacional asociados a cepas específicas, como el ocasionado en Estados Unidos por una cepa persistente y multirresistente de *S. Infantis* vinculada al consumo de carne de pollo cruda **(Medalla et al., 2026)**, y en Europa, donde *Salmonella* se ha mantenido desde 2014 como una de las bacterias más frecuentemente aisladas en pollo de engorde y sus derivados **(Georganas et al., 2024)**.

Las infecciones por *Salmonella* contribuyen significativamente a la carga global de enfermedades diarreicas agudas **(Kyu et al., 2025)**, y la Organización Mundial de la Salud estima que afectan a millones de personas anualmente **(World Health Organization, 2024)**. Es frecuente el reporte de brotes de infecciones relacionadas con *Salmonella* debido al consumo de productos avícolas a nivel mundial, representando una de las principales vías de transmisión hacia los seres humanos **(Popa & Papa, 2021)**. Por lo que, considerando su ubicuidad, su estrecha asociación con la cadena alimentaria y la diversidad de cepas circulantes y de patotipos de interés sanitario, la vigilancia epidemiológica de este microorganismo resulta fundamental en contextos sanitarios y agroalimentarios, con la finalidad de comprender su dinámica de transmisión, mejorar procesos de producción y comercialización, así como para fortalecer las estrategias de vigilancia epidemiológica **(Gomes et al., 2025)**.

1.1.3. *S. enterica* en productos avícolas

1.1.3.1. Aves como reservorio y contaminación en la cadena avícola

El incremento en el consumo de carne de aves ha impulsado sistemas de producción más intensivos, modificando la dinámica de exposición a patógenos en la cadena alimentaria (Nassar, 2026). Las aves de corral se han consolidado como uno de los principales reservorios de *S. enterica*, evidenciado por el aislamiento de diversos serotipos en carne de pollo con elevado potencial de virulencia (Foley et al., 2008). La persistencia del patógeno en sistemas avícolas se asocia a mecanismos de transmisión horizontal y vertical; en particular, su capacidad de colonizar el tracto reproductivo de las aves facilita la transmisión hacia los huevos, así como es frecuente la contaminación microbiológica de la carne durante los procesos de faenamiento (Betiku et al., 2025; Wang et al., 2026). Factores como la edad del ave, el estrés, las condiciones ambientales, el uso de antimicrobianos y las características genéticas del huésped también modulan la susceptibilidad a la infección (Foley et al., 2008).

El aislamiento de *S. enterica* en distintas matrices, incluyendo carne de pollo y ambientes asociados a su procesamiento, confirma la capacidad del patógeno de circular a través de múltiples etapas de la cadena alimentaria y lo posiciona como un riesgo sanitario persistente (Adhikari et al., 2025a; Sripaurya et al., 2025).

1.1.3.2. Presencia en carne de pollo y riesgo en mercados tradicionales

La presencia de *S. enterica* en carne de pollo representa un problema frecuente de inocuidad alimentaria, dado que las aves pueden actuar como portadoras asintomáticas, dificultando la detección del patógeno en etapas tempranas de la producción (Antunes et al., 2016; Mengistu et al., 2025). Durante los procesos de faenamiento y procesamiento, la contaminación puede incrementarse significativamente a través del contacto con superficies, equipos o contenido intestinal (Biyashev et al., 2025). Algunos clones de *Salmonella* poseen la capacidad de persistir a lo largo de toda la cadena alimentaria desde la granja hasta los puntos de venta minorista aumentando la probabilidad de exposición del consumidor (Katsande et al., 2025). Esta problemática es especialmente relevante en países en

desarrollo, donde se han reportado prevalencias de *Salmonella* en carne de pollo de entre el 35% y el 50%, asociadas a deficiencias en el control sanitario y al uso de antimicrobianos en producción intensiva (Antunes et al., 2016).

Estudios recientes han evidenciado mayor frecuencia de aislamiento en carne fresca en comparación con carne congelada, lo que sugiere que las condiciones de almacenamiento influyen en la supervivencia del patógeno (Zulkifli et al., 2025). Asimismo, se ha identificado una elevada proporción de cepas resistentes a múltiples antimicrobianos (Nagpala et al., 2025), y prácticas inadecuadas de higiene, contaminación cruzada y formación de biopelículas en mercados tradicionales favorecen la diseminación del patógeno hasta el consumidor final (Kanaan, 2023; Zeng et al., 2025).

1.1.3.3. Situación en Ecuador y contexto local

En Ecuador, *S. enterica* es un patógeno frecuente en la producción avícola y una de las principales causas de infecciones gastrointestinales, dado el elevado consumo de carne de pollo (Sevilla-Navarro et al., 2026). Estudios previos reportaron la presencia de *Salmonella* en aproximadamente el 15% de los lotes de pollos de engorde evaluados (Vinueza-Burgos et al., 2016); sin embargo, investigaciones más recientes evidencian una mayor circulación del patógeno, con prevalencias superiores al 40% en granjas y más del 50% en carcasas destinadas al consumo humano (Mejía et al., 2020). El análisis de las cepas ha revelado alta similitud genética entre linajes circulantes, con la identificación de múltiples genotipos con variaciones mínimas, lo que sugiere la persistencia de clones específicos dentro de los sistemas de producción (Reyes et al., 2026). Se han reportado, además, elevados niveles de resistencia a antimicrobianos superiores al 80% frente a betalactámicos, con *S. Infantis* como serovar predominante frecuentemente asociado a perfiles de multirresistencia (Álvarez-Espejo et al., 2026; Vinueza-Burgos et al., 2016).

En Ambato específicamente, *S. enterica* ha sido documentada en distintos puntos de la cadena de comercialización avícola, con aislamiento de cepas que presentan elevados niveles de resistencia a oxitetraciclina y ciprofloxacina, lo que resalta la necesidad de fortalecer las medidas de vigilancia y control sanitario en la región (García et al., 2025)

1.1.4. Métodos de detección e identificación de *Salmonella*

1.1.4.1. Métodos microbiológicos y pruebas bioquímicas

La detección de *S. enterica* en muestras alimentarias se realiza tradicionalmente mediante métodos microbiológicos convencionales estandarizados, tomando como referencia la norma ISO 6579-1:2017, que establece la recuperación del patógeno en medios selectivos para favorecer su crecimiento diferencial frente a otros microorganismos (ISO, 2017). La confirmación se realiza mediante pruebas bioquímicas que evalúan características metabólicas específicas, como la producción de sulfuro de hidrógeno, la utilización del citrato, la actividad ureasa y la siembra en medios diferenciales como el agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) (Bestari et al., 2025). Estos métodos continúan siendo el estándar de referencia en el análisis microbiológico de alimentos debido a su alta fiabilidad, bajo costo y aceptación por normativas internacionales (Patel et al., 2024), aunque presentan limitaciones en cuanto a tiempo de procesamiento y aplicabilidad en escenarios que requieren respuesta rápida (Jay, 2012).

1.1.4.2. Técnicas moleculares (PCR y genes marcadores)

Las técnicas moleculares han adquirido creciente relevancia en la detección de *S. enterica* por su sensibilidad, especificidad y rapidez. Entre ellas destaca la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite la amplificación de secuencias específicas de ADN mediante cebadores dirigidos a genes característicos del patógeno, posibilitando su identificación incluso en bajas concentraciones (Prabhakaran et al., 2026; Shi et al., 2015).

Complementariamente, se han desarrollado técnicas de amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP) y métodos basados en recombinasas, que permiten una detección rápida sin necesidad de termocicladores y con alta sensibilidad a bajas concentraciones **(Ye et al., 2025)**. No obstante, estas técnicas presentan limitaciones relacionadas con la presencia de inhibidores en las muestras y la diferenciación entre células viables y no viables **(Patel et al., 2024)**.

1.1.4.3. Limitaciones de los métodos tradicionales

Los métodos microbiológicos convencionales requieren múltiples etapas de procesamiento, preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento e identificación bioquímica lo que prolonga considerablemente el tiempo de obtención de resultados **(Siceloff & Shariat, 2025)**. Por su parte, las técnicas moleculares, aunque más rápidas y específicas, pueden verse afectadas por inhibidores presentes en las muestras, la necesidad de enriquecimiento previo y la incapacidad de distinguir entre células viables y no viables **(Dopud et al., 2025; M. Wang et al., 2021)**. Estas limitaciones han impulsado el desarrollo de metodologías avanzadas como la secuenciación del genoma completo (WGS). Las cuales permiten no solo detectar el microorganismo, sino también caracterizar su diversidad genética, determinar relaciones filogenéticas e identificar genes asociados a virulencia y resistencia antimicrobiana, proporcionando una visión más integral del patógeno **(Atxaerandio-Landa et al., 2022)**.

1.1.5. Secuenciación del genoma completo (WGS) en bacterias

1.1.5.1. Fundamentos y aplicaciones del WGS en microbiología

La secuenciación del genoma completo (WGS) es una herramienta que permite determinar la totalidad de la información genética de un organismo en un solo análisis, proporcionando una visión integral de su estructura y contenido genómico **(Timsit et al.,**

2024). A diferencia de los métodos tradicionales enfocados en regiones específicas del ADN, el WGS permite analizar simultáneamente todos los genes de un microorganismo, incluidos los asociados a virulencia, resistencia antimicrobiana y adaptación ambiental **(Cipriani et al., 2025).**

El proceso se basa en la obtención y secuenciación de fragmentos de ADN genómico que son ensamblados mediante herramientas bioinformáticas para reconstruir el genoma completo **(Espinosa et al., 2024).** Este proceso permite identificar con alta precisión las características genéticas de una cepa, analizar su diversidad genómica y comparar múltiples aislamientos mediante diferentes enfoques de tipificación molecular **(van Almsick et al., 2026).** La integración de análisis bioinformáticos facilita además la detección de variantes genéticas y la reconstrucción de relaciones evolutivas entre microorganismos estrechamente relacionados **(Didelot et al., 2012).** En patógenos como *S. enterica*, el WGS ha superado las limitaciones de los métodos convencionales de tipificación, fortaleciendo las estrategias de control sanitario y seguridad alimentaria **(Brlek et al., 2024).**

1.1.5.2. Identificación de resistencia, virulencia y elementos móviles

La secuenciación del genoma completo (WGS) ha avanzado significativamente en la caracterización de patógenos bacterianos al facilitar la identificación simultánea de genes de resistencia antimicrobiana, factores de virulencia y elementos genéticos móviles **(Anik et al., 2025).** En *S. enterica*, el análisis genómico ha evidenciado la presencia de múltiples determinantes de resistencia asociados tanto al cromosoma como a plásmidos, incluyendo genes relacionados con resistencia a aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas y β -lactámicos, así como mutaciones puntuales vinculadas a la resistencia a quinolonas **(Wang et al., 2025).** Asimismo, el WGS ha permitido identificar islas genómicas como SGI1, que actúan como plataformas para la adquisición y diseminación de genes de resistencia, evidenciando el papel de la transferencia horizontal en la evolución bacteriana **(Benevides et al., 2024).**

Entre los factores de virulencia más relevantes identificados mediante WGS se encuentran las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2, que codifican sistemas de secreción tipo III (T3SS) implicados en la invasión de células epiteliales, la supervivencia intracelular y la modulación de la respuesta inmune del huésped **(Mishra et al., 2025)**. Complementariamente, el WGS ha permitido caracterizar elementos genéticos móviles como plásmidos conjugativos, profagos e integrones, que constituyen fuentes importantes de variabilidad genética y desempeñan un papel determinante en la diseminación de genes de resistencia y virulencia entre cepas y especies bacterianas **(Benevides et al., 2024)**.

1.1.5.3.Importancia del WGS en estudios de patógenos alimentarios

La secuenciación del genoma completo (WGS) se ha convertido en una herramienta clave en el estudio de patógenos transmitidos por alimentos, gracias a su capacidad para analizar el genoma bacteriano con alta resolución **(Dong et al., 2025)**. A diferencia de los métodos tradicionales de tipificación, el WGS permite una discriminación más precisa entre cepas, facilitando la identificación de relaciones filogenéticas y la detección de brotes con mayor exactitud **(Gomes et al., 2025)**. En *S. enterica*, su aplicación ha mejorado significativamente la vigilancia epidemiológica al permitir la detección temprana de agrupamientos, el rastreo de fuentes de contaminación y la diferenciación entre eventos de transmisión locales e internacionales **(Pijnacker et al., 2025)**.

Adicionalmente, el análisis de datos genómicos posibilita la identificación simultánea de genes de virulencia y resistencia antimicrobiana, aportando información clave para la evaluación del riesgo en salud pública **(Matsumura et al., 2025)**. Diversos estudios demuestran que el WGS supera a las técnicas convencionales en poder de discriminación, permitiendo incluso la detección de brotes de baja magnitud previamente inadvertidos **(Chattaway et al., 2023)**.

1.1.6. Secuenciación de tercera generación

1.1.6.1. Principios y tecnología Oxford Nanopore

La secuenciación por Oxford Nanopore Technologies (ONT) se fundamenta en la detección de moléculas individuales mediante el paso de ácidos nucleicos a través de nanoporos insertados en una membrana que separa dos compartimentos con solución electrolítica (**Scarano et al., 2024**). Al aplicar un potencial eléctrico, el ADN o ARN, debido a su carga negativa, se transloca a través del nanoporo generando alteraciones específicas en la corriente iónica, registradas y convertidas en secuencias nucleotídicas (**Upret et al., 2025**). Este enfoque permite la secuenciación directa sin amplificación previa y la obtención de lecturas largas en tiempo real, con una preparación de muestra relativamente simple en comparación con otras plataformas (**MacKenzie & Argyropoulos, 2023**).

Los sistemas ONT emplean nanoporos biológicos y de estado sólido que trabajan en conjunto con proteínas motoras para regular la velocidad de translocación y mejorar la precisión de lectura (**Wang et al., 2025**). Las alteraciones de corriente resultantes conocidas como squiggles son interpretadas mediante algoritmos de base-calling que construyen la secuencia nucleotídica en tiempo real (**Jakubicek et al., 2026**). Esta tecnología destaca además por su portabilidad, la capacidad de secuenciar ARN directamente y su potencial para detectar modificaciones epigenéticas (**Scarano et al., 2024**).

1.1.6.2. Ventajas frente a tecnologías de segunda generación

La secuenciación de tercera generación, como la desarrollada por Oxford Nanopore Technologies, ofrece ventajas clave frente a las tecnologías de segunda generación al permitir la obtención de lecturas largas y el análisis directo de moléculas individuales de ADN o ARN (**Espinosa et al., 2024**). Esto facilita la caracterización de regiones genómicas complejas, variantes estructurales y modificaciones epigenéticas, sin requerir fragmentación ni

ensamblaje extensivos, procesos necesarios en plataformas de lectura corta (**Mahmoud et al., 2025**).

Las tecnologías de lectura larga como ONT y PacBio pueden generar secuencias desde varios kilobases hasta lecturas ultra-largas de megabases, superando la capacidad de las plataformas de segunda generación (**Greenman et al., 2024**). Esta característica mejora la resolución de regiones repetitivas y variantes estructurales de gran tamaño, facilita ensamblajes de novo más continuos y precisos, y disminuye la fragmentación de contigs en genomas complejos (**Rausch et al., 2025**). Si bien el costo y la demanda computacional pueden ser superiores a los de las tecnologías de lectura corta, los avances recientes en algoritmos de corrección y herramientas de ensamblaje han incrementado significativamente la precisión y rendimiento de estas plataformas (**Tafazoli et al., 2025**).

1.1.6.3. Aplicaciones en genómica bacteriana

Las tecnologías de secuenciación de tercera generación han demostrado un amplio potencial en la genómica bacteriana, permitiendo la obtención de genomas completos y de alta calidad directamente a partir de muestras complejas, como microbiomas, sin necesidad de aislamiento previo (**Greenman et al., 2024**). Se han logrado ensamblar genomas de diversas bacterias, incluidos taxones poco caracterizados, lo que ha permitido el análisis de pangenomas, diversidad genética y funciones metabólicas, proporcionando información clave sobre el rol ecológico y clínico de estos microorganismos (**Amarasinghe et al., 2020**). La capacidad de resolver regiones repetitivas y obtener ensamblajes más continuos mejora la precisión en estudios filogenéticos y en la caracterización funcional (**Baker, 2022**).

En el estudio de patógenos bacterianos, la secuenciación de tercera generación facilita la identificación de genes de resistencia antimicrobiana, factores de virulencia y elementos genéticos móviles, como plásmidos e islas genómicas, fundamentales en la evolución y adaptación bacteriana (**Cipriani et al., 2025**). Plataformas como ONT y PacBio permiten

reconstruir genomas y plásmidos completos con mayor precisión, mejorando el análisis filogenético y el rastreo de brotes infecciosos (**Han et al., 2025**). Los enfoques híbridos que combinan lecturas largas y cortas continúan optimizando la calidad de los ensamblajes, consolidando estas herramientas como fundamentales en la genómica bacteriana moderna (**Amoutzias et al., 2022**).

1.1.7. Análisis genómico de *S. enterica*

1.1.7.1. Ensamblaje y anotación de genomas bacterianos

El ensamblaje genómico consiste en la reconstrucción de la secuencia completa de un organismo a partir de los fragmentos de ADN generados durante la secuenciación, proceso que puede realizarse de forma *de novo* o mediante el mapeo contra un genoma de referencia (**Yavaş et al., 2025**). En *S. enterica*, esta etapa es fundamental para recuperar no solo el cromosoma principal sino también elementos extracromosomales como plásmidos, que frecuentemente albergan genes de resistencia y factores de virulencia (**Li et al., 2021**). La calidad del ensamblaje se evalúa mediante métricas estándar, número de contigs, valor N50 y porcentaje de completitud genómica, cuya combinación proporciona una visión integral de la continuidad y representatividad del genoma obtenido (**Rojas-Miranda et al., 2025**). Herramientas como BUSCO, que cuantifica la presencia de ortólogos de copia única altamente conservados, complementan estas métricas y se han convertido en referencia para la validación de ensamblajes bacterianos (**Manni et al., 2021**).

La anotación genómica asigna funciones biológicas a las regiones codificantes identificadas comparando las secuencias contra bases de datos curadas (**Dickey et al., 2024**). Para ello se recurre a herramientas especializadas disponibles en la plataforma del Center for Genomic Epidemiology (CGE-DTU), que integra programas como ResFinder para resistencia antimicrobiana, VirulenceFinder para factores de virulencia, PlasmidFinder para tipificación de plásmidos y SerotypeFinder para serotipificación in silico (**Bortolaia et al.,**

2020; Florensa et al., 2022). La automatización de estos procesos mediante pipelines como GEA ha permitido su aplicación a escala, con bases de datos actualizadas frecuentemente que mejoran la precisión de la anotación a medida que se depositan nuevos genomas (Dickey et al., 2024).

1.1.7.2. Tipificación molecular (MLST) e identificación de genes

La tipificación por secuenciación multilocus (MLST) clasifica los aislamientos bacterianos en tipos de secuencia (ST) basándose en las variantes alélicas de entre cinco y siete genes *housekeeping* conservados (Haddadi et al., 2025). En *S. enterica*, este esquema ha demostrado ser superior a la serotipificación tradicional como herramienta de clasificación poblacional, dado que cepas del mismo serotipo pueden pertenecer a linajes evolutivos distintos (Hong et al., 2025). Entre los tipos de secuencia de mayor relevancia epidemiológica se encuentran ST34 y ST19 en *S. Typhimurium* y ST11 en *S. Enteritidis*, que concentran la mayoría de los aislamientos humanos de origen alimentario reportados globalmente (Hong et al., 2025). Estudios recientes han confirmado que ST34 representa el ST más prevalente en colecciones clínicas y de la cadena avícola en múltiples países, seguido de ST19 y ST11 (Wang et al., 2025).

La identificación complementaria de genes de virulencia y resistencia mediante WGS aporta una caracterización funcional que el MLST por sí solo no puede proporcionar (Jin et al., 2024). Genes como *spvB*, *sseI*, *sodCI* y *rpoS* participan en la invasión celular, la supervivencia intracelular, la respuesta al estrés oxidativo y la diseminación sistémica del patógeno (Buddhasiri et al., 2023). La integración del MLST con el análisis de genes funcionales permite construir un perfil genómico completo que facilita la detección de cepas con mayor potencial patogénico o resistencia a antibióticos de uso clínico crítico. Este enfoque combinado permite además comparar aislamientos de distintos orígenes avícola, clínico y ambiental en una sola plataforma analítica (Hong et al., 2025), generando información clave para la evaluación del riesgo y la toma de decisiones en salud pública (Alikhan et al., 2022).

1.1.7.3. Elementos genético móviles

Los elementos genéticos móviles (EGMs) desempeñan un papel determinante en la evolución y adaptación de *S. enterica* principalmente a través de la facilitación de la transferencia horizontal de genes (Foley et al., 2008). Este mecanismo permite a las bacterias adquirir rápidamente nuevas capacidades, incluyendo resistencia a antimicrobianos y factores de virulencia adicionales, explicando en parte la capacidad del patógeno de persistir en entornos con presión antibiótica sostenida (Zeng et al., 2025). Una revisión bibliométrica reciente sobre transferencia horizontal en *Salmonella* identifica la conjugación plasmídica, los transposones y los integrones como las tres vías predominantes para la diseminación de genes de resistencia en esta especie (Yan et al., 2024).

Entre los EGMs más relevantes se encuentran los plásmidos conjugativos, que actúan como vehículos primarios para la diseminación de genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, tetraciclinas y sulfonamidas (Zheng et al., 2025). Los integrones, aunque no son móviles por sí mismos, están frecuentemente embebidos en transposones o plásmidos que facilitan su transferencia horizontal, acumulando cassettes de resistencia frente a múltiples familias de antibióticos (Ranjith Kumavath et al., 2025). La isla genómica SGI1, presente en múltiples serovares, concentra varios de estos cassettes en una sola plataforma integrable y es de particular relevancia para la vigilancia de la multirresistencia (Benevides et al., 2024). Los profagos integrados en el cromosoma contribuyen tanto a la virulencia como a la variabilidad interespecífica, generando mosaicismo genómico entre cepas estrechamente relacionadas (She et al., 2025). La caracterización de estos elementos mediante WGS es un componente esencial del análisis genómico de *S. enterica*, ya que permite comprender los mecanismos que impulsan la emergencia de variantes de mayor riesgo epidemiológico (Liu et al., 2024).

1.1.8. Análisis filogenético y diversidad genética

1.1.8.1. Fundamentos de filogenia bacteriana y análisis de SNPs

La filogenia bacteriana busca reconstruir las relaciones evolutivas entre cepas a partir de sus características genéticas, representándolas en árboles que reflejan grados de parentesco y divergencia desde un ancestro común (Alikhan et al., 2018). En *S. enterica*, los enfoques modernos han reemplazado progresivamente los métodos fenotípicos por análisis basados en genomas completos, dado que cepas del mismo serotipo pueden ser genéticamente heterogéneas y pertenecer a linajes evolutivos distintos (Hong et al., 2025). Esta limitación de los métodos clásicos resulta especialmente problemática en investigaciones de brotes, donde la resolución insuficiente puede conducir a errores en la identificación de fuentes y rutas de transmisión (Leekitcharoenphon et al., 2014).

El análisis de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) de genoma completo representa actualmente el estándar de mayor resolución para la filogenia bacteriana y la epidemiología molecular (Mustafa, 2024). Este enfoque identifica variaciones puntuales a lo largo del cromosoma y las utiliza como marcadores para inferir árboles filogenéticos de máxima verosimilitud, capaces de discriminar entre cepas genéticamente muy próximas (Yang et al., 2026). Estudios comparativos que evaluaron múltiples enfoques — árbol de pangenoma, k-mer, diferencias nucleotídicas y SNP — demostraron que el árbol SNP logra el mayor porcentaje de concordancia con la epidemiología predefinida de brotes (100% para *S. Typhimurium*), superando claramente a PFGE como método de referencia (Leekitcharoenphon et al., 2014). La diferencia en el número de SNPs entre aislamientos proporciona evidencia robusta para establecer o descartar vínculos epidemiológicos, si bien su interpretación siempre debe integrarse con datos epidemiológicos del contexto (Mustafa, 2024).

1.1.8.2. Construcción e interpretación de árboles filogenéticos

La construcción de árboles filogenéticos a partir de genomas bacterianos implica el alineamiento de las secuencias contra un genoma de referencia para identificar posiciones

variables, seguido de la aplicación de modelos de sustitución nucleotídica y algoritmos de inferencia filogenética como máxima verosimilitud (**Leekitcharoenphon et al., 2014**). Herramientas bioinformáticas como FastTree o RAxML permiten procesar grandes conjuntos de genomas de manera eficiente, y los árboles resultantes pueden visualizarse e interpretarse mediante plataformas como Interactive Tree of Life (iTOL), que facilita la incorporación de metadatos epidemiológicos directamente sobre la estructura del árbol (**Letunic & Bork, 2021**). La plataforma CSIPhylogeny del CGE ha demostrado alta reproducibilidad en la construcción de árboles SNP para *S. enterica* y ha sido validada en múltiples estudios de vigilancia en distintos contextos geográficos (**Kaas et al., 2014**).

La interpretación adecuada de estos árboles requiere integrar los datos genéticos con el contexto epidemiológico disponible (**Chattaway et al., 2023**). Un agrupamiento estrecho de cepas sugiere transmisión clonal reciente o un origen común, mientras que la dispersión en ramas distantes indica diversidad genética y eventos de introducción independientes. En estudios de *S. enterica* proveniente de la cadena avícola, este análisis ha permitido establecer vínculos entre aislamientos de granjas, carcasas y casos clínicos humanos, evidenciando la persistencia del patógeno a lo largo de toda la cadena alimentaria (**Adhikari et al., 2025**). En brotes recientes como el ocurrido en Chile en 2024 con *S. Abony*, el árbol SNP de máxima verosimilitud permitió identificar el linaje responsable y relacionarlo con aislamientos de otros países, demostrando el valor operativo del análisis filogenético en la respuesta a emergencias sanitarias (**Álvarez-Espejo et al., 2026**). La presencia de elementos genéticos móviles como profagos puede introducir variabilidad adicional en la arquitectura genómica, factor que debe considerarse al interpretar las topologías obtenidas (**Quelal-Madrid et al., 2026**).

1.1.9. Vigilancia epidemiológica y trazabilidad basadas en genómica

La consolidación del WGS como herramienta de referencia en salud pública ha transformado la forma en que los sistemas de vigilancia detectan y responden a los brotes de

S. enterica. Su incorporación en redes como PulseNet en Estados Unidos permitió identificar más brotes, de menor tamaño y con mayor frecuencia de localización de la fuente, en comparación con los métodos convencionales **(Dong et al., 2025)**. Este avance fue reconocido a nivel regulatorio por la Unión Europea, que en 2025 exigió el uso del WGS en la investigación de brotes por cinco patógenos prioritarios, entre ellos *S. enterica*, con protocolos estandarizados de intercambio de datos entre Estados miembros **(EU Regulation 2025/179, 2025)**. En el ámbito de la cadena avícola específicamente, estudios longitudinales que aplicaron WGS desde los lotes en granja hasta el producto final en planta demostraron la persistencia de linajes clonales de *S. enterica* capaces de sobrevivir a los procedimientos de limpieza y desinfección, estableciendo vínculos directos entre los puntos de producción primaria y los casos clínicos humanos **(Adhikari et al., 2025)**. La disponibilidad de tecnologías portátiles de secuenciación de nanoporos ha extendido estas capacidades a entornos con recursos limitados, abriendo la posibilidad de implementar vigilancia genómica en tiempo real en sistemas descentralizados de producción avícola como los que predominan en Ecuador **(Karunarathna et al., 2025)**.

En el contexto latinoamericano y ecuatoriano, la aplicación del WGS para la vigilancia de *S. enterica* en productos avícolas es aún incipiente, lo que limita la comprensión de la diversidad genética de los linajes circulantes, sus perfiles de resistencia y sus relaciones filogenéticas con cepas reportadas a nivel regional e internacional **(Mejía et al., 2020; Calero-Cáceres et al., 2020)**. La caracterización genómica de aislamientos locales mediante secuenciación de tercera generación representa, por tanto, una contribución necesaria para llenar este vacío de información y fortalecer las estrategias de control sanitario en puntos críticos de la cadena alimentaria como los mercados tradicionales de la ciudad de Ambato **(García et al., 2025; Karunarathna et al., 2025)**.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la diversidad genómica y las relaciones filogenéticas de cepas de *S. enterica* aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato mediante secuenciación de tercera generación.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Obtener las secuencias de genoma completo de cepas de *S. enterica* mediante secuenciación de tercera generación.
- Caracterizar genómicamente las cepas obtenidas mediante análisis de serotipificación, tipificación MLST, detección de genes de resistencia a antibióticos, genes de virulencia, profagos y plásmidos.
- Analizar las relaciones filogenéticas entre los genomas completos obtenidos y secuencias de referencia de *S. enterica* disponibles en bases de datos genómicas.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales

En la **Tabla 1** se presentan los reactivos, materiales fungibles y equipos empleados durante el desarrollo de la investigación. El presente trabajo de titulación fue de tipo experimental y se llevó a cabo en los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA).

Tabla 1

Recursos materiales.

Reactivos			Cantidad
Agua estéril			2 L
Agar Xilosa-Lisina-Dexosicolato (XLD)			1 frasco (500 g)
E.Z.N.A.® Soil DNA Kit			1 kit
PureLink™	Microbiome	DNA	1 kit
Purification Kit			
Etanol 96%			1 L
Agarosa			0,5 g
Agua destilada			10 L
Agua libre de nucleasas (ddH ₂ O)			10 mL
TBE 1x			500 mL
Solución de trabajo HS dsDNA Qubit			380 µL
Kit de codificación de barras nativo 24			1
V14 (SQK-NBD114.24)			
Blunt/TA Ligase Master Mix			1
Mezcla reparadora de ADN FFPE			1
NEBNext			

Reactivos	Cantidad
Módulo de ligadura rápida NEBNext	1
Kit de lavado de celdas de flujo R10.4.1	1
Material Fungible	Cantidad
Botellas de tapa azul (500 mL)	10
Espátula	1
Asa de inoculación	2
Cajas Petri plásticas	300
Micropipeta (0.5 – 10 µL)	1
Gradilla	3
Puntas para micropipetas	1 rack (96 unidades)
Eppendorfs de 1,5 mL	30
Eppendor DNA LoBind de 1,5 mL	10
Tubos de PCR de 0,2 mL	10
Tubos de ensayo Qubit	10
Mechero Bunsen	1
Parafilm	1
Guantes de nitrilo	3 cajas
Mascarillas	2 caja
Cofia	1
Cinta adhesiva de papel	1
Papel aluminio	1
Cantidad	
Equipos	
Autoclave	1
Balanza analítica	1
Microondas	1

Continúa

Tabla 1*Recursos materiales*

Equipos	Cantidad
Nevera	1
Incubadora	1
Cabina de flujo laminar Bioseguridad II	1
Vórtex	1
Termociclador	1
Cámara de electroforesis	1
Qubit Fluometer	1
Rejilla de separación magnética	1
Computadora	1
Dispositivo portátil de secuenciación de nanoporos MinION Mk1B	1
Celda de flujo MinION Mk1B	1
Computadora	2

Nota. Todos los equipos empleados fueron facilitados por el Laboratorio de Investigación de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE)

2.2 Métodos

2.2.1 Obtención de las secuencias de genoma completo (WGS) de cepas de *S. enterica* mediante secuenciación de tercera generación

2.2.1.1 Selección y recuperación de cepas de *S. enterica*

Las cepas de *S. enterica* utilizadas en el presente estudio procedieron del Banco de Cepas Microbianas del laboratorio UTA RAM–One Health de la Universidad Técnica de Ambato. Dichas cepas fueron previamente aisladas a partir de menudencias y carcasas de pollo obtenidas en diferentes mercados de la provincia de Tungurahua. Para el presente trabajo se seleccionaron trece aislamientos provenientes de distintos puntos de comercialización avícola y tipos de muestra, con el propósito de obtener un conjunto representativo de la diversidad de cepas disponibles para su posterior caracterización genómica. En la **Tabla 2** se detallan las especificaciones de cada cepa.

Tabla 2

Cepas de S. enterica seleccionadas para la caracterización genómica mediante secuenciación de tercera generación.

Código de la cepa	Abreviación	Tipo de muestra	Aislamiento selectivo en XLD
SM3LxR1C2	A	Menudencia	13/07/2022
SM9L1R2C2	B	Menudencia	08/06/22
IzL3M	C	Menudencia	06/12/22
AtL3C	D	Carcasa	22/11/22
SrL1CR1	E	Carcasa	26/10/22
SM8L3R3C3	F	Menudencia	08/06/22
HgL1C	G	Carcasa	15/11/22
SM10L1R3C6	H	Menudencia	08/06/22

Continúa

Tabla 2

Cepas de S. enterica seleccionadas para la caracterización genómica mediante secuenciación de tercera generación.

Código de la cepa	Abreviación	Tipo de muestra	Aislamiento selectivo en XLD
JBL1C	I	Carcasa	29/11/22
PiL1C	J	Carcasa	06/12/22
SM11L1R3C1	K	Menudencia	08/07/22
SM6L3R1C1	L	Carcasa	01/07/22
MvL1C	M	Menudencia	09/11/22

Nota. Las cepas fueron seleccionadas con el fin de representar la diversidad de aislamientos de *S. enterica* recuperados de menudencias y carcasas de pollo provenientes de distintos mercados de la provincia de Tungurahua. Las abreviaciones A–M fueron utilizadas para facilitar la identificación de cada aislamiento durante el estudio.

Las cepas se encontraban conservadas en medio nutritivo suplementado con glicerol bajo condiciones de criopreservación a -70 °C, condición que garantiza la viabilidad celular y la estabilidad genética de los aislamientos bacterianos durante períodos prolongados de almacenamiento (Siceloff et al., 2021). La preservación en glicerol a temperaturas ultrabajas es el método de referencia para el mantenimiento de colecciones de cultivos microbianos, ya que evita los daños celulares asociados a la formación de cristales de hielo y minimiza la acumulación de mutaciones espontáneas (Meslier et al., 2022).

La recuperación bacteriana se efectuó mediante siembra en agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), un medio selectivo y diferencial ampliamente empleado para el aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de matrices diversas, que inhibe el crecimiento de microorganismos Gram positivos y de gran parte de las enterobacterias no patógenas gracias a su contenido en desoxicolato sódico y bilis de buey (Neyaz et al., 2024). Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas con el propósito de restablecer la viabilidad celular tras

la descongelación y de verificar la pureza morfológica de los cultivos antes de continuar con los análisis posteriores **(ISO, 2017)**. En este medio, las colonias características de *Salmonella* se reconocen por su coloración rosada a roja con centro negro, producto de la descarboxilación de lisina y la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) a partir del tiosulfato sódico presente en el medio **(Neyaz et al., 2024)**.

2.2.1.2 Confirmación bioquímica de cepas bacterianas

La identidad taxonómica de las cepas recuperadas fue verificada mediante la aplicación de pruebas bioquímicas convencionales, siguiendo los lineamientos establecidos por la norma ISO 6579-1:2017 y el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la FDA **(Andrews et al., 2024; ISO, 2017)**. Todas las pruebas fueron incubadas a 37 °C en condiciones aerobias durante 18–24 horas **(Bastin et al., 2019)**. La confirmación bioquímica previa al análisis molecular es un paso crítico en el flujo de trabajo microbiológico, ya que asegura que los aislamientos sometidos a secuenciación corresponden efectivamente al organismo de interés, evitando el desperdicio de recursos en el análisis de cepas mal identificadas **(Hafezi & Khamar, 2024)**.

Se empleó en primer lugar el medio Triple Sugar Iron (TSI), el cual permite evaluar de forma simultánea la fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, así como la producción de H₂S y gas. Este medio contiene rojo fenol como indicador de pH y sales ferrosas para evidenciar la producción de sulfuro de hidrógeno. La inoculación se realizó mediante punción en el fondo del tubo y estría en el pico de flauta, siguiendo el protocolo estandarizado **(Andrews et al., 2024)**. El patrón esperado para *Salmonella* consiste en fondo ácido (amarillo), superficie alcalina (rosado/rojo), producción positiva de H₂S y producción variable de gas. **(Lee, et al., 2015)**.

Complementariamente, se realizó la prueba de Citrato de Simmons para determinar la capacidad de utilizar el citrato como única fuente de carbono y energía, mediante la

inoculación en estría sobre la superficie del medio inclinado. Un viraje de la coloración verde a azul del indicador bromocresol de púrpura fue interpretado como resultado positivo **(Hafezi & Khamar, 2024)**. Para la evaluación de la actividad ureasa, el medio correspondiente se distribuyó en tubos Eppendorf estériles y se inoculó mediante punción directa, la ausencia de viraje al color rosado o fucsia confirmó la condición ureasa negativa característica del género *Salmonella* **(Lee, et al., 2015)**.

Las cepas que presentaron el patrón bioquímico característico, TSI fondo ácido/superficie alcalina, H₂S positivo, citrato positivo y ureasa negativa, fueron confirmadas como pertenecientes al género *Salmonella* y seleccionadas para los análisis genómicos posteriores.

2.2.1.3 Obtención de ADN genómico

La biomasa bacteriana para la extracción de ADN se obtuvo a partir de cultivos en agar XLD incubados a 37 °C durante 18–24 horas, período que corresponde a la fase de crecimiento exponencial tardía, en la que la densidad celular es elevada y la viabilidad bacteriana es óptima. Las colonias fueron resuspendidas en agua libre de nucleasas para minimizar la actividad enzimática exógena que pudiera degradar el material genético durante el procesamiento **(Fu et al., 2022)**.

El ADN genómico fue extraído mediante dos kits comerciales, en función de la disponibilidad de insumos y de la optimización del protocolo a lo largo del desarrollo experimental. En una primera fase, ocho cepas (A–H) fueron procesadas con el kit E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek), siguiendo estrictamente el protocolo del fabricante **(Omega Bio-tek, 2025)**. Este kit combina una lisis mecánico-química con columnas de unión a sílica de alta capacidad, lo que permite recuperar ADN genómico de

alto peso molecular con una pureza adecuada para tecnologías de secuenciación de siguiente y tercera generación (**Child et al., 2024; Demkina et al., 2023**). En una segunda fase, las cuatro cepas restantes (I–L) fueron procesadas con el kit PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific), incorporado con el propósito específico de mejorar la obtención de moléculas de ADN de mayor longitud, requerimiento fundamental para la generación de lecturas largas en plataformas Oxford Nanopore (**Thermo Fisher Scientific, 2015; Trigodet et al., 2022**).

La calidad y concentración del ADN obtenido fueron evaluadas de manera complementaria mediante dos técnicas analíticas. La espectrofotometría NanoDrop™ permitió estimar la concentración y detectar posibles contaminantes proteicos u orgánicos a través de las relaciones de absorbancia A260/A280 y A260/A230 (**Fu et al., 2022**). Sin embargo, dado que NanoDrop puede sobreestimar la concentración de ADN en presencia de ARN residual u otros ácidos nucleicos, la cuantificación específica de ADN de doble cadena (dsDNA) se realizó complementariamente mediante fluorometría Qubit™ HS dsDNA Assay, método considerablemente más específico y sensible para esta aplicación (**Luan et al., 2024**). Únicamente las muestras que cumplieron con los criterios de calidad establecidos fueron utilizadas para la preparación de librerías de secuenciación.

2.2.1.4 Preparación de librerías, secuenciación y ensamblaje genómico

Las librerías genómicas fueron preparadas utilizando el kit Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24) de Oxford Nanopore Technologies, diseñado específicamente para la secuenciación de ADN genómico de alto peso molecular sin amplificación por PCR (**Oxford Nanopore Technologies, 2024**). La omisión del paso de amplificación es particularmente relevante en plataformas de lectura larga, ya que evita la introducción de sesgos de representación asociados a la amplificación diferencial de regiones con alto contenido GC y permite preservar la longitud nativa de las moléculas de ADN, lo que se

traduce directamente en lecturas más largas y ensamblajes genómicos más continuos y completos **(Zhao et al., 2023)**.

El protocolo de preparación de librerías constó de tres etapas principales. En primer lugar, la reparación y preparación de extremos, en la que el ADN genómico fue tratado con los módulos NEBNext FFPE DNA Repair Mix y NEBNext Ultra II End Repair/dA-Tailing para asegurar extremos romos con adenina terminal, compatibles con la posterior ligación de los adaptadores. En segundo lugar, la ligación de los códigos de barras nativos (Native Barcodes) individuales a cada cepa mediante NEB Blunt/TA Ligase Master Mix, que permite el multiplexado de hasta 24 muestras en una única celda de flujo, optimizando el rendimiento y reduciendo considerablemente el costo por muestra. En tercer lugar, la ligación de los adaptadores de secuenciación (Adapter Mix II, Quick T4 DNA Ligase) y la purificación de los fragmentos ligados mediante perlas magnéticas AMPure XP con los tampones SFB o LFB, según el tamaño de los fragmentos de cada muestra **(Oxford Nanopore Technologies, 2024; Lamas et al., 2023)**.

Las librerías individuales fueron cuantificadas con el Qubit™ dsDNA HS Assay y normalizadas para obtener una carga final de 30–35 fmol. Posteriormente, las muestras con código de barras fueron agrupadas en proporciones equimolares y se preparó la mezcla final de secuenciación con Loading Beads y Sequencing Buffer conforme a las especificaciones del fabricante **(Fu et al., 2022)**.

Las muestras multiplexadas fueron cargadas en celdas de flujo FLO-MIN114 (R10.4.1), empleando la plataforma MinION Mk1B. La secuenciación se llevó a cabo durante aproximadamente 24 horas, generándose archivos en formato .pod5, formato nativo de la plataforma ONT que almacena las señales eléctricas crudas producidas durante la translocación de las moléculas de ADN a través de los nanoporos (Xu et al., 2020). El proceso

de basecalling, es decir, la conversión de las señales eléctricas en secuencias de nucleótidos, así como el demultiplexado de las muestras por código de barras, fueron realizados mediante el software integrado MinKNOW de Oxford Nanopore Technologies, empleando modelos de alta precisión (high-accuracy, HAC), los cuales ofrecen una mayor exactitud en la llamada de bases en comparación con el modelo FAST, a expensas de un mayor tiempo de cómputo **(Luan et al., 2024; MacKenzie & Argyropoulos, 2023)**.

Las lecturas resultantes fueron filtradas según parámetros de calidad y longitud mínima mediante la herramienta Filtlong, conservando exclusivamente aquellas lecturas que cumplían con los umbrales establecidos para garantizar un ensamblaje de calidad. La eliminación de lecturas de baja calidad en esta etapa contribuye a reducir la tasa de error en el ensamblaje final y a mejorar los indicadores de continuidad genómica **(Wick et al., 2023)**.

El ensamblaje *de novo* de los genomas se realizó en un entorno Linux mediante la herramienta Flye v2.9, diseñada y optimizada específicamente para lecturas largas producidas por plataformas de tercera generación como ONT y PacBio **(Lamas et al., 2023)**. El algoritmo de Flye se basa en la construcción de grafos de repetición (repeat graphs), lo que le permite resolver con mayor eficacia regiones genómicas repetitivas que resultan problemáticas para los ensambladores convencionales basados en grafos de De Bruijn, produciendo ensamblajes más continuos con un menor número de contigs **(Chen et al., 2024)**. La calidad de los ensamblajes fue evaluada mediante los parámetros estándar, número de contigs, valor N50, valor L50, longitud total del genoma ensamblado y porcentaje de completitud genómica **(Yavaş et al., 2025)**.

2.2.1.5 Caracterización genómica básica

A partir de los genomas ensamblados se elaboró una tabla resumen con los parámetros generales de calidad y caracterización genómica. Los indicadores registrados incluyeron el tamaño total del genoma, el número de contigs generados, los valores N50 y L50, el porcentaje de contenido GC, el porcentaje de completitud y el tamaño del cromosoma. De igual forma, se cuantificaron las secuencias codificantes (CDS), los ARN de transferencia (tRNA) y ARN ribosomales (rRNA), así como las proteínas hipotéticas y proteínas con función asignada anotadas en cada genoma **(Zhang et al., 2023)**. Estos parámetros son ampliamente aceptados en la comunidad científica como indicadores de la calidad, continuidad e integridad del ensamblaje genómico, y su reporte es una práctica estándar en estudios de secuenciación de genoma completo bacteriano **(Yavaş et al., 2025; Dickey et al., 2024)**.

2.2.2 Caracterización genómica de las cepas de *S. enterica*

2.2.2.1 Análisis bioinformático de factores genómicos

Los genomas ensamblados fueron analizados mediante herramientas bioinformáticas especializadas disponibles en la plataforma Center for Genomic Epidemiology (CGE-DTU), recurso de libre acceso ampliamente utilizado en la caracterización molecular y la vigilancia epidemiológica de patógenos bacterianos de importancia en salud pública **(Karunarathna et al., 2025)**.

La identificación de genes de resistencia antimicrobiana se realizó con la herramienta ResFinder, la cual compara las secuencias genómicas contra bases de datos curadas de genes de resistencia adquiridos y de mutaciones puntuales cromosómicas asociadas a resistencia a diversas familias de antimicrobianos **(Bortolaia et al., 2020)**. ResFinder emplea algoritmos de alineamiento tipo BLAST con umbrales configurables de identidad de secuencia y longitud de cobertura, permitiendo detectar con alta sensibilidad y especificidad genes de resistencia tanto en regiones cromosómicas como en elementos plasmídicos **(Piekarska et**

al., 2023). Esta herramienta ha sido validada y empleada en numerosos estudios de vigilancia epidemiológica de *Salmonella* y otras enterobacterias (**Jin et al., 2024**).

La detección de genes de virulencia se realizó mediante VirulenceFinder, que permite identificar determinantes de virulencia conocidos mediante alineamiento de las secuencias ensambladas contra bases de datos especializadas, facilitando la caracterización del potencial patogénico de las cepas (**Han et al., 2024**). Específicamente para *Salmonella*, esta herramienta permite detectar genes asociados a las islas de patogenicidad (SPI), sistemas de secreción tipo III, adhesinas y otros factores implicados en la invasión y supervivencia intracelular (**Buddhasiri et al., 2023**).

La identificación y tipificación de plásmidos se llevó a cabo mediante PlasmidFinder, que detecta replicones plasmídicos e infiere el grupo de incompatibilidad de los plásmidos presentes en los genomas. Esta caracterización resulta esencial en *Salmonella*, dado que los plásmidos son vectores clave en la transferencia horizontal de genes de resistencia y virulencia entre cepas y entre especies bacterianas (**Algarni et al., 2022; Jeong et al., 2025**).

Adicionalmente, se realizó la tipificación molecular mediante Multilocus Sequence Typing (MLST), metodología que asigna un tipo de secuencia (ST) a cada cepa a partir del perfil alélico de genes housekeeping conservados. Esta tipificación proporciona una nomenclatura estandarizada que facilita la comparación de aislamientos entre laboratorios y la identificación de linajes clonales con relevancia epidemiológica global (**Buddhasiri et al., 2023**). La serotipificación in silico se realizó con SerotypeFinder, que permite inferir el serovar de *Salmonella* a partir de los genes que codifican los antígenos O y H directamente desde la secuencia genómica, representando una alternativa reproducible y más rápida que la serotipificación serológica convencional (**Mileto et al., 2025; Hong et al., 2025**).

Finalmente, se procedió a la identificación de profagos y otros elementos genéticos móviles presentes en los genomas de las cepas estudiadas. Los profagos son elementos de particular interés en *Salmonella* por su papel como reservorios de genes de virulencia y como vías activas de transferencia horizontal entre cepas, contribuyendo a la emergencia de nuevas variantes con perfiles genómicos alterados (She et al., 2025; Quelal-Madrid et al., 2026; Colavecchio et al., 2017).

2.2.2.2 Análisis comparativo y generación de perfiles genómicos

Los resultados obtenidos para cada cepa a partir del análisis bioinformático fueron organizados en tablas descriptivas individuales, en las que se consignaron los perfiles de resistencia antimicrobiana, los genes de virulencia detectados, el contenido plasmídico, el serovar asignado y la tipificación molecular MLST. La estructuración sistemática de esta información facilita la visualización integrada de las características genómicas de cada aislamiento y permite una comparación directa entre cepas (Hyeon et al., 2021).

Posteriormente, se elaboraron perfiles genómicos comparativos entre los aislamientos de *S. enterica* estudiados, con el objetivo de identificar similitudes y diferencias en sus características genómicas e inferir posibles relaciones epidemiológicas entre cepas provenientes de distintos mercados. La identificación de determinantes compartidos de resistencia o virulencia entre aislamientos de diferentes puntos de muestreo puede sugerir la circulación de linajes clonales comunes y aportar información valiosa para la vigilancia sanitaria local (Jin et al., 2024; Dickey et al., 2024).

2.2.3 Análisis de las relaciones filogenéticas entre los genomas obtenidos y cepas de referencia

2.2.3.1 Análisis filogenético comparativo

Las relaciones filogenéticas entre los aislamientos secuenciados y genomas de *S. enterica* disponibles en bases de datos públicas fueron evaluadas mediante análisis comparativos de genoma completo. Con este fin, se seleccionaron genomas de referencia provenientes de EnteroBase, plataforma internacional de referencia para la gestión, tipificación y comparación de genomas de *Salmonella*, *Escherichia* y otros géneros bacterianos, que integra datos genómicos con metadatos epidemiológicos detallados (**Jin et al., 2024**). La selección de los genomas de referencia priorizó aislamientos del mismo serovar, con origen geográfico relacionado y características epidemiológicas comparables a las cepas del estudio, estrategia que mejora la resolución del análisis filogenético y la interpretación epidemiológica de los agrupamientos obtenidos (**Yan et al., 2023**).

El análisis filogenético se realizó basado en polimorfismos de nucleótido único (SNPs) de genoma completo mediante línea de comando, que genera matrices de distancias entre cepas a partir de los SNPs identificados frente a un genoma de referencia, utilizando los parámetros por defecto para *S. enterica* (**Kaas et al., 2014**). El análisis de SNPs de genoma completo es reconocido actualmente como el enfoque de mayor poder discriminatorio para el estudio filogenético y la detección de brotes en bacterias con baja diversidad genética, como *S. enterica*, ya que permite resolver diferencias entre cepas incluso cuando estas comparten el mismo tipo de secuencia MLST (**Leekitcharoenphon et al., 2014; Yang et al., 2026**).

2.2.3.2 Visualización y análisis epidemiológico

Los árboles filogenéticos generados mediante los análisis de SNPs fueron exportados en formato Newick e importados a la plataforma Interactive Tree Of Life (iTOL) versión 6, herramienta de visualización interactiva que permite la representación, edición y anotación de árboles filogenéticos con múltiples capas de información epidemiológica y genómica (**Letunic & Bork, 2024**). A través de iTOL se integraron metadatos asociados a cada aislamiento, incluyendo el mercado de procedencia, el serovar identificado *in silico*, el tipo de secuencia MLST y los perfiles de resistencia antimicrobiana.

La integración de estos metadatos con la estructura filogenética permite una interpretación más completa de los resultados, facilitando la identificación de agrupaciones clonales, la evaluación de la diversidad genética de los aislamientos circulantes en la ciudad de Ambato y su posicionamiento en el contexto filogenético de *S. enterica* a nivel nacional e internacional **(Yan et al., 2023)**. La identificación de agrupaciones estrechas entre cepas provenientes de diferentes mercados podría indicar la circulación de linajes compartidos a lo largo de la cadena de comercialización avícola, con implicaciones directas para la vigilancia epidemiológica y el control sanitario local **(Quelal-Madrid et al., 2026; Karunarathna et al., 2025)**.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

En el presente capítulo se exponen los resultados obtenidos en cada uno de los tres objetivos específicos del estudio, organizados en subsecciones que integran la presentación de datos con su análisis crítico y comparación con la literatura científica. En primer lugar, se describe el proceso de obtención de genomas completos de cepas de *S. enterica* mediante secuenciación Oxford Nanopore, incluyendo la confirmación bioquímica previa, la evaluación de la calidad del ADN extraído y las métricas de ensamblaje obtenidas. A continuación, se presenta la caracterización genómica integral de las 12 cepas, que abarca tipificación MLST, islas de patogenicidad, genes de virulencia, resistencia a antimicrobianos y elementos genéticos móviles. Finalmente, se analizan las relaciones filogenéticas de los aislamientos frente a genomas de referencia globales recuperados de Enterobase, tanto para el serovar Infantis como para el serovar Kentucky, con el fin de contextualizar los linajes locales en el panorama epidemiológico regional y continental.

3.1.1 Obtención de secuencias de genoma completo de cepas de *S. enterica* mediante secuenciación de tercera generación

De las 13 cepas criopreservadas, 12 desarrollaron morfología colonial típica del género *Salmonella* en agar XLD, caracterizada por colonias redondas, convexas y de color rojo con centro negro. Esta pigmentación obedece a la producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S) y a la fermentación de xilosa sin fermentar lactosa ni sacarosa (Andrews et al., 2024; Neyaz et al., 2024). La cepa MvL1C constituyó la excepción, sus colonias presentaron coloración crema y ausencia de precipitado negro, morfología atípica indicativa de otro género de *Enterobacterales* que no produce H_2S o que fermenta lactosa (ElSaeed et al., 2024). Por esta razón, MvL1C fue incluida en las pruebas bioquímicas confirmatorias junto con las 12 cepas típicas.

Las 13 cepas se sometieron a las pruebas bioquímicas diferenciales establecidas por la norma ISO 6579-1:2017, Triple Sugar Iron (TSI), Citrato de Simmons y Ureasa, para confirmar compatibilidad con *Salmonella* (ISO, 2017; Bastin et al., 2019). Las 12 cepas con colonias negras exhibieron el perfil bioquímico esperado, extremo alcalino (K) y fondo ácido (A) en TSI, con producción abundante de H₂S y gas, reflejo de la fermentación exclusiva de glucosa (Addams & Lainhart, 2021). La prueba de citrato fue positiva en todas las cepas típicas, evidenciando la capacidad de utilizar citrato como única fuente de carbono con elevación del pH del medio (Hafezi & Khamar, 2024), y la ureasa resultó negativa en todos los aislamientos, descartando géneros como *Proteus* spp. (Diarra et al., 2024). La cepa MvL1C mostró un perfil incompatible con *Salmonella* (K/K en TSI, sin H₂S, citrato negativo, ureasa negativa), compatible con *Escherichia coli* o *Shigella* spp. (Neyaz et al., 2024), por lo que fue descartada del estudio. Los resultados de las 12 cepas restantes confirmaron su identidad como aislamientos auténticos de *S. enterica*, paso indispensable antes de proceder a la secuenciación genómica. La **Tabla 3** resume la morfología colonial y los resultados bioquímicos de todas las cepas evaluadas.

Tabla 3

Morfología colonial en agar XLD y resultados de pruebas bioquímicas de las cepas reactivadas.

Código	Abreviación	Patrón de crecimiento en medio XLD	Compatibilidad bioquímica con <i>Salmonella</i> spp
SM3LxR1C2	A	Colonias negras	Compatible
SM9L1R2C2	B	Colonias negras	Compatible
IzL3M	C	Colonias negras	Compatible
AtL3C	D	Colonias negras	Compatible

Continúa

Tabla 3

Morfología colonial en agar XLD y resultados de pruebas bioquímicas de las cepas reactivadas.

Código	Abreviación	Patrón de crecimiento en medio XLD	Compatibilidad bioquímica con <i>Salmonella spp</i>
SrL1CR1	E	Colonias negras	Compatible
SM8L3R3C3	F	Colonias negras	Compatible
HgL1C	G	Colonias negras	Compatible
SM10L1R3C6	H	Colonias negras	Compatible
JBL1C	I	Colonias negras	Compatible
PiL1C	J	Colonias negras	Compatible
SM11L1R3C1	K	Colonias negras	Compatible
SM6L3R1C1	L	Colonias negras	Compatible
MvL1C	M	Colonias crema	No compatible

Nota. Los resultados de las pruebas bioquímicas permitieron discriminar las muestras compatibles con *Salmonella spp*.

Las 12 cepas confirmadas como *Salmonella* rindieron ADN genómico con concentraciones y valores de pureza adecuados para secuenciación de lecturas largas. Adicionalmente, la integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa, observándose una banda de alto peso molecular con fragmentación mínima en la mayoría de las muestras (**Anexo 2**), lo que confirma la idoneidad del material para la secuenciación con Oxford Nanopore (ONT) (**Trigodet et al., 2022**). Cabe destacar que las cepas I, J, K y L, procesadas con el kit PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit (Invitrogen), produjeron ensamblajes más completos y con menor número de contigs que las ocho cepas restantes (A–H), procesadas con el kit E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Biotek). Esta diferencia puede atribuirse al protocolo de limpieza adicional incluido en PureLink, que elimina inhibidores con mayor eficiencia y preserva la integridad del ADN de alto peso

molecular (**Thermo Fisher Scientific, 2015**), condición crítica para la obtención de lecturas largas. Estudios recientes señalan que los métodos de extracción, las condiciones de lisis y los procesos de purificación influyen significativamente en la fragmentación del ADN, y que la presencia de una banda definida en el gel no siempre garantiza lecturas largas efectivas (**Child et al., 2024; Trigodet et al., 2022; Demkina et al., 2023**). Estos antecedentes explican las diferencias en calidad de ensamblaje observadas entre los dos protocolos empleados. Se recomienda considerar el kit PureLink para futuros trabajos donde se requiera ADN de máxima integridad.

La completitud de los genomas, evaluada frente a la base de datos de Enterobacterales mediante herramientas bioinformáticas encontradas dentro de Galaxy, osciló entre 95,52 % y 100 %. La serotipificación *in silico* identificó dos serovares, 11 cepas correspondientes a *S. Infantis* y una cepa a *S. Kentucky*. El tamaño genómico varió entre 4,97 Mbp y 5,09 Mbp, rango concordante con lo descrito para *S. Infantis* ecuatorianos (**Mejía et al., 2020**), y el contenido de GC fue muy estable, entre 52,05 % y 52,19 %, valor característico de *S. enterica* (**Billah & Rahman, 2024**). El número de contigs osciló entre 2 y 18; ocho cepas presentaron $L_{50} = 1$ y N_{50} superior a 3 Mbp, indicativo de una reconstrucción prácticamente completa del cromosoma en un único contig continuo, resultado coherente con la capacidad de las lecturas largas de Nanopore para resolver regiones repetitivas (**Wick et al., 2023**). Las cuatro cepas con mayor fragmentación exhibieron N_{50} de entre 1,1 y 1,3 Mbp, diferencia atribuible a regiones repetitivas extensas o a menor profundidad de cobertura (**Chen et al., 2024**). No obstante, todos los genomas superaron el umbral del 95 % de completitud considerado estándar para estudios genómicos de alta calidad en *Salmonella* (**Wick et al., 2023**). La **Tabla 4** reúne las métricas genómicas completas.

Tabla 4

Características genómicas básicas de las 12 cepas de S. enterica secuenciadas en este estudio.

Código de cepa	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Género	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>
Especie	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>
Subespecie	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>	<i>enterica</i>
Serovar	Infantis	Infantis	Infantis	Kentucky	Infantis	Infantis	Infantis	Infantis	Infantis	Infantis	Infantis	Infantis
Tamaño del genoma (bp)	5.013.118	5.023.848	5.085.275	4.838.832	5.050.168	5.047.150	5.055.738	5.020.682	5.019.441	5.060.176	5.039.966	4.965.797
Contigs	7	4	10	8	12	5	4	18	3	5	2	2
Porcentaje C+G (%)	52,12	52,10	52,17	52,05	52,09	52,09	52,07	52,08	52,14	52,08	52,15	52,19
Contig N₅₀ (bp)	3.100.052	3.106.136	1.275.333	1.142.397	1.164.357	3.106.811	4.718.390	1.163.882	4.704.552	4.685.960	4.721.126	4.687.350
Contigs L₅₀ (bp)	1	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1
CDS	6515	6490	6885	5786	7350	6588	6465	6519	5088	5132	5088	4967

Continúa

Código de cepa	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
tRNA	86	86	86	87	86	87	86	84	86	85	86	86
rRNA	22	22	22	21	23	22	22	22	22	22	22	22
Proteínas hipotéticas	768	802	892	712	881	805	820	791	691	707	684	645
Proteínas funcionales	5747	5688	5993	5071	6469	5783	5645	5728	4397	4425	4404	4322
% de completitud	96,76	96,69	95,59	97,77	95,52	95,89	95,97	96,97	100	99,85	99,71	100

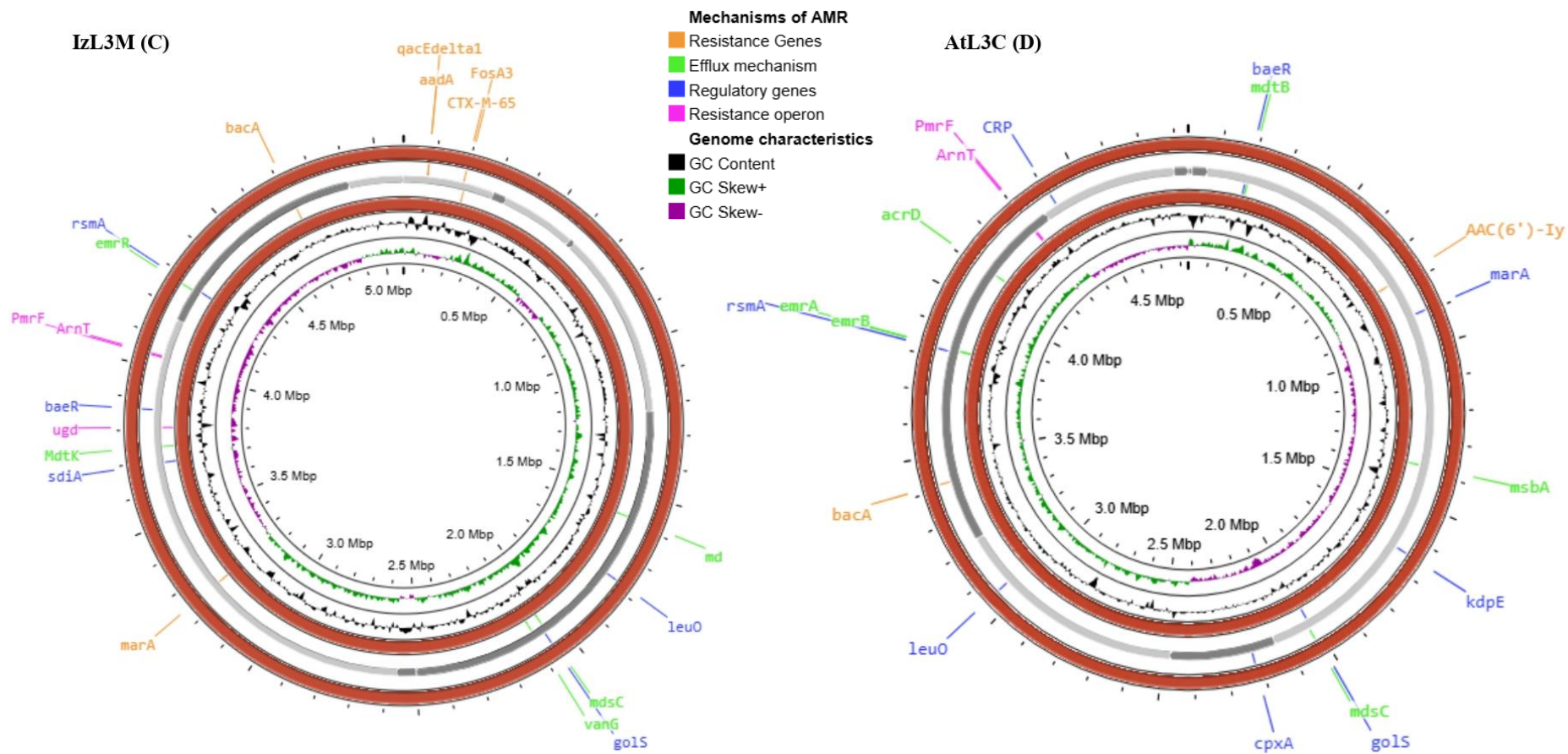
Nota. N₅₀: longitud del contig tal que el 50% del ensamblaje está contenido en contigs de ese tamaño o mayor. L₅₀: número mínimo de contigs para alcanzar el 50% del tamaño total del ensamblaje. CDS: secuencias codificantes. El porcentaje de completitud se calculó frente a la base de datos de Enterobacterales (BUSCO). Las cepas I, J, K y L fueron extraídas con el kit PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit; las cepas A–H, con el kit E.Z.N.A.® Soil DNA Kit.

La secuenciación Oxford Nanopore permitió obtener ensamblajes de alta calidad para las 12 cepas de *S. enterica* aisladas de pollo comercializado en Ambato. La predominancia de *S. Infantis* coincide con los hallazgos de **Mejía et al. (2020)**, quienes reportaron este serovar como dominante en la cadena avícola ecuatoriana (41,4 % en granjas y 55,5 % en carcasas de pollo), y con los de **Salazar-Llorente et al. (2021)**, quienes confirmaron su alta frecuencia en mercados de Quito y Ambato. Esta prevalencia resulta preocupante dado que *S. Infantis* se asocia al plásmido pESI, que porta genes de resistencia múltiple y factores de persistencia ambiental (**Jeong et al., 2025**). Por su parte, la cepa de *S. Kentucky* detectada no es infrecuente en aves de corral ecuatorianas (**Calero-Cáceres et al., 2020**) y representa un riesgo adicional por su vinculación a brotes de salmonelosis resistente a fluoroquinolonas (**Liao et al., 2024**). El descarte de MvL1C subraya la importancia del filtro bioquímico confirmatorio, aunque el agar XLD ofrece identificación presuntiva eficaz, su especificidad no es absoluta (**Neyaz et al., 2024**), y el perfil K/K en TSI sin H₂S de esta cepa es incompatible con *Salmonella*, ratificando la necesidad de confirmar cualquier aislado antes de la secuenciación.

Con la finalidad de visualizar la organización genómica de los aislamientos ensamblados, se generaron mapas circulares representativos mediante Proksee (**Figura 1**). Estos mapas permiten observar la distribución de regiones codificantes y el contenido GC de los genomas bacterianos. La Figura 1 presenta mapas representativos de un aislamiento de *S. enterica* serovar *Infantis* (cepa C) y uno de *S. enterica* serovar *Kentucky* (cepa D), mientras que el resto de los mapas se presenta en los Anexos.

Figura 1

Mapas circulares representativos de los genomas ensamblados de *S. Infantis* (C) y *S. Kentucky* (D).



3.1.2 Caracterización genómica de las cepas de *S. enterica*

La caracterización genómica de las cepas de *S. enterica* permitió identificar diferencias y similitudes en tipificación molecular, islas de patogenicidad, genes de virulencia, resistencia antimicrobiana y elementos genéticos móviles. El análisis de tipificación por secuencias multilocus reveló la presencia de tres secuencias tipo (ST) entre los 12 genomas estudiados, ST-7963, ST-32, ambos pertenecientes al complejo clonal pandémico de *S. Infantis*, y ST-152 perteneciente a *S. Kentucky*. La **Tabla 5** resume los resultados de MLST, islas de patogenicidad y profagos.

Tabla 5

*Tipificación MLST, islas de patogenicidad y profagos de las 12 cepas de *S. enterica*.*

Código de cepa	Tipificación MLST	SPI (Islas de patogenicidad)	Profagos detectados
A	7963	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Stx2_c_1717_NC_011357(9) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(12) PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(2)
B	7963	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Shigel_PO CJ13_NC_025434(2) PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(2) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Phage_Gifsy_2_NC_010393(4) PHAGE_Stx2_c_1717_NC_011357(9)
C	7963	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI5, SPI9	PHAGE_Stx2_c_1717_NC_011357(9) PHAGE_Shigel_PO CJ13_NC_025434(2) PHAGE_Salmon_Chi_NC_021315(45) PHAGE_Phage_Gifsy_2_NC_010393(3) PHAGE_Enterob_BP_4795_NC_004813(9) PHAGE_Escher_P2_NC_041848(27)

Continúa

Tabla 5

Tipificación MLST, islas de patogenicidad y profagos de las 12 cepas de S. enterica.

Código de cepa	Tipificación MLST	SPI (Islas de patogenicidad)	Profagos detectados
D	152	C63PI, SPI1, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI8, SPI9	PHAGE_Escher_Lys12581Vzw_NC_049917(12)
E	7963	CS54_island, SPI1, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Escher_503458_NC_049341(2) PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(2) PHAGE_Stx2_c_1717_NC_011357(10) PHAGE_Salmon_Fels_1_NC_010391(4) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(29)
F	32	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(2) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Stx2_c_1717_NC_011357(11) PHAGE_Phage_Gifsy_1_NC_010392(4)
G	7963	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Phage_Gifsy_2_NC_010393(4) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(31) PHAGE_Salmon_vB_SosS_Oslo_NC_018279(10) PHAGE_Shigel_Stx_NC_029120(2) PHAGE_Sulfol_SMV1_NC_023585(1)
H	7963	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Entero_BP_4795_NC_004813(8) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(29) PHAGE_Escher_500465_1_NC_049342(2) PHAGE_Salmon_Fels_1_NC_010391(3)
I	32	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Burkho_phiE255_NC_009237(16) PHAGE_Salmon_BTP1_NC_042346(18) PHAGE_Salmon_vB_SosS_Oslo_NC_018279(11) PHAGE_Shigel_Stx_NC_029120(1)

Continúa

Tabla 5

Tipificación MLST, islas de patogenicidad y profagos de las 12 cepas de S. enterica.

Código de cepa	Tipificación MLST	SPI (Islas de patogenicidad)	Profagos detectados
J	32	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Salmon_vB_SemP_Emek_NC_018275 (10) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(26) PHAGE_Burkho_BcepMu_NC_005882(16) PHAGE_Mycoba_Squirty_NC_026588(1)
K	32	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Burkho_phiE255_NC_009237(16) PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Enterobacter_BP_4795_NC_004813(10) PHAGE_Salmon_epsilon34_NC_011976(8) PHAGE_Mycoba_Redi_NC_023730(1)
L	32	CS54_island, SPI1, SPI12, SPI13, SPI14, SPI2, SPI3, SPI4, SPI5, SPI9	PHAGE_Escher_pro483_NC_028943(27) PHAGE_Burkho_phiE255_NC_009237(16) PHAGE_Salmon_vB_SosS_Oslo_NC_018279(1) PHAGE_Mycoba_Redi_NC_023730(1)

Nota. ST: secuencia tipo según esquema MLST de Enterobase. SPI: isla de patogenicidad de *Salmonella* identificada con la herramienta SPIFinder (DTU CGE). Los números entre paréntesis en la columna de profagos indican el número de genes del fago detectados por PHASTER. Los plásmidos fueron identificados con PlasmidFinder (DTU CGE).

Las nueve cepas de *S. Infantis* compartieron un núcleo de SPIs prácticamente idéntico, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9, SPI-12, SPI-13, SPI-14 y la isla CS54_island. La cepa C presentó la única variación dentro de este grupo, con ausencia de SPI-4, lo que coincide con estudios que describen pérdidas puntuales de esta isla en algunas variantes de *S. Infantis* sin aparente pérdida de capacidad invasiva (Fookes et al., 2011). La

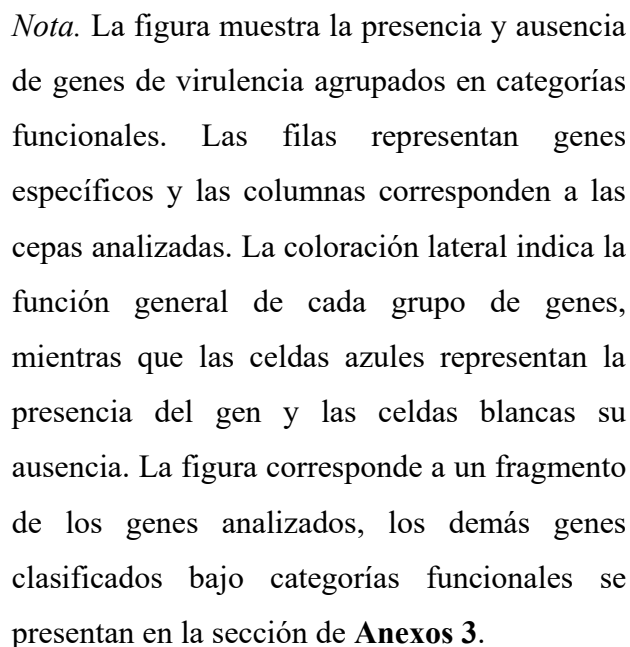
cepa D mostró un perfil de SPIs diferente, reflejando la divergencia genómica característica entre serovares (**Alikhan et al., 2022**).

Las islas de patogenicidad de *Salmonella* desempeñan un papel evolutivo fundamental en la adaptación patogénica del género, ya que contienen genes esenciales para la interacción hospedador-patógeno y la supervivencia bacteriana en ambientes desfavorables (**Sia et al., 2025**). Específicamente, SPI-1 y SPI-2 codifican los sistemas de secreción tipo III implicados en la invasión celular y la supervivencia intracelular, SPI-4 y SPI-9 participan en la adhesión y colonización mediante la secreción de efectores bacterianos, y SPI-13, SPI-14 y CS54_island se asocian con la persistencia, adaptación al hospedador y resistencia a condiciones de estrés (**Sia et al., 2025**). La conservación de estas islas en las cepas analizadas indica la presencia de mecanismos de virulencia funcionales y adaptativos relevantes para la colonización y persistencia de *S. enterica* en ambientes asociados con la producción avícola.

Además de las islas de patogenicidad, los profagos constituyen un componente esencial de la plasticidad genómica de *Salmonella*, al actuar como vehículos de genes asociados a virulencia, adaptación y supervivencia bacteriana (**Colavecchio et al., 2017**). El profago más frecuente en las cepas de *S. Infantis* fue *PHAGE_Escher_pro483*, detectado en todos los genomas de este serovar con 26–31 genes por cepa. Los profagos de la familia Gifsy también fueron recurrentes, *Gifsy-2* apareció en las cepas B, C y G, y *Gifsy-1* únicamente en F. Estos fagos son de especial relevancia porque *Gifsy-2* porta el efector *gogB* y *Gifsy-1* porta *gipA*, ambos implicados en la supervivencia intracelular y en la colonización del intestino delgado (**She et al., 2025**). Los profagos *Stx2_c_1717*, detectados en las cepas A, B, E, F y H, merecen atención adicional, aunque *Salmonella* raramente expresa toxinas Shiga funcionales, la presencia de profagos Stx en genomas de *Salmonella* aislada de alimentos ha sido documentada y su potencial de movilización a otras bacterias en el tracto intestinal representa un riesgo teórico que debe vigilarse (**Rodríguez-Rubio et al., 2021**). Las variaciones en el contenido profágico entre cepas del mismo serovar y ST sugieren procesos continuos de adquisición, pérdida y recombinación, consistentes con el rol de los profagos como principales componentes de diversificación genómica en *Salmonella* (**Andrews et al., 2024; Yates et al., 2024**).

El análisis del contenido de genes de virulencia mediante el mapa de calor (Figura 2) evidenció un perfil altamente conservado entre las 12 cepas. La gran mayoría de los genes asociados a SPI-1, SPI-2, adhesión fimbrial, estructura del lipopolisacárido (LPS), regulación global y replicación del ADN estuvieron presentes en la totalidad o gran mayoría de los genomas, lo que es consistente con el carácter de patógeno entérico establecido de *S. enterica* (Cheng et al., 2023). Resultó particularmente llamativa la ausencia de los genes *rfbI* y *stkA* en las 11 cepas de *S. Infantis*, ambos estuvieron presentes únicamente en la cepa D (*S. Kentucky*). El gen *rfbI* participa en la biosíntesis del antígeno O del LPS, determinando variaciones en la composición del antígeno O que influyen en el reconocimiento inmune del hospedero (Marolda et al., 2006), mientras que *stkA* codifica una proteína de membrana externa implicada en la resistencia a compuestos antimicrobianos catiónicos y en la modulación de la superficie bacteriana (Worley, 2025). La presencia exclusiva de ambos genes en la cepa D refleja la divergencia evolutiva entre *S. Kentucky* y *S. Infantis*, serovares con composiciones de LPS y perfiles de superficie distintos, más que una pérdida funcional, dado que *S. Infantis* posee rutas alternativas propias de su serovar para la síntesis del antígeno O (Alikhan et al., 2022). Las variaciones en genes de superficie bacteriana pueden influir en la interacción con el sistema inmune del hospedador y en los procesos de adaptación a diferentes nichos ecológicos, lo que subraya la necesidad de interpretar los perfiles de virulencia siempre en el contexto del serovar y linaje genómico correspondiente (Kelly et al., 2024).

Mapa de calor de genes de virulencia de las 12 cepas de S. enterica.



El análisis conjunto de los genes de virulencia reveló una elevada conservación de factores asociados a invasión, adhesión y supervivencia intracelular, evidenciando la persistencia de mecanismos patogénicos funcionales en los aislamientos estudiados. Además de estos factores, las cepas presentaron múltiples genes relacionados con la resistencia a antimicrobianos, indicando la coexistencia entre adaptación patogénica y supervivencia frente a antibióticos. En total, se identificaron 15 genes de resistencia distribuidos de manera heterogénea entre las 12 cepas (**Figura 3**).

Todas las cepas portaron los genes *aac(6')-Iaa*, resistencia intrínseca de bajo nivel a aminoglucósidos, *aadA1*, resistencia a estreptomicina y espectinomicina, y *sul1*, resistencia a sulfonamidas, sugiriendo la circulación de un núcleo genético de resistencia conservado. La coocurrencia de *aadA1* y *sul1* es consistente con su frecuente colocalización en integrones de clase 1, estructuras móviles que facilitan la diseminación horizontal de genes de resistencia en *Enterobacterales* (**Gillings, 2014**). La conservación de estos genes en todos los aislamientos sugiere la circulación de linajes bacterianos adaptados a ambientes con presión antimicrobiana constante, particularmente en sistemas de producción avícola, donde los integrones de clase 1 resultan especialmente relevantes por su capacidad de captar y transferir genes de resistencia (**Montoro-Dasi et al., 2023**).

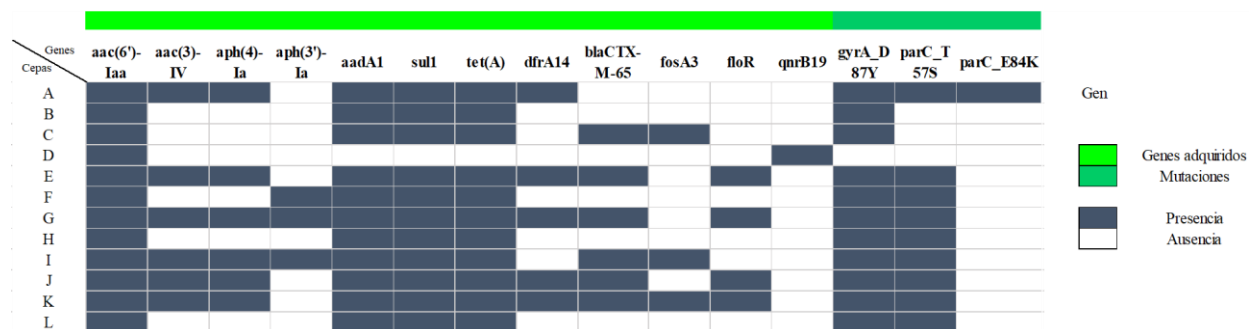
El gen *bla*_{CTX-M-65} fue detectado en siete de las 12 cepas. Este gen codifica una β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) capaz de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, y ha sido descrito como el alelo más frecuente en cepas de *S. Infantis* portadoras del plásmido pESI en múltiples países (**Projahn et al., 2018; Dorado-García et al., 2023**). Por su parte, las mutaciones cromosómicas *gyrA* D87Y y *parC* E84K/T57S, identificadas en prácticamente todas las cepas de *S. Infantis*, constituyen el mecanismo principal de resistencia de alto nivel a quinolonas en *Salmonella*, y representan una preocupación clínica importante por su carácter irreversible a través de transferencia horizontal (**Piekarska et al., 2023**). La sustitución *gyrA* D87Y estuvo presente en 11 de las 12 cepas (ausente únicamente

en D), mientras que *parC* E84K fue la variante predominante en las cepas de *S. Infantis* y *parC* T57S se detectó solo en las cepas D e I.

La cepa D (*S. Kentucky*, ST-152) presentó un perfil de resistencia diferenciado, con ausencia de *bla*_{CTX-M-65} pero con presencia de *fosA3* resistencia a fosfomicina, *qnrB19* protección plasmídica de ADN girasa frente a fluoroquinolonas, y las mutaciones puntuales *gyrA* D87Y y *parC* T57S que, en conjunto, confieren resistencia de alto nivel a ciprofloxacina (Liao et al., 2024). El gen *floR* resistencia a fenicoles, estuvo presente en las cepas A, E, F, G y H. La coexistencia de resistencias a β -lactámicos de espectro extendido, aminoglucósidos, sulfonamidas y fluoroquinolonas configura un fenotipo de multirresistencia que compromete el tratamiento de infecciones humanas con las principales familias de antibióticos de uso clínico, alineándose con el patrón caracterizado por Dorado-García et al. (2023) en cepas europeas de *S. Infantis* portadoras de pESI.

Figura 3

Perfil de genes de resistencia a antibióticos de las 12 cepas de *S. enterica*.



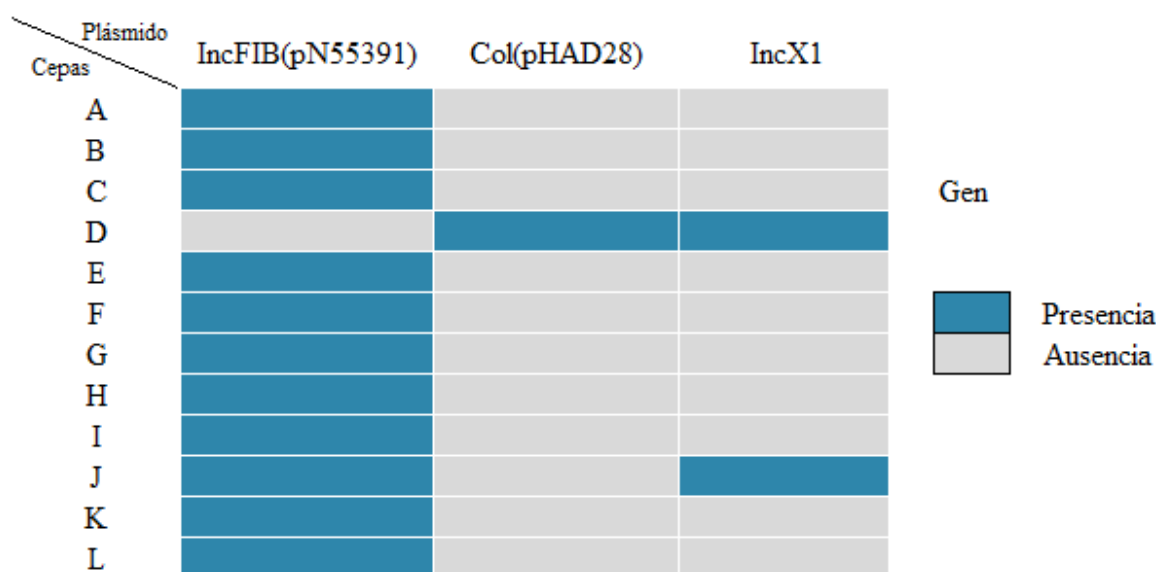
Nota. Genes identificados mediante ResFinder (DTU CGE). *aac(6')-Iaa*, *aac(3)-IV*, *aph(4)-Ia*, *aph(3')-Ia*, *aadA1*: aminoglucósidos; *sul1*: sulfonamidas; *tet(A)*: tetraciclinas; *dfrA14*: trimetoprim; *bla*_{CTX-M-65}: β -lactámicos (BLEE); *fosA3*: fosfomicina; *floR*: fenicoles; *qnrB19*: quinolonas; *gyrA* D87Y, *parC* T57S, *parC* E84K: quinolonas (mutación cromosómica).

El análisis de replicones plasmídicos evidenció la presencia de hasta tres tipos entre las cepas estudiadas (**Figura 4**). El replicón IncFIB(pN55391), característico del plásmido pESI-like ampliamente descrito en cepas europeas y latinoamericanas de *S. Infantis* como vehículo de *bla*_{CTX-M-65}, *aadA1*, *sul1* y *tet(A)*, entre otros (**Projahn et al., 2018; Dorado-García et al., 2023**), estuvo presente en 11 de las 12 cepas. Su detección mayoritaria refuerza la hipótesis de circulación de linajes de *S. Infantis* portadores de pESI en la cadena avícola ecuatoriana, aspecto de notable preocupación epidemiológica dado que la resistencia puede transferirse horizontalmente a otras bacterias de la microbiota intestinal en un solo evento de conjugación (**Projahn et al., 2018**).

La cepa D presentó un perfil plasmídico completamente diferente, Col(pHAD28) e IncX1, sin IncFIB. El plásmido IncX1 se ha asociado a la diseminación de *qnrB19* en *S. Kentucky* de origen avícola (**Sah & Feglo, 2022; Guerra et al., 2010**), lo cual es consistente con el perfil de resistencia detectado. La cepa J resultó positiva para IncX1 además de IncFIB, configuración que podría facilitar la co-transferencia de genes de resistencia a quinolonas junto con los portados en el plásmido pESI. La coexistencia de diferentes replicones en algunas cepas amplía el potencial de diseminación de resistencia antimicrobiana dentro de la producción avícola (**Montoro-Dasi et al., 2023; Gillings, 2014**).

Figura 4

Mapa de replicones plasmídicos de las 12 cepas de *S. enterica* identificados mediante PlasmidFinder (DTU CGE).



Nota. Replicones identificados mediante PlasmidFinder (DTU CGE). IncFIB(pN55391): replicón asociado al plásmido pESI-like en *S. Infantis*. Col(pHAD28): plásmido de tipo colicina. IncX1: incompatibility group X1, frecuentemente portador de genes de resistencia a quinolonas.

En conjunto, los datos de MLST, SPIs, genes de virulencia, resistencia a antimicrobianos, plásmidos y profagos delinean un panorama epidemiológico preocupante, dominado por linajes multirresistentes y genómicamente complejos con capacidad potencial de persistencia y diseminación en la cadena alimentaria. El complejo clonal ST-32/ST-7963 de *S. Infantis* es uno de los linajes de mayor expansión global desde la década de 2000, impulsado por la adquisición del plásmido pESI (**Projahn et al., 2018; Nógrády et al., 2022**). Su predominancia en los mercados de Ambato era esperable a la luz de los datos de **Mejía et al. (2020)**, quienes identificaron ST-32 como genotipo dominante en granjas y carcasas ecuatorianas, sin embargo, la presencia simultánea de ST-7963, variante con una o dos mutaciones diferenciadas en el esquema MLST de Enterobase, sugiere diversificación activa dentro del clado local, aspecto no documentado con esta resolución en estudios previos

en Ecuador. La cepa D representa un linaje de riesgo adicional e independiente, su perfil, sin pESI pero con IncX1, *qnrB19*, *fosA3* y mutaciones en *gyrA/parC*, encuadra con el clon *S. Kentucky* ST-152 de diseminación internacional, vinculado a brotes de salmonelosis resistente a ciprofloxacina en humanos (Calero-Cáceres et al., 2020; Liao et al., 2024). Aunque representa solo una de las 12 cepas, su presencia evidencia que la diversidad de linajes resistentes en los mercados locales es mayor de lo que estudios anteriores habían sugerido. La limitación principal de este objetivo es la ausencia de datos de susceptibilidad fenotípica por concentración mínima inhibitoria (CMI), que permitirían correlacionar el genotipo de resistencia con el fenotipo observado, aspecto prioritario en futuros estudios.

3.1.3 Análisis de las relaciones filogenéticas entre los genomas obtenidos y secuencias de referencia de *S. enterica*

Para el análisis filogenético de *S. Infantis* se construyó un árbol con 456 cepas de referencia obtenidas desde Enterobase. El árbol general (Figura 5) evidencia que los aislamientos del presente estudio no se distribuyen de forma aleatoria a lo largo de la filogenia, sino que se agrupan en clados específicos junto con cepas de referencia provenientes principalmente de fuentes avícolas. Esta distribución es consistente con la naturaleza de las muestras analizadas y con investigaciones previas realizadas en Ecuador, donde *S. Infantis* ha sido descrito como el serovar predominante en pollos de engorde, carcasas y productos cárnicos (Mejía et al., 2020; Vinueza-Burgos et al., 2016). El anillo externo del árbol muestra que la fuente avícola es absolutamente dominante entre todos los aislamientos incluidos, con presencia minoritaria de fuentes ambientales, humanas y de fauna silvestre.

El clado conformado por las cepas A, B, C, E, F, G y H (Figura 5B) constituye el grupo filogenético más compacto y homogéneo identificado en el presente estudio. Las ramas cortas de este clado sugieren un ancestro común reciente o una fuente de contaminación compartida dentro de la cadena de comercialización local. Las cepas de este grupo presentan

también cercanía genética con aislamientos de referencia de las provincias de Pichincha y Tungurahua recolectados en 2022, lo que reafirma que este linaje forma parte de una población bacteriana que ya circulaba en la región sierra del Ecuador con anterioridad al período de muestreo. Aunque no es posible afirmar que todas las cepas provengan de una misma granja o empresa avícola, la proximidad filogenética sí permite inferir la existencia de una fuente compartida dentro de la cadena de producción (**Mejía et al., 2020**). Este hallazgo es consistente con lo reportado por **Salazar-Llorente et al. (2021)**, quienes identificaron una prevalencia de *S. enterica* del 38,1 % en carne fresca de pollo comercializada en Quito y Ambato, reforzando la relevancia del pollo como vehículo de diseminación de este serovar.

La cepa K se ubica en un clado separado del grupo principal dentro del mismo árbol (**Figura 5B**), agrupándose con cepas de referencia de la provincia de Pichincha obtenidas en los años 2016 y 2018. Esta separación indica que en los mercados estudiados no circula un único linaje de *S. Infantis*, sino que coexisten sublinajes genómicos diferenciados, el dominante del año 2022 (cepas A–H) y uno adicional representado por la cepa K, con mayor cercanía a aislamientos de años previos, lo que sugiere una introducción independiente o la persistencia de un linaje anterior. Las diferencias entre ambos sublinajes pueden estar asociadas a mutaciones acumuladas, eventos de recombinación o variaciones en elementos genéticos móviles que contribuyen a la diversificación de los serovares (**Leekitcharoenphon et al., 2014; Aguirre-Sánchez et al., 2024**).

La cepa J muestra un patrón filogenético particular que la distingue claramente del clado principal (**Figura 5C**). Esta cepa se ubica dentro de un clado que integra aislamientos de fuente avícola y de fauna silvestre recolectados entre 2013 y 2022, con presencia de cepas de Pichincha y de origen desconocido. La amplitud temporal de este agrupamiento, casi una década, podría indicar la persistencia prolongada de ciertos linajes de *S. Infantis* en el ambiente avícola, o su reintroducción recurrente a través de diferentes rutas de transmisión, incluyendo potencialmente la fauna silvestre como reservorio (**Achtman et al., 2020**). La

permanencia de estos linajes durante varios años evidencia la elevada capacidad de adaptación de *S. Infantis* y su circulación sostenida en la cadena alimentaria.

La cepa I (**Figura 5C**) se encontró agrupada con aislamientos recolectados entre 2014 y 2022 provenientes de las provincias de Pichincha y Azuay, con predominancia de fuente avícola, pero con la presencia notable de un aislamiento de origen ambiental. Este agrupamiento reafirma la diversidad de sublinajes existentes dentro del mismo serovar y demuestra que las cepas identificadas en los mercados de Ambato no derivan necesariamente del mismo evento de contaminación ni del mismo nicho fuente. La presencia de un aislamiento de origen ambiental en este clado es un dato relevante, pues sugiere que ciertos linajes de *S. Infantis* podrían persistir no solo en animales o productos cárnicos, sino también en superficies de procesamiento y equipos, ampliando las posibles rutas de contaminación en los mercados de venta minorista (**Kanaan, 2023**).

La cepa L ocupa una posición filogenética notoriamente alejada de todos los demás aislamientos (**Figura 5A**), siendo la rama de mayor longitud y con mayor distancia respecto al grupo central, lo que la convierte en el aislamiento con mayor divergencia genómica del conjunto analizado. A diferencia de los demás clados, cuya relación con aislamientos avícolas ecuatorianos es directa, la cepa L no comparte un ancestro reciente inmediato con ninguno de los grupos restantes. Esta divergencia podría deberse a una acumulación diferencial de mutaciones, a la pertenencia a una población bacteriana con menor representación en sistemas avícolas regionales, o a una ruta de introducción distinta (**Achtman et al., 2020; Alikhan et al., 2022**). Su presencia en los mercados de Ambato demuestra que el entorno de venta al por menor puede albergar simultáneamente linajes de *Salmonella* con orígenes evolutivos muy distintos, lo que dificulta la trazabilidad epidemiológica y subraya la complejidad del problema desde una perspectiva de vigilancia.

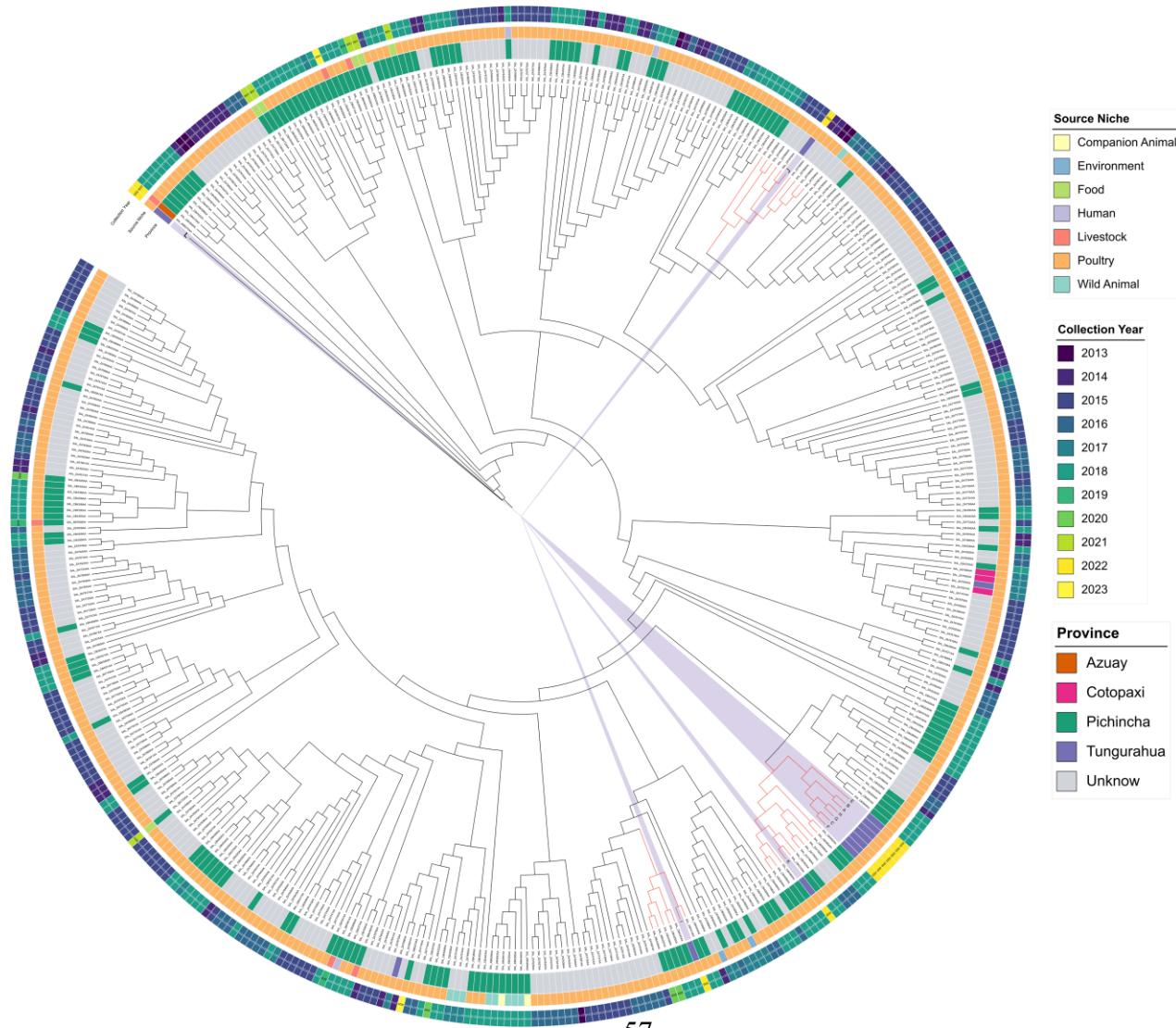
Las diferencias filogenéticas observadas entre los distintos clados no reflejan únicamente procesos de mutación acumulada, sino también la influencia activa de

mecanismos de transferencia génica horizontal. El megaplásmido pESI representa uno de los elementos más relevantes, portando genes de resistencia a múltiples antimicrobianos y factores de virulencia que confieren ventajas adaptativas bajo presión selectiva (Mejía et al., 2020). De manera complementaria, los profagos desempeñan un papel fundamental en la modelación del genoma accesorio de *S. Infantis*, Andrews et al. (2024) demostraron que este serovar presenta una carga profágica alta con genes de virulencia directamente vinculados a su patogenicidad. Yates et al. (2024), en un análisis de más de 300 genomas de *Salmonella* spp., identificaron en el cargo profágico secuencias codificantes relacionadas con la modificación de estructuras de superficie celular, modulación de respuestas del hospedero, resistencia a metales pesados y antimicrobianos, y metabolismo de carbohidratos y aminoácidos, lo que amplía el rol de los profagos hacia una contribución directa a la adaptabilidad bacteriana. A escala local, Quelal-Madrid et al. (2026) realizaron la primera caracterización sistemática de la diversidad profágica en *S. enterica* de Ecuador, identificando un profago altamente prevalente con proteínas cargo de potencial funcional en virulencia, subrayando el rol de los profagos como contribuyentes dinámicos a la adaptación de los linajes avícolas.

Figura 5

Árbol filogenético circular de cepas de S.enterica serovar Infantis y su relación con aislamientos de origen ecuatoriano.

A.

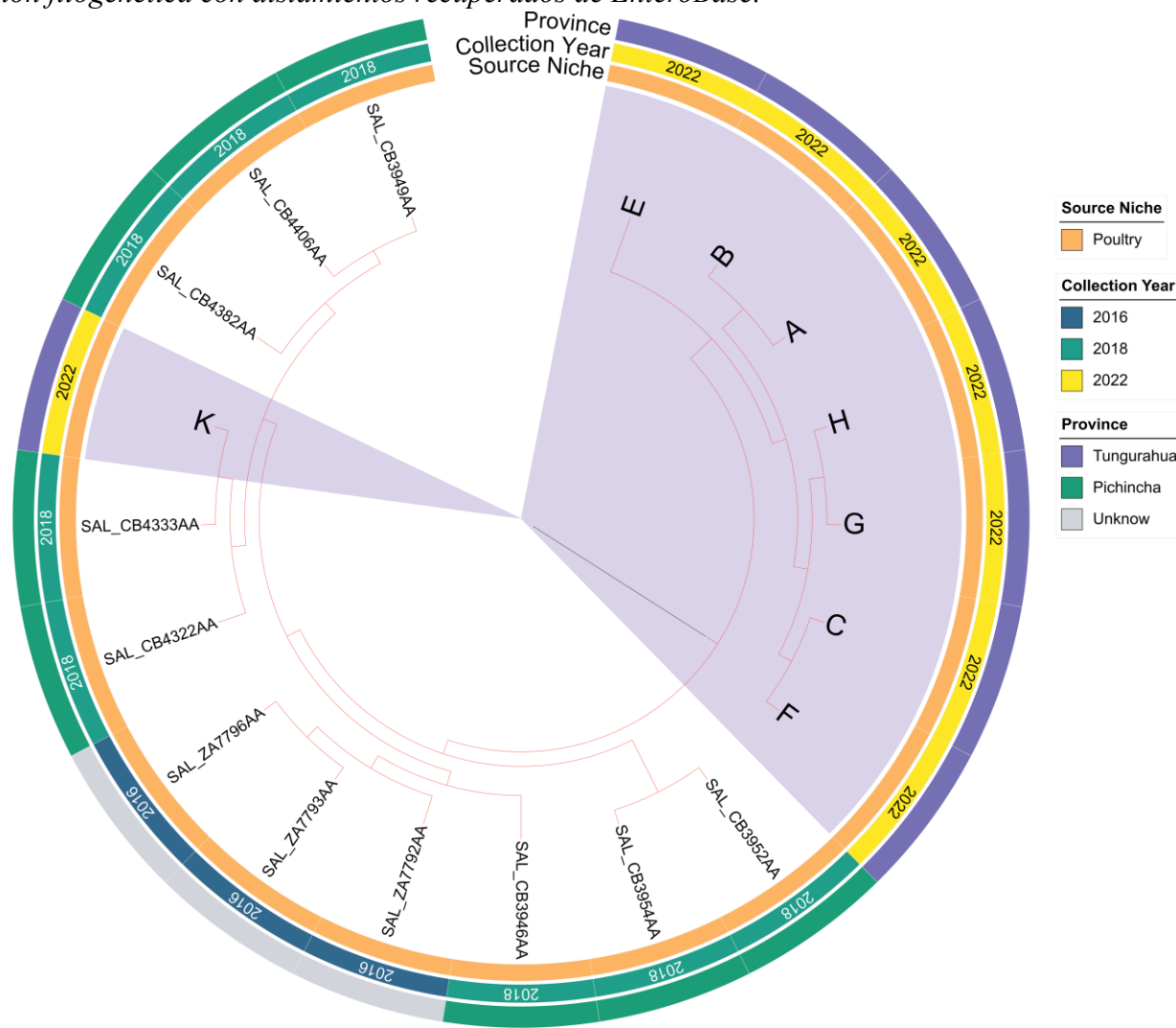


Continúa

Figura 5

Ampliación del clado principal de S. enterica serovar Infantis que incluye las cepas A, B, C, E, F, G, H y K aisladas en mercados de Ambato y su relación filogenética con aislamientos recuperados de EnteroBase.

B.

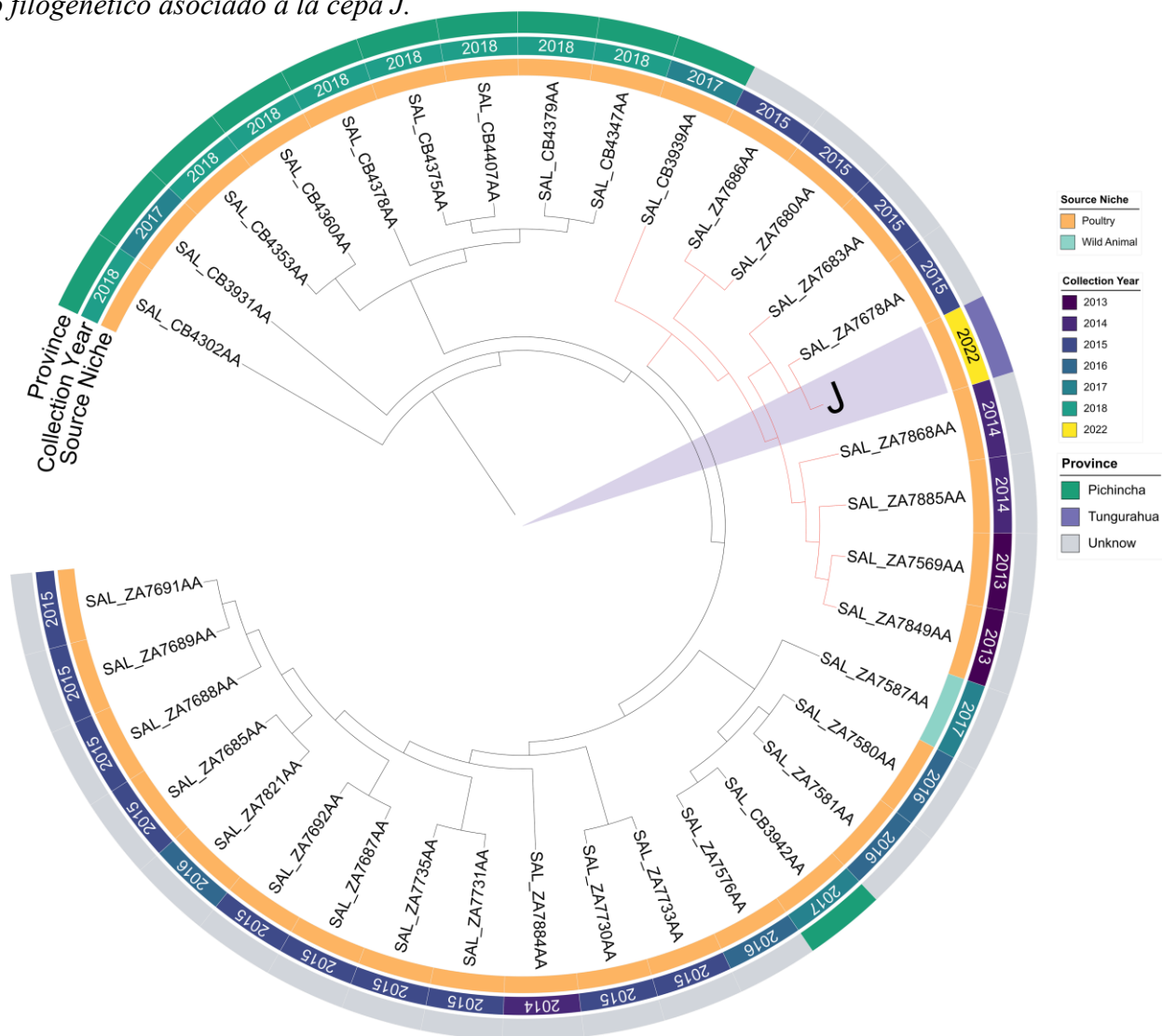


Continúa

Figura 5

Detalle del clado filogenético asociado a la cepa J.

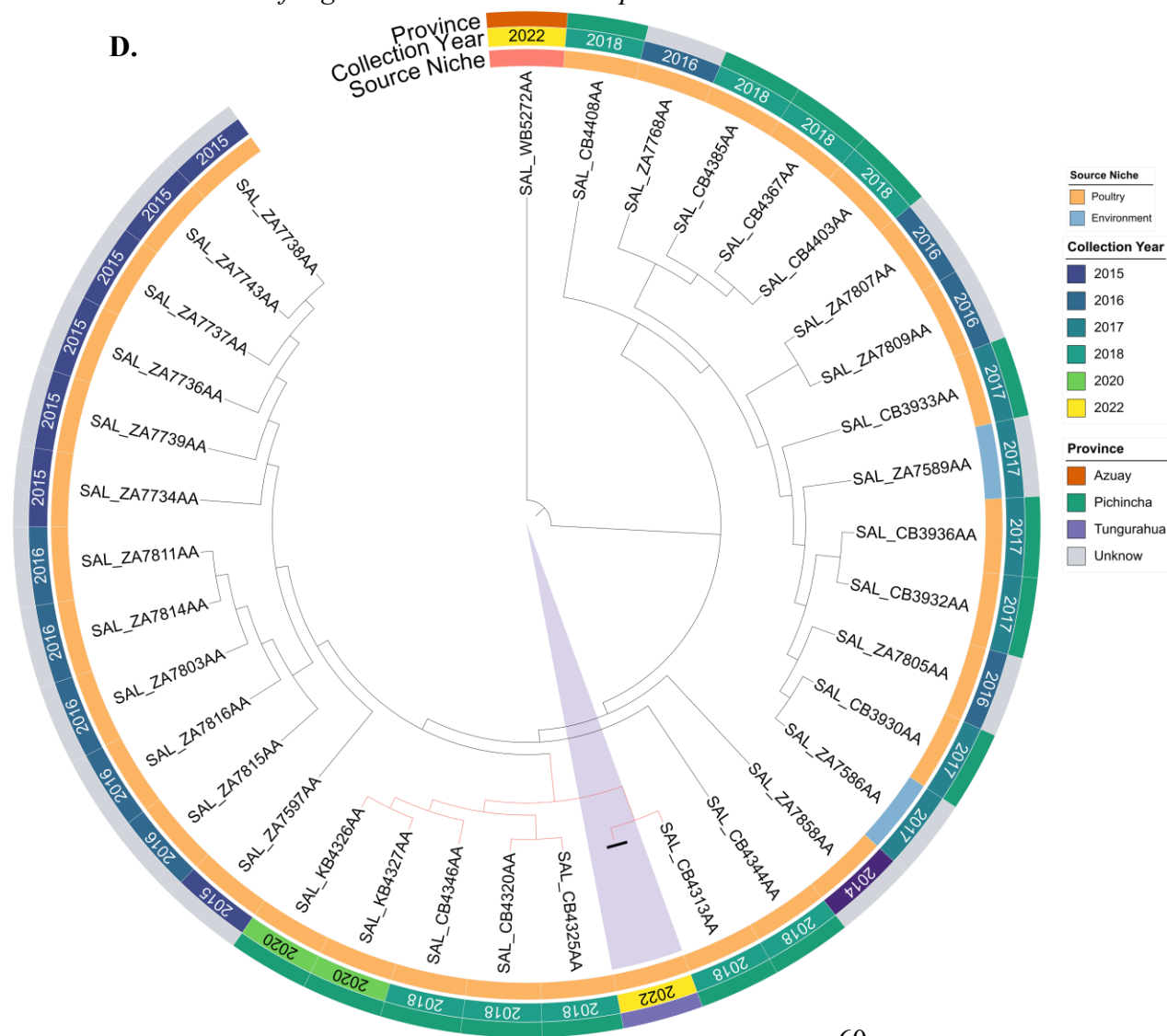
C.



Continúa

Figura 5

Detalle del clado filogenético asociado a la cepa I.



Nota. **A.** El árbol filogenético fue construido utilizando genomas de *S. enterica* serovar Infantis obtenidos en el presente estudio y genomas relacionados recuperados de EnteroBase. Los aislamientos analizados encuentran resaltados dentro de los clados de interés de color lila. Los anillos externos muestran información epidemiológica asociada a cada aislamiento: nicho de origen (*Source niche*), año de recolección (*Collection year*) y provincia de procedencia (*Province*). **B.** Presenta el clado principal de las cepas analizadas y su relación con el nicho más cercano. **C.** y **D.** Se muestran ampliaciones de clados específicos para facilitar la visualización de las relaciones filogenéticas entre los aislamientos del presente estudio y los genomas relacionados recuperados de la base de datos.

Para el análisis filogenético de *S. Kentucky* se descargaron 393 genomas desde Enterobase, seleccionados a partir de criterios de calidad del ensamblaje y restringidos a cepas recolectadas en los últimos diez años. El árbol construido (Figura 6A) muestra la estructura poblacional global del conjunto analizado, con la cepa D ubicada dentro de un nodo particular diferenciado del resto de la diversidad filogenética representada. La ampliación de dicho nodo (Figura 6B) generó un clúster de 23 cepas que resultó especialmente informativo desde el punto de vista epidemiológico.

Veinte de las 23 cepas del clúster provienen de fuentes avícolas (*Gallus gallus*) aisladas en mataderos, granjas comerciales y productos de pollo para consumo minorista, coherente con el perfil ecológico descrito para *S. Kentucky*, cuyo reservorio principal en América es la cadena avícola comercial (Haley et al., 2016; Richards et al., 2023). Las cepas del clúster se distribuyen geográficamente entre múltiples estados de los Estados Unidos y una cepa de British Columbia (Canadá), y fueron recolectadas entre 2017 y 2025, con la mayor concentración en el período 2022–2024. Que un mismo clado reúna cepas norteamericanas recientes junto con la cepa de Ambato indica que el linaje al que pertenece la cepa D no es un hallazgo aislado en Ecuador, sino parte de un clon con circulación activa en el continente durante al menos ocho años (Tate et al., 2022). Este tipo de persistencia prolongada ha sido documentada previamente para *S. Kentucky* en Norteamérica, donde determinados clones se han mantenido como genotipos dominantes en la cadena avícola durante más de una década (Haley et al., 2016; Soltys et al., 2021).

Un hallazgo de particular relevancia es la presencia en el mismo clúster de dos cepas ecuatorianas históricas (SAL_ZA7594AA y SAL_ZA7595AA), correspondientes a los aislamientos de *S. Kentucky* reportados por Calero-Cáceres et al. (2020), provenientes de granjas de ponedoras de los cantones Cevallos y Pelileo, provincia de Tungurahua, recolectadas en 2017. La agrupación de estas cepas con la cepa D en un mismo clado filogenético, separadas por cinco años, constituye evidencia de la persistencia regional de un linaje de *S. Kentucky* en la cadena avícola de la región central del Ecuador. Esta persistencia podría atribuirse a circulación endémica en granjas locales, reintroducción iterativa a través

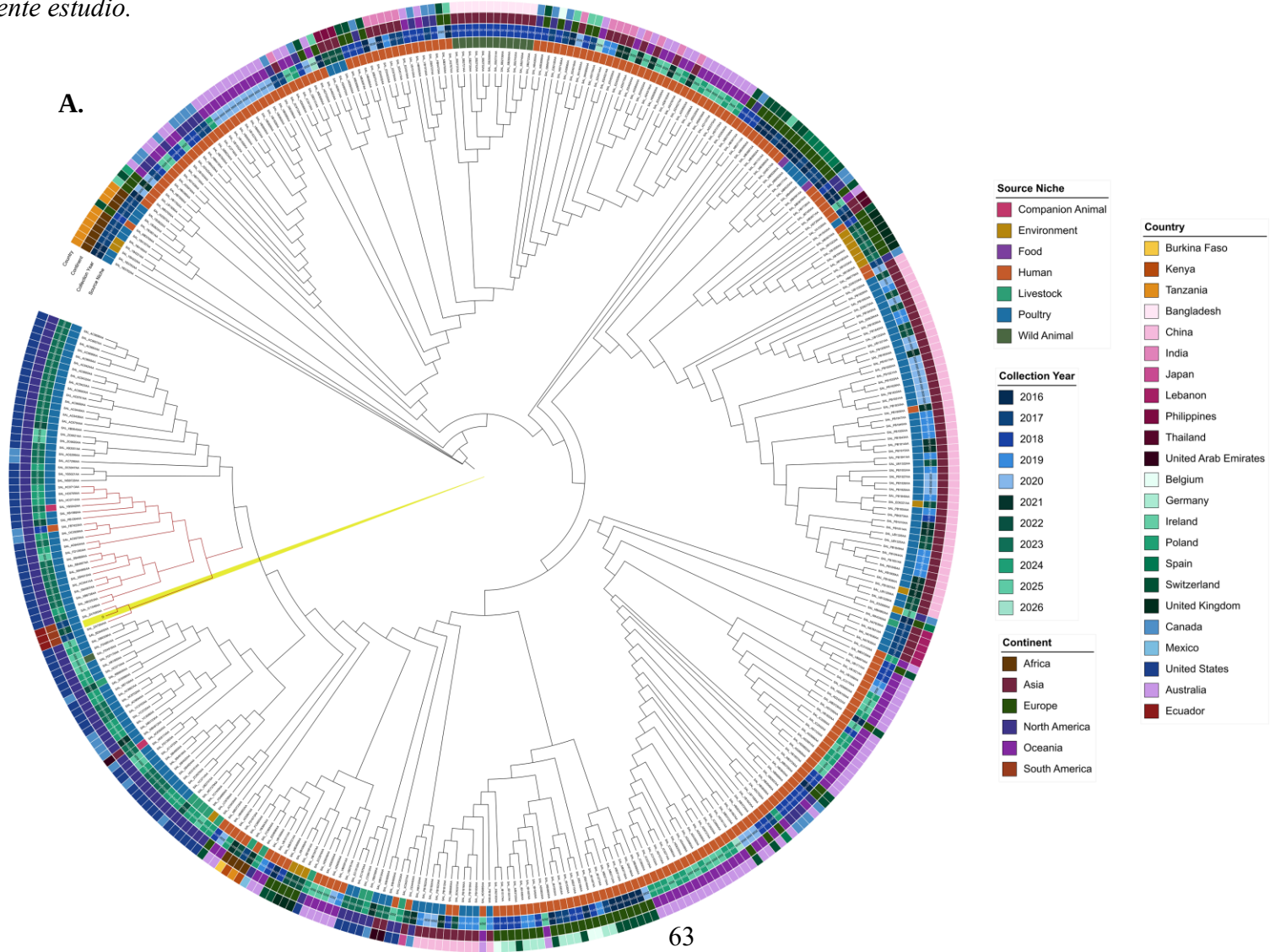
de redes de suministro de pollitos de un día o reproductoras, o a una combinación de ambas vías **(Haley et al., 2016)**. Distinguir entre estas hipótesis requeriría datos de rastreo de cadenas de suministro que representan una línea de investigación directamente derivada de los resultados obtenidos.

Adicionalmente, el clúster incluye una cepa aislada de heces de perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) y una cepa de origen humano, ambas dentro del mismo agrupamiento filogenético que la cepa D. La presencia de estas cepas no avícolas amplía el espectro epidemiológico del linaje e ilustra la capacidad de *S. Kentucky* para circular entre distintos hospedadores, encuadrándose en el enfoque One Health para la comprensión de los patógenos zoonóticos **(Soltys et al., 2021)**. En el contexto ecuatoriano, donde los sistemas de vigilancia integrada son aún limitados, la identificación de un linaje compartido entre pollo de mercado, animales de compañía y humanos refuerza la necesidad de ampliar las capacidades de vigilancia genómica bajo ese marco conceptual.

En conjunto, los resultados filogenéticos confirman que el pollo comercializado en los mercados de la ciudad de Ambato constituye un vehículo activo de diseminación de *S. enterica* serovar Infantis en la región sierra del Ecuador, con la particularidad de que en un mismo entorno de venta coexisten simultáneamente múltiples sublinajes genómicos con diferentes orígenes, historias evolutivas y potenciales de virulencia. La formación de clados relacionados con aislamientos de distintas provincias (Pichincha, Tungurahua y Azuay) sugiere que la circulación de estos linajes responde a dinámicas regionales de producción y distribución avícola, en las que la movilización de aves, productos cárnicos, equipos y personal puede facilitar la diseminación de linajes genéticamente relacionados entre diferentes zonas geográficas **(Mejía et al., 2020; Vinueza-Burgos et al., 2016)**. La identificación de linajes con persistencia temporal de varios años, de sublinajes divergentes y de un aislamiento de alta divergencia genómica como la cepa L refuerza la importancia de implementar programas de vigilancia epidemiológica basados en caracterización genómica para comprender la dinámica real de circulación de este patógeno en el contexto avícola ecuatoriano.

Figura 6

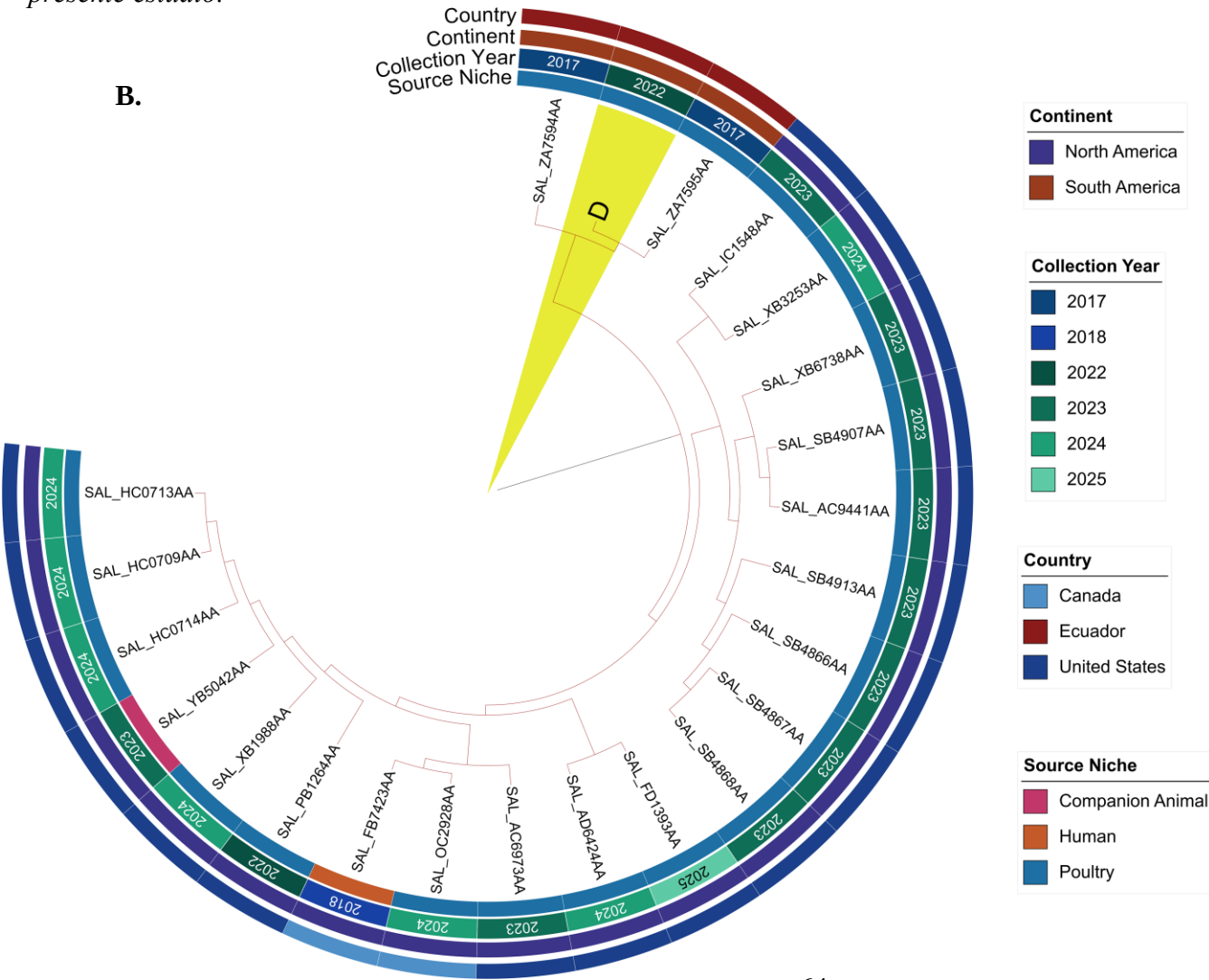
Árbol filogenético de 393 cepas de S. enterica serovar Kentucky descargadas de Enterobase, incluyendo la cepa AtL3C (cepa D) del presente estudio.



Continúa

Figura 6

Árbol filogenético de 393 cepas de *S. enterica* serovar *Kentucky* descargadas de Enterobase, incluyendo la cepa AtL3C (cepa D) del presente estudio.



Nota. **A.** Los anillos exteriores representan, de adentro hacia afuera, fuente de aislamiento (Source Niche), año de recolección (Collection Year), continente (Continent) y país (Country) de origen, según la leyenda, el árbol fue generado y visualizado mediante la plataforma ItoIV6. **B.** Se presenta la ampliación del nodo filogenético identificado que contiene a la cepa D, resaltada en amarillo. El clúster agrupa 23 cepas en total, los anillos exteriores indican, de adentro hacia afuera fuente de aislamiento, año de recolección, continente y país. El clúster incluye además una cepa de origen humano y una cepa aislada de perro doméstico.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se logró obtener secuencias de genoma completo de 12 cepas de *S. enterica* aisladas de carcasas y menudencias de pollo comercializado en los mercados de la ciudad de Ambato, mediante la plataforma de secuenciación de tercera generación Oxford Nanopore MinION Mk1B. Antes de la secuenciación, se confirmó la identidad bacteriana de las 12 cepas a través de pruebas bioquímicas convencionales TSI, citrato y ureasa, descartando una cepa con perfil incompatible. Los genomas ensamblados presentaron métricas de alta calidad, con valores de completitud que oscilaron entre 95,52% y 100%, y ocho de los doce genomas con $L_{50} = 1$, lo que indica la reconstrucción prácticamente completa del cromosoma en un único contig continuo. Estos resultados confirman que la tecnología Nanopore, gracias a la capacidad de sus lecturas largas para resolver regiones repetitivas, es una herramienta viable y efectiva para la obtención de genomas bacterianos completos en el contexto de estudios epidemiológicos de *S. enterica* en Ecuador.
- La caracterización genómica de las 12 cepas reveló una notable complejidad en sus perfiles de resistencia antimicrobiana, virulencia y elementos genéticos móviles. La serotipificación *in silico* identificó dos serovares: 11 cepas correspondientes a *S. Infantis* y una cepa a *S. Kentucky*. La tipificación MLST determinó la presencia de tres secuencias tipo: ST-7963 y ST-32 en las cepas de *S. Infantis*, ambos pertenecientes al complejo clonal pandémico, y ST-152 en la cepa de *S. Kentucky*. Las islas de patogenicidad identificadas especialmente SPI-1 y SPI-2 se encontraron conservadas en prácticamente todas las cepas, lo que indica la presencia de mecanismos de invasión y supervivencia intracelular funcionales. En cuanto a la resistencia antimicrobiana, se identificaron 15 genes distribuidos heterogéneamente, destacando la presencia de *bla*_{CTX-M-65} en siete cepas, gen asociado al megaplásmido pESI y responsable de la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, además de mutaciones cromosómicas en *gyrA* y *parC* que comprometen la eficacia de las fluoroquinolonas. El replicón IncFIB(pN55391), característico del plásmido pESI-like, estuvo presente en 11 de las 12 cepas, evidenciando la circulación

de linajes multirresistentes en los mercados locales. Finalmente, el análisis de profagos mostró una carga considerable de elementos lisogénicos, con presencia ubicua del *PHAGE_Escher_pro483* y profagos de la familia Gifsy, los cuales portan genes con potencial de virulencia activa. En conjunto, estos hallazgos evidencian que el pollo comercializado en Ambato alberga cepas de *S. enterica* con perfiles genómicos de alta complejidad que representan un riesgo significativo para la salud pública, tanto por su capacidad patogénica como por su potencial de diseminación de resistencia antimicrobiana a través de la cadena alimentaria.

- El análisis filogenético comparativo demostró que las cepas de *S. Infantis* aisladas en los mercados de Ambato no se distribuyen de forma aleatoria en el árbol filogenético, sino que se integran en clados específicos estrechamente relacionados con aislamientos de fuente avícola reportados previamente en las provincias de Pichincha y Tungurahua. El clado principal, conformado por las cepas A, B, C, E, F, G y H, mostró una alta cohesión interna con ramas cortas y fue el grupo predominante, lo que sugiere la circulación activa de un único linaje dominante en los mercados durante el período de muestreo. Junto a este clado mayoritario, se identificaron sublinajes divergentes representados por las cepas K, J, I y L, cuyas posiciones filogenéticas reflejan diferentes historias evolutivas, incluyendo posibles eventos de introducción independiente, persistencia temporal prolongada de hasta una década, e incluso la mayor divergencia genómica observada en todo el conjunto. Por su parte, la cepa D de *S. Kentucky* se agrupó con aislamientos avícolas de América del Norte recolectados entre 2017 y 2025, lo que evidencia la pertenencia de esta cepa a un linaje clonal con circulación continental activa, cuya presencia en la región central del Ecuador ya había sido registrada desde 2017 por estudios previos. La coexistencia de múltiples sublinajes con diferentes orígenes y potenciales de virulencia en un mismo entorno de comercialización minorista subraya la necesidad urgente de implementar programas de vigilancia epidemiológica genómica en la cadena avícola ecuatoriana.

4.2. Recomendaciones

- Se recomienda complementar el análisis genómico realizado en este estudio con pruebas de susceptibilidad antimicrobiana fenotípica mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), siguiendo los criterios establecidos por el EUCAST o el CLSI. Esta correlación entre genotipo y fenotipo permitiría validar la expresión real de los genes de resistencia identificados particularmente *bla*_{CTX-M-65} y las mutaciones en *gyrA/parC* y establecer categorías clínicas de resistencia aplicables directamente a la toma de decisiones en salud pública. Adicionalmente, se sugiere ampliar el muestreo a otros eslabones de la cadena alimentaria, incluyendo granjas de engorde, camales y puntos de distribución mayorista, con el fin de trazar las rutas de introducción y circulación de los linajes identificados desde la producción primaria hasta el consumidor final.
- Considerando que el 91,6 % de las cepas de *S. Infantis* analizadas portaron el replicón IncFIB(pN55391) asociado al megaplásmido pESI-like, se recomienda profundizar en la caracterización de este elemento mediante enfoques híbridos que combinen lectura larga (Nanopore) con lectura corta (Illumina), lo cual permitiría obtener secuencias completas y circulares del plásmido y determinar con mayor precisión el repertorio de genes de resistencia y virulencia que porta. La secuenciación completa del pESI-like en cepas ecuatorianas aportaría información clave para entender si su estructura es idéntica o divergente respecto a las variantes europeas y latinoamericanas ya descritas, lo que tiene implicaciones directas para evaluar el riesgo de transferencia horizontal de multirresistencia a otras bacterias de la microbiota intestinal humana y animal.
- A partir de los resultados filogenéticos obtenidos, se recomienda la implementación de un sistema de vigilancia genómica continua de *Salmonella* en los mercados de venta al por menor de la ciudad de Ambato y otras ciudades de la sierra ecuatoriana,

con periodicidad mínima anual y bajo un enfoque One Health que integre muestras de origen avícola, ambiental y clínico humano. Este tipo de vigilancia permitiría monitorear la aparición de nuevos linajes resistentes, rastrear la dinámica de circulación de clones como el ST-32/ST-7963 de *S. Infantis* y el ST-152 de *S. Kentucky*, y detectar de forma temprana la introducción de variantes de mayor riesgo epidemiológico. Se sugiere también la incorporación de estos datos en plataformas de acceso público como EnteroBase o PulseNet Latinoamérica, con el fin de contribuir a la vigilancia regional y facilitar la comparación de linajes entre países.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias bibliográficas

- Abueg, L. A. L., Afgan, E., Allart, O., Awan, A. H., Bacon, W. A., Baker, D., ... Zoabi, R. (2024). The Galaxy platform for accessible, reproducible, and collaborative data analyses: 2024 update. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W83-W94. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae410>
- Achtman, M., Zhou, Z., Alikhan, N.-F., Tyne, W., Parkhill, J., Cormican, M., Chiou, C.-S., Torpdahl, M., Litrup, E., Prendergast, D. M., Moore, J. E., Strain, S., Kornschöber, C., Meinersmann, R., Uesbeck, A., Weill, F.-X., Coffey, A., Andrews-Polymenis, H., Curtiss Rd, R., & Fanning, S. (2020). Genomic diversity of *Salmonella enterica* -The UoWUCC 10K genomes project. *Wellcome Open Research*, 5, 223. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.16291.2>
- Addams, J., & Lainhart, W. (2021). The Brief Case: *Salmonella enterica* Serovar Typhi in a Central American Refugee. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(5). <https://doi.org/10.1128/JCM.01359-20>
- Adhikari, Y., Bailey, M. A., Kitchens, S., Gaonkar, P., Munoz, L. R., Price, S. B., Bourassa, D. V., Huber, L., Buhr, R. J., & Macklin, K. S. (2025). Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis of *Salmonella* isolated from pullets through final raw product in the processing plant of a conventional broiler complex: A longitudinal study. *Microbiology Spectrum*, 13(2), e02090-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02090-24>
- Afgan, E., Baker, D., Batut, B., van den Beek, M., Bouvier, D., Čech, M., ... Blankenberg, D. (2018). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W537-W544. <https://doi.org/10.1093/nar/gky379>

- Aguirre-Sánchez, J. R., Chaidez, C., & Castro-del Campo, N. (2024). The pangenome analysis of the environmental source *Salmonella enterica* highlights a diverse accessory genome and a distinct serotype clustering. *FEMS Microbiology Letters*, 371, fnae090. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnae090>
- Aljuwayd, M., Malli, I. A., Olson, E. G., Ricke, S. C., Rothrock, M. J., & Kwon, Y. M. (2025). Disinfectants and one health review: The role of reactive oxygen species in the bactericidal activity of chlorine against *Salmonella*. *One Health*, 20, 100989. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2025.100989>
- Álvarez-Espejo, D. M., Fredes-García, D., Díaz-Gavidia, C., Gutiérrez, S., Barron-Montenegro, R., Álvarez, F. P., Constenla-Albornoz, R., Cadet-Arenas, V., Reyes-Jara, A., Olivares-Pacheco, J., Burnett, E., Bell, R. L., Toro, M., Meng, J., García, P., & Moreno-Switt, A. I. (2026). Tracking Antimicrobial Resistance in *Salmonella* via Poultry Supply Chains, Human Clinical Samples, and Environmental Reservoirs. *Foods*, 15(3), 410. <https://doi.org/10.3390/foods15030410>
- Amarasinghe, S. L., Su, S., Dong, X., Zappia, L., Ritchie, M. E., & Gouil, Q. (2020). Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biology*, 21, 30. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-1935-5>
- Andrews, W. H., Wang, H., Jacobson, A., Ge, B., Zhang, G., & Hammack, T. (2024). BAM Chapter 5: *Salmonella*. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/media/172194/download>
- Anik, T. A., Islam, F., Uzzaman, R., Begum, S. A., Akhter, H., & Begum, A. (2025). Whole-genome sequencing and genomic characterization of a novel multi-drug resistant *esxA*-positive *Staphylococcus haemolyticus* DUEML1 (ST-184) isolated from a respiratory infection case: Insights from panresistome analysis. *BMC Microbiology*, 25(1), 677. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04406-5>
- Antunes, P., Mourão, J., Campos, J., & Peixe, L. (2016). Salmonellosis: The role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(2), 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>

- Baker, J. L. (2022). Using Nanopore Sequencing to Obtain Complete Bacterial Genomes from Saliva Samples. *mSystems*, 7(5), e0049122. <https://doi.org/10.1128/msystems.00491-22>
- Bastin, B., Bird, P., Benzinger, M. J., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., Sohler, D., Timke, M., Shi, G., & Kostrzewa, M. (2019). Confirmation and Identification of *Salmonella* spp., *Cronobacter* spp., and Other Gram-Negative Organisms by the Bruker MALDI Biotyper Method: Collaborative Study Method Extension to Include *Campylobacter* Species, Revised First Action 2017.09. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1595-1616. <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1595>
- Benevides, V. P., Saraiva, M. M. S., Nascimento, C. F., Delgado-Suárez, E. J., Oliveira, C. J. B., Silva, S. R., Miranda, V. F. O., Christensen, H., Olsen, J. E., & Berchieri Junior, A. (2024). Genomic Features and Phylogenetic Analysis of Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Mbandaka ST413 Strains. *Microorganisms*, 12(2), 312. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020312>
- Bestari, N. M., Witaningrum, A. M., Rahadrjo, D., Hendrawan, V. F., Widjiati, W., Luqman, E. M., & Tyasningsih, W. (2025). Detection *Salmonella* sp. From swab clooca of broiler chicken at Keputran market, Surabaya Indonesia. *Open Access Research Journal of Biology and Pharmacy*, 13(1), 021-029. <https://doi.org/10.53022/oarjbp.2025.13.1.0016>
- Betiku, E., Ogundipe, T. T., Kalapala, T., & Obe, T. (2025). A Mini-Review on Multi-Hurdle Control of *Salmonella* Along Poultry Production Continuum. *Animals*, 15(6), 875. <https://doi.org/10.3390/ani15060875>
- Billah, M. M., & Rahman, M. S. (2024). *Salmonella* in the environment: A review on ecology, antimicrobial resistance, seafood contaminations, and human health implications. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 13, 100407. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100407>
- Biyashev, B., Zhusanbayeva, A., Kirkimbayeva, Z., Zholdasbekova, A., & Sarybayeva, D. (2025). Surveillance of *Salmonella* and antimicrobial resistance in industrial poultry

- enterprises: Biofilm-forming strains and critical control points. *Journal of Medical Microbiology*, 74(3), 001993. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001993>
- Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., Philippon, A., Allesoe, R. L., Rebelo, A. R., Florensa, A. F., Fagelhauer, L., Chakraborty, T., Neumann, B., Werner, G., Bender, J. K., Stingl, K., Nguyen, M., Coppens, J., Xavier, B. B., & Malhotra-Kumar, S. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491–3500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>
- Brasileiro, A. C. M., Sá, C. V. G. C. de, Rodrigues, C. S., Oliveira, A., Nicolino, R., & Haddad, J. P. A. (2025). Risk Factors and Prevalence of *Salmonella* spp. In Poultry Carcasses in Slaughterhouses Under Official Veterinary Inspection Service in Brazil. *Animals*, 15(16), 2377. <https://doi.org/10.3390/ani15162377>
- Brlek, P., Bulić, L., Bračić, M., Projić, P., Škaro, V., Shah, N., Shah, P., & Primorac, D. (2024). Implementing Whole Genome Sequencing (WGS) in Clinical Practice: Advantages, Challenges, and Future Perspectives. *Cells*, 13(6), 504. <https://doi.org/10.3390/cells13060504>
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J., Fernández, C. R., & Pérez, M. S. (2004). Brock biología de los microorganismos. Pearson Educación.
- Brussow, H., Canchaya, C., & Hardt, W.-D. (2004). Phages and the evolution of bacterial pathogens: From genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(3), 560–602. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.560-602.2004>
- Buddhasiri, S., Sukjoi, C., Tantibhadrasapa, A., Mongkolkarvin, P., Boonpan, P., Pattanadecha, T., Onton, N., Laisiroengrai, T., Coratat, S., Khantawa, B., Tapaamorndech, S., Duangsonk, K., & Thiennimitr, P. (2023). Clinical Characteristics, Antimicrobial Resistance, Virulence Genes and Multi-Locus Sequence Typing of Non-Typhoidal *Salmonella* Serovar Typhimurium and Enteritidis Strains Isolated from Patients in Chiang Mai, Thailand. *Microorganisms*, 11(10), 2425. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102425>

- Calero-Cáceres, W., Villacís, J., Ishida, M., Burnett, E., & Vinueza-Burgos, C. (2020). Whole-Genome Sequencing of *Salmonella enterica* Serovar Infantis and Kentucky Isolates Obtained from Layer Poultry Farms in Ecuador. *Microbiology Resource Announcements*, 9(13). <https://doi.org/10.1128/MRA.00091-20>
- Calero-Cáceres, W., Villacís, J., Ishida, M., Burnett, E., & Vinueza-Burgos, C. (2020). Whole-Genome Sequencing of *Salmonella enterica* Serovar Infantis and Kentucky Isolates Obtained from Layer Poultry Farms in Ecuador. *Microbiology Resource Announcements*, 9(13). <https://doi.org/10.1128/MRA.00091-20>
- Chattaway, M. A., Painset, A., Godbole, G., Gharbia, S., & Jenkins, C. (2023). Evaluation of Genomic Typing Methods in the *Salmonella* Reference Laboratory in Public Health, England, 2012-2020. *Pathogens*, 12(2), 223. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020223>
- Chen, R., Yang, L., Pajor, M. S., Wiedmann, M., & Orsi, R. H. (2024). *Salmonella* associated with agricultural animals exhibit diverse evolutionary rates and show evidence of recent clonal expansion. *mBio*, 15(10), e01913-24. <https://doi.org/10.1128/mbio.01913-24>
- Chen, Z., Grim, C. J., Ramachandran, P., & Meng, J. (2024). Advancing metagenome-assembled genome-based pathogen identification: unraveling the power of long-read assembly algorithms in Oxford Nanopore sequencing. *Microbiology Spectrum*, 12(6). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00117-24>
- Cheng, R. A., Eade, C. R., & Wiedmann, M. (2023). 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*, 14, 1173585. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01368>
- Child, H. T., Wierzbicki, L., Joslin, G. R., & Tennant, R. K. (2024). Comparative evaluation of soil DNA extraction kits for long read metagenomic sequencing. *Access Microbiology*, 6(9), 000868.v3. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000868.v3>

- Cipriani, G., Helmersen, K., Mazzon, R. R., Wagner, G., Aamot, H. V., & Ferreira, F. A. (2025). Evaluation of whole-genome sequencing protocols for detection of antimicrobial resistance, virulence factors and mobile genetic elements in antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 74(3), 001990. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001990>
- Colavecchio, A., D'Souza, Y., Tompkins, E., Jeukens, J., Freschi, L., Emond-Rheault, J.-G., Kukavica-Ibrulj, I., Boyle, B., Bekal, S., Tamber, S., Levesque, R. C., & Goodridge, L. D. (2017). Prophage Integrase Typing Is a Useful Indicator of Genomic Diversity in *Salmonella enterica*. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01283>
- Dallman, T., Maiden, M., Jolley, K., McIntyre, M., Gally, D., Ott, S., Darby, A., Loman, N., Hinton, J., Kingsley, R. A., Holt, K., Wheeler, N., Graham, D., Chattaway, M., Nair, S., Connor, T., Traka, M., Vallejo-Trujillo, A., King, J., & Haynes, E. (2025). PATH-SAFE Consortium Recommendations for Genomic Surveillance of Foodborne Diseases, Using *Salmonella* as an Exemplar. *FSA Research and Evidence*. <https://doi.org/10.46756/001c.143833>
- Demkina, A., Slonova, D., Mamontov, V., Konovalova, O., Yurikova, D., Rogozhin, V., Belova, V., Korostin, D., Sutormin, D., Severinov, K., & Isaev, A. (2023). Benchmarking DNA isolation methods for marine metagenomics. *Scientific Reports*, 13(1), 22138. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48804-z>
- Deng, X., Li, S., Xu, T., Zhou, Z., Moore, M. M., Timme, R., Zhao, S., Lane, C., Dinsmore, B. A., Weill, F., & Fields, P. I. (2025). *Salmonella* serotypes in the genomic era: Simplified *Salmonella* serotype interpretation from DNA sequence data. *Applied and Environmental Microbiology*, 91(3), e02600-24. <https://doi.org/10.1128/aem.02600-24>
- Diarra, B., Guindo, I., Koné, B., Dembélé, M., Cissé, I., Thiam, S., Konaté, K., Tékété, M., Maïga, A., Maïga, O., Timbiné, L., & Djimde, A. (2024). High frequency of antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* causing diarrheal diseases

- at the Yirimadio community health facility, Mali. *BMC Microbiology*, 24(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03198-4>
- Dickey, A. M., Schmidt, J. W., Bono, J. L., & Guragain, M. (2024). The GEA pipeline for characterizing *Escherichia coli* and *Salmonella* genomes. *Scientific Reports*, 14(1), 13257. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63832-z>
- Didelot, X., Bowden, R., Wilson, D. J., Peto, T. E. A., & Crook, D. W. (2012). Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. *Nature Reviews. Genetics*, 13(9), 601-612. <https://doi.org/10.1038/nrg3226>
- Dong, K., Song, D., Li, S., Wang, X., Dai, L., Pei, X., Yang, X., & Jiang, Y. (2025). Significance of Whole-Genome Sequencing for the Traceability of Foodborne Pathogens: During the Processing of Meat and Dairy Products. *Foods*, 14(8), 1410. <https://doi.org/10.3390/foods14081410>
- Dopud, M., Reil, I., Zdelar-Tuk, M., Špičić, S., Humski, A., Tomašković, D., Šoprek Strugar, S., Avberšek, J., Papić, B., & Duvnjak, S. (2025). Current diagnostic techniques primarily used in veterinary diagnostics of *Salmonella*. *Veterinarska Stanica*, 56(6), 769-788. <https://doi.org/10.46419/vs.56.6.6>
- Dorado-García, A., Mevius, D. J., Jacobs, J. J. H., Van Geijlswijk, I. M., Mouton, J. W., Wagenaar, J. A., & Heederik, D. J. (2023). Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 78(1), 267–278. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw308>
- El-Saeed, B. A., Elshebawy, H. A., Zakaria, A. I., Abdelkhalek, A., Imre, K., Morar, A., Herman, V., & Sallam, K. I. (2024). Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* and Other Gram-Negative Species Isolated from Native Egyptian Chicken Carcasses. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(9), 217. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9090217>
- El-Shall, N. A., Adiguzel, M. C., Abd El-Ghany, W. A., & Gamal, W. A. (2026). *Salmonella* infection in chickens: Pathogen, pathogenesis, and dietary non-drug feed additives as

- alternatives to antibiotics — a comprehensive review. *Folia Microbiologica*.
<https://doi.org/10.1007/s12223-025-01403-z>
- Espinosa, E., Bautista, R., Larrosa, R., & Plata, O. (2024). Advancements in long-read genome sequencing technologies and algorithms. *Genomics*, 116(3), 110842.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2024.110842>
- EU Regulation 2025/179. (2025). Commission Delegated Regulation (EU) 2025/179 supplementing Regulation (EU) 2022/2371 as regards standards for whole genome sequencing in relation to foodborne disease outbreaks. *Official Journal of the European Union*.
- Foley, S. L., Lynne, A. M., & Nayak, R. (2008). *Salmonella* challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *Journal of Animal Science*, 86(14 Suppl), E149-162. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0464>
- Fookes, M., Schroeder, G. N., Langridge, G. C., Blondel, C. J., Mammina, C., Connor, T. R., & Parkhill, J. (2011). *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the Salmonellae. *PLOS Pathogens*, 7(8), e1002191.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002191>
- Fu, Y., M'ikanatha, N. M., Lorch, J. M., Bleher, D. S., Berlowski-Zier, B., Whitehouse, C. A., Li, S., Deng, X., Smith, J. C., Shariat, N. W., Nawrocki, E. M., & Dudley, E. G. (2022). *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolates from Wild Birds in the United States Represent Distinct Lineages Defined by Bird Type. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(6). <https://doi.org/10.1128/aem.01979-21>
- García, J. D. O., Arauz, D., & Cruz, S. (2025). Evaluación de antibiorresistencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo expendida en Ambato. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 7(4), 1-10.
<https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v7i4.1540>
- Gavriil, A., Giannenas, I., & Skandamis, P. N. (2025). A current insight into *Salmonella*'s inducible acid resistance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(20), 3835-3855. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2373387>

- Georganas, A., Graziosi, G., Catelli, E., & Lupini, C. (2024). *Salmonella enterica* Serovar Infantis in Broiler Chickens: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Animals*, 14(23). <https://doi.org/10.3390/ani14233453>
- Gillings, M. R. (2014). Integrons: Past, present, and future. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(2), 257–277. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13>
- Gomes, E., Araújo, D., Nogueira, T., Oliveira, R., Silva, S., Oliveira, L. V. N., Azevedo, N. F., Almeida, C., & Castro, J. (2025). Advances in whole genome sequencing for foodborne pathogens: Implications for clinical infectious disease surveillance and public health. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1593219>
- Greenman, N., Hassounch, S. A.-D., Abdelli, L. S., Johnston, C., & Azarian, T. (2024). Improving bacterial metagenomic research through long-read sequencing. *Microorganisms*, 12(5), 935. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12050935>
- Guerra, B., Helmuth, R., Thomas, K., Beutlich, J., Jahn, S., & Schroeter, A. (2010). Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Salmonella spp.* isolates from reptiles in Germany. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(9), 2043–2045. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq242>
- Haddadi, M. H., Sadeghifard, N., Khoshnood, S., Maleki, A., Ghafourian, S., & Valadbeigi, H. (2025). Assessment of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* Isolates Using Multilocus Sequence Typing in West of Iran. *MicrobiologyOpen*, 14(4), e70049. <https://doi.org/10.1002/mbo3.70049>
- Hafezi, A., & Khamar, Z. (2024). The Method and Analysis of Some Biochemical Tests Commonly Used for Microbial Identification: A Review. *Comprehensive Health and Biomedical Studies*, 3(2). <https://doi.org/10.5812/chbs-160199>
- Haley, B. J., Kim, S. W., Pettengill, J., Luo, Y., Karns, J. S., y Van Kessel, J. A. S. (2016). Genomic and evolutionary analysis of two *Salmonella enterica* serovar Kentucky sequence types isolated from bovine and poultry sources in North America. *PLOS ONE*, 11(10), e0161225. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161225>

- Han, B., Feng, C., Jiang, Y., Ye, C., Wei, Y., Liu, J., & Zeng, Z. (2025). Mobile genetic elements encoding antibiotic resistance genes and virulence genes in *Klebsiella pneumoniae*: Important pathways for the acquisition of virulence and resistance. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1529157>
- Han, J., Aljahdali, N., Zhao, S., Tang, H., Harbottle, H., Hoffmann, M., Frye, J. G., & Foley, S. L. (2024). Infection biology of *Salmonella enterica*. *EcoSal Plus*, 12(1), eesp00012023. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0001-2023>
- Hong, H., Kang, M., Haymowicz, A., Le, H. N. M., Kim, E., Yang, S. M., Ha, S.-D., Kim, H. J., & Park, S. H. (2025). Genetic characterization and in silico serotyping of 62 *Salmonella enterica* isolated from Korean poultry operations. *BMC Genomics*, 26, 166. <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11358-7>
- Hong, W., Yang, Z., Wu, G., Liu, C., Wang, Y., & Liao, N. (2025). Integrating serotyping, MLST, and phenotypic data: Decoding the evolutionary drivers of **Salmonella** pathogenicity and drug resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 91(10), e01511-25. <https://doi.org/10.1128/aem.01511-25>
- Hong, Y.-P., Chen, B.-H., Wang, Y.-W., Teng, R.-H., Wei, H.-L., & Chiou, C.-S. (2024). The usefulness of nanopore sequencing in whole-genome sequencing-based genotyping of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Microbiology Spectrum*, 12(7). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00509-24>
- Hu, T., Chitnis, N., Monos, D., & Dinh, A. (2021). Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*, 82(11), 801-811. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>
- International Organization for Standardization (ISO). (2017). *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* (ISO 6579-1:2017). <https://www.iso.org/standard/56712.html>
- ISO. (2017). *ISO 6579-1:2017(en), Microbiología de la cadena alimentaria—Método horizontal para la detección, enumeración y serotipificación de Salmonella—Parte*

1: *Detección de Salmonella spp.* <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:6579:-1:ed-1:vl:en>

- Jakubicek, R., Vorochta, J., Jakubickova, M., Bezdicek, M., Lengerova, M., & Vitkova, H. (2026). Basecalling-free resistance gene identification using a hybrid transformer in raw nanopore signals. *Frontiers in Microbiology*, 17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1748934>
- Jay, J. M. (2012). *Modern Food Microbiology*. Springer Science & Business Media.
- Jeong, J., Chae, M., Kang, M.-S., Lee, J.-Y., Kwon, Y.-K., Lee, H.-J., Lee, S.-H., Son, H.-B., Moon, J.-S., & Cho, S. (2025). Emergence and characteristics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subspecies enterica serovar Infantis harboring the pESI plasmid in chicken slaughterhouses in South Korea. *Microbiology Spectrum*, 13(7). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02955-24>
- Jin, Y., Li, Y., Huang, S., Hong, C., Feng, X., Cai, H., Xia, Y., Li, S., Zhang, L., Lou, Y., & Guan, W. (2024). Whole-Genome Sequencing Analysis of Antimicrobial Resistance, Virulence Factors, and Genetic Diversity of *Salmonella* from Wenzhou, China. *Microorganisms*, 12(11), 2166. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12112166>
- Kanaan, M. H. G. (2023). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium isolated from retail chicken meat in Wasit markets, Iraq. *Veterinary World*, 16(3), 455-463. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.455-463>
- Karunaratna, R., Liu, C. C., Periyasamy, D., Berg, A., Ngeleka, M., & Trokhymchuk, A. (2025). Towards decentralization of *Salmonella* serotyping and risk assessment in poultry production environments with nanopore sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1669089>
- Katsande, P., Davies, A. R., Owusu-Nyantakyi, C., Gufe, C., Musari, S., Majuru, C. S., & Machakwa, J. (2025). Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* in the broiler supply chain in Harare, Zimbabwe: Tracking

- transmission from farm to table. *Microbial Genomics*, 11(11), 001550. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001550>
- Kelly, S. D., Allas, M. J., Goodridge, L. D., Lowary, T. L., & Whitfield, C. (2024). Structure, biosynthesis and regulation of the T1 antigen, a phase-variable surface polysaccharide conserved in many *Salmonella* serovars. *Nature Communications*, 15, 6504. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50957-y>
- Khedher, M. B., Ghedira, K., Rolain, J. M., Ruimy, R., & Croce, O. (2022). Application and Challenge of 3rd Generation Sequencing for Clinical Bacterial Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1395. <https://doi.org/10.3390/ijms23031395>
- Kim, S.-H., Han, J. M., Cho, G.-S., Brinks, E., Franz, C. M. A. P., & Park, M.-K. (2025). Draft genome sequences of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolates from fresh produce and agricultural environments in South Korea. *BMC Research Notes*, 18(1), 428. <https://doi.org/10.1186/s13104-025-07494-8>
- Kumar, G., Kumar, S., Jangid, H., Dutta, J., & Shidiki, A. (2025). The rise of non-typhoidal *Salmonella*: An emerging global public health concern. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1524287>
- Kyu, H. H., Vongpradith, A., Dominguez, R.-M. V., Ma, J., Albertson, S. B., Novotney, A., Khalil, I. A., Troeger, C. E., Doxey, M. C., Ledesma, J. R., Sirota, S. B., Bender, R. G., Swetschinski, L. R., Cunningham, M., Spearman, S., Abate, Y. H., Magied, A. H. A. A. A., ElHafeez, S. A., Abdoun, M., ... Murray, C. J. L. (2025). Global, regional, and national age-sex-specific burden of diarrhoeal diseases, their risk factors, and aetiologies, 1990–2021, for 204 countries and territories: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Infectious Diseases*, 25(5), 519-536. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00691-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00691-1)
- La Hora. (2024). Ambato: Se incrementa la venta de pollos en la calle. LA HORA. <https://www.lahora.com.ec/tungurahua/Ambato-Se-incrementa-la-venta-de-pollos-en-la-calle-20240913-0039.html>

- Lamas, A., Garrido-Maestu, A., Prieto, A., Cepeda, A., & Franco, C. (2023). Whole genome sequencing in the palm of your hand: how to implement a MinION Galaxy-based workflow in a food safety laboratory for rapid *Salmonella* spp. serotyping, virulence, and antimicrobial resistance gene identification. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1254692. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1254692>
- Lee, K.-M., Runyon, M., Herrman, T. J., Phillips, R., & Hsieh, J. (2015). Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*, 47, 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.011>
- Leekitcharoenphon, P., Nielsen, E. M., Kaas, R. S., Lund, O., & Aarestrup, F. M. (2014). Evaluation of whole genome sequencing for outbreak detection of *Salmonella enterica*. *PloS One*, 9(2), e87991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087991>
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293–W296. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
- Liao, Y.-S., Lauderdale, T.-L., Chang, J.-H., Liang, S.-Y., Tsao, C.-S., Wei, H. L., Wang, Y.-W., Teng, R.-H., Hong, Y.-P., Chen, B.-H., & Chiou, C.-S. (2024). Epidemiological trends in serotypes distribution and antimicrobial resistance in **Salmonella** from humans in Taiwan, 2004-2022. *IJID Regions*, 11, 100372. <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2024.100372>
- Logue, C. M., De Cesare, A., Tast-Lahti, E., Chemaly, M., Payen, C., LeJeune, J., & Zhou, K. (2024). *Salmonella* spp. in poultry production—A review of the role of interventions along the production continuum. *Advances in Food and Nutrition Research*, 108, 289-341. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2023.11.001>
- Lu, J., Wu, H., Wu, S., Wang, S., Fan, H., Ruan, H., Qiao, J., Caiyin, Q., & Wen, M. (2025). *Salmonella*: Mecanismo de infección y estrategias de control. *Microbiological Research*, 292, 128013. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.128013>

- Luan, T., Commichaux, S., Hoffmann, M., Jayeola, V., Jang, J. H., Pop, M., Rand, H., & Luo, Y. (2024). Benchmarking short and long read polishing tools for nanopore assemblies: achieving near-perfect genomes for outbreak isolates. *BMC Genomics*, 25(1), 679. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10582-x>
- MacKenzie, M., & Argyropoulos, C. (2023). An Introduction to Nanopore Sequencing: Past, Present, and Future Considerations. *Micromachines*, 14(2), 459. <https://doi.org/10.3390/mi14020459>
- Manni, M., Berkeley, M. R., Seppey, M., Simão, F. A., & Zdobnov, E. M. (2021). BUSCO update: Novel and streamlined workflows along with broader and deeper phylogenetic coverage for scoring of eukaryotic, prokaryotic, and viral genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 38(10), 4647-4654. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab199>
- Marolda, C. L., Tatar, L. D., Alaimo, C., Aebi, M., & Valvano, M. A. (2006). Interplay of the Wzx translocase and the corresponding polymerase and chain length regulator proteins in the translocation and periplasmic assembly of lipopolysaccharide O antigen. *Journal of Bacteriology*, 188(14), 5124–5135. <https://doi.org/10.1128/JB.00461-06>
- Matsumura, Y., Yamamoto, M., Gomi, R., Tsuchido, Y., Shinohara, K., Noguchi, T., & Nagao, M. (2025). Integrating whole-genome sequencing into antimicrobial resistance surveillance: Methodologies, challenges, and perspectives. *Clinical Microbiology Reviews*, 38(4), e00140-22. <https://doi.org/10.1128/cmr.00140-22>
- Medalla, F., Shah, H. J., Sundararaman, P., Chen, J., Ellison, Z., Verlander, S., Buuck, S., Hanna, S., Hoelzl, R., Rissman, T., Trevejo, R., Devine, C., Birhane, M. G., Reynolds, J. L., Caidi, H., Folster, J., Tolar, B., Payne, D. C., Hoekstra, R. M., & Francois Watkins, L. (2026). Epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serotype Infantis in the United States: Infections and emergence of a multidrug-resistant strain during 1979–2022. *Infectious Diseases*, 58(1), 108-125. <https://doi.org/10.1080/23744235.2025.2553665>

- Mejía, L., Medina, J. L., Bayas, R., Salazar, C., Villavicencio, F., Zapata, S., Matheu, J., Wagenaar, J. A., González-Candelas, F., & Vinuesa-Burgos, C. (2020). Genomic Epidemiology of *Salmonella* Infantis in Ecuador: From Poultry Farms to Human Infections. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 547891. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547891>
- Mengistu, A. B., Belete, M. A., Tassew, H., Kassa, H. Y., Alemu, B. G., Tegegne, H. C., & Areda, D. (2025). Multidrug-resistant non-typhoidal *Salmonella enterica* from chickens, farmworkers, and environments: One health implications from Northwestern Ethiopia. *PLOS ONE*, 20(10), e0333591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0333591>
- Meslier, V., Quinquis, B., Da Silva, K., Plaza Oñate, F., Pons, N., Roume, H., Podar, M., & Almeida, M. (2022). Benchmarking second and third-generation sequencing platforms for microbial metagenomics. *Scientific Data*, 9(1), 694. <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01762-z>
- Mileto, I., Romano, G., Gaiarsa, S., Grassia, G., Bagnarino, J., Piralla, A., Monzillo, V., Cambieri, P., Baldanti, F., & Corbella, M. (2025). Whole genome sequencing as a reliable alternative for *Salmonella* serotyping: a comparative study with the gold-standard method. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1685741. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1685741>
- Mishra, C., Sahoo, S. K., Misra, N., Kushwaha, G. S., & Suar, M. (2025). Recent progress in molecular mechanisms of *Salmonella* effectors involved in gut epithelium invasion. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 601. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10715-9>
- Mohanapriya, K., Agri, H., Anbazhagan, S., Khawaskar, D., Jayakumar, V., Lalrinzuala, M. V., K M, H., I, S., Mariappan, A. K., Abhishek, Nagaleekar, V. K., Sinha, D. K., Chaudhuri, P., Chaturvedi, V. K., Singh, B. R., & Thomas, P. (2023). Development and validation of multiplex PCR based molecular serotyping of *Salmonella* serovars associated with poultry in India. *Journal of Microbiological Methods*, 207, 106710. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106710>

- Montoro-Dasi, L., Lorenzo-Rebenaque, L., Marco-Fuertes, A., Vega, S., & Marin, C. (2023). Holistic Strategies to Control *Salmonella* Infantis: An Emerging Challenge in the European Broiler Sector. *Microorganisms*, 11(7), 1765. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071765>
- Mustafa, A. S. (2024). Whole Genome Sequencing: Applications in Clinical Bacteriology. *Medical Principles and Practice*, 33(3), 185-197. <https://doi.org/10.1159/000538002>
- Nagpala, M. J. M., Mora, J. F. B., Pavon, R. D. N., & Rivera, W. L. (2025). Genomic characterization of antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* in chicken meat from wet markets in Metro Manila, Philippines. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1496685>
- Nassar, F. S. (2026). Strategic role of poultry production sciences in shaping the future of global food security and strengthen sustainability. *Poultry Science*, 105(5), 106617. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2026.106617>
- Neyaz, L. A., Alghamdi, H. S., Alghashmari, R. M., Alswat, S. S., Almaghrabi, R. O., Bazaid, F. S., Albarakaty, F. M., Elbanna, K., & Abulreesh, H. H. (2024). A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of *Salmonella* and *Shigella* spp. from contaminated food. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2>
- Nógrády, N., Király, M., Davies, R., & Nagy, B. (2022). Multidrug-resistant clones of *Salmonella* Infantis of broiler origin with replicon type IncFIB spread in distinct geographical regions of Europe. *International Journal of Food Microbiology*, 367, 109567. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.007>
- Omega Bio-tek. (2025). *E.Z.N.A.® Soil DNA Kit* (Protocolo del fabricante). Omega Bio-tek.
- Onyeke, B., & Bahman, N. (2025). Pathogenicity, Epidemiology, and Advances in the Treatment of Multidrug-Resistant *Salmonella* Infections: A Narrative Review. *Global Academic Journal of Medical Sciences*, 7, 102-114. <https://doi.org/10.36348/gajms.2025.v07i03.005>

- Ortega García, J. D., Arauz, D., & Cruz, S. (2025). Evaluación de antibiorresistencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo expandida en Ambato. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 7(4), 1–10. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v7i4.1540>
- Oxford Nanopore Technologies. (2024). *Ligation sequencing gDNA – Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24)*. Documento técnico.
- Patel, A., Wolfram, A., & Desin, T. S. (2024). Advancements in Detection Methods for *Salmonella* in Food: A Comprehensive Review. *Pathogens*, 13(12), 1075. <https://doi.org/10.3390/pathogens13121075>
- Payne, M., Hu, D., Wang, Q., Sullivan, G., Graham, R. M., Rathnayake, I. U., Jennison, A. V., Sintchenko, V., & Lan, R. (2024). DODGE: automated point source bacterial outbreak detection using cumulative long term genomic surveillance. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 40(7), btac427. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac427>
- Payne, M., Octavia, S., Luu, L. D. W., Sotomayor-Castillo, C., Wang, Q., Tay, A. C. Y., Sintchenko, V., Tanaka, M. M., & Lan, R. (2021). Enhancing genomics-based outbreak detection of endemic *S. enterica* serovar Typhimurium using dynamic thresholds. *Microbial genomics*, 7(6), 000310. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000310>
- Piekarska, K., Wołkowicz, T., Zacharczuk, K., Stepuch, A., & Gierczyński, R. (2023). The Mechanisms Involved in the Fluoroquinolone Resistance of *Salmonella enterica* Strains Isolated from Humans in Poland, 2018-2019: The Prediction of Antimicrobial Genes by In Silico Whole-Genome Sequencing. *Pathogens*, 12(2), 193. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020193>
- Pijnacker, R., van den Beld, M., Ullrich, A., Ceyssens, P.-J., van Cauteren, D., Jore, S., Nielsen, E. M., Ethelberg, S., Morabito, S., Lanzl, M., & Franz, E. (2025). Implementing whole genome sequencing for foodborne pathogen surveillance: Insights and recommendations based on expert experiences. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1707621>

- Polat, İ., Şen, B., & Onurdağ, F. K. (2023). *Salmonella* enterica serotypes isolated for the first time in laying hens, and their susceptibility to antibiotics. *Poultry Science*, 103(1), 103180. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103180>
- Popa, G. L., & Papa, M. I. (2021). *Salmonella* spp. Infection—A continuous threat worldwide. *Germs*, 11(1), 88-96. <https://doi.org/10.18683/germs.2021.1244>
- Prabhakaran, R., Rajendran, M. S., & Muthu, R. (2026). Molecular detection of foodborne pathogens with emphasis on multiplex-allele-specific PCR, computational primer design, and gene amplification approaches. *Journal of Microbiological Methods*, 245, 107486. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2026.107486>
- Prescott. (2008). Prescott—Microbiología, 7a edc. McGraw-Hill Interamericana de España S.L.
- Projahn, M., Daehre, K., Roesler, U., & Friese, A. (2018). Extended-spectrum-beta-lactamase- and plasmid-encoded cephalosporinase-producing *Enterobacteriaceae* in the broiler hatchery as a transmission interface. *Environmental Microbiology*, 20(12), 4499–4509. <https://doi.org/10.1128/AEM.02364-16>
- Quelal-Madrid, F., Armijos, C. E., Vinueza-Burgos, C., Mejía, L., & Zapata-Mena, S. (2026). Prophage diversity in poultry-associated *Salmonella* enterica from Ecuador: A case study using an in-silico terminase-based approach. *Frontiers in Microbiology*, 17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1703134>
- Quick, J., Ashton, P., Calus, S., Chatt, C., Gossain, S., Hawker, J., Nair, S., Neal, K., Nye, K., Peters, T., De Pinna, E., Robinson, E., Struthers, K., Webber, M., Catto, A., Dallman, T. J., Hawkey, P., & Loman, N. J. (2015). Rapid draft sequencing and real-time nanopore sequencing in a hospital outbreak of *Salmonella*. *Genome Biology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0677-2>
- Ranjan, A., Chandna, M., Stevens, N. J., Kandil, J., Dinh, B., Kuhn, M., Mian, N., Tran, B., Hamid, A., Kim, P., & Desin, T. S. (2026). *Salmonella* Infections: Global Trends and Emerging Challenges. *Microorganisms*, 14(4), 816. <https://doi.org/10.3390/microorganisms14040816>

- Rausch, T., Marschall, T., & Korbel, J. O. (2025). The impact of long-read sequencing on human population-scale genomics. *Genome Research*, 35(4), 593-598. <https://doi.org/10.1101/gr.280120.124>
- Reyes, N., Vinueza-Burgos, C., Medina-Santana, J., Ishida, M. L., Sauders, B. D., Anchatuña, D., & Luzuriaga-Neira, N. (2026). Genomic Evidence of Multidrug-Resistant *Salmonella* in Wild Waterbirds from High-Andean Lakes of Ecuador (p. 2026.04.09.717384). *bioRxiv*. <https://doi.org/10.64898/2026.04.09.717384>
- Richards, A. K., Kue, S., Norris, C. G., y Shariat, N. W. (2023). Genomic and phenotypic characterization of *Salmonella enterica* serovar Kentucky. *Microbial Genomics*, 9(9), 001089. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001089>
- Rodríguez-Rubio, L., Haarmann, N., Schwidder, M., Muniesa, M., & Schmidt, H. (2021). Bacteriophages of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and their contribution to pathogenicity. *Pathogens*, 10(4), 404. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040404>
- Rose, E. B., Steele, M. K., Tolar, B., Pettengill, J., Batz, M., Bazaco, M., Tameru, B., Cui, Z., Lindsey, R. L., Simmons, M., Chen, J., Posny, D., Carleton, H., & Bruce, B. B. (2025). Attribution of *Salmonella enterica* to Food Sources by Using Whole-Genome Sequencing Data. *Emerging Infectious Diseases*, 31(4), 783-790. <https://doi.org/10.3201/eid3104.241172>
- Sah, A. K., & Feglo, P. K. (2022). Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in clinical bacterial pathogens isolated from the Western Region of Ghana: a cross-sectional study. *The Pan African medical journal*, 43, 207. <https://doi.org/10.11604/pamj.2022.43.207.33734>
- Salazar-Llorente, E., Morales, M., Sornoza, I., Mariduena-Zavala, M. G., Gu, G., Nou, X., Ortiz, J., Maldonado-Alvarado, P., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2021). Microbiological Quality of High-Demand Food from Three Major Cities in Ecuador. *Journal of Food Protection*, 84(1), 128-138. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-271>
- Scarano, C., Veneruso, I., De Simone, R. R., Di Bonito, G., Secondino, A., & D'Argenio, V. (2024). The Third-Generation Sequencing Challenge: Novel Insights for the Omic Sciences. *Biomolecules*, 14(5), 568. <https://doi.org/10.3390/biom14050568>

- Sevilla-Navarro, S., Gómez-Cano, I. S., Castillo-Beckmann, I., Ballaz, S., Debut, A., & Fernández-Moreira, E. (2026). Genomic and Functional Characterization of Lytic Tlsvirus Bacteriophages Targeting *Salmonella* Infantis Isolated from Poultry Farms in Ecuador. *Biology*, 15(3), 232. <https://doi.org/10.3390/biology15030232>
- Shaji, S., Selvaraj, R. K., & Shanmugasundaram, R. (2023). *Salmonella* Infection in Poultry: A Review on the Pathogen and Control Strategies. *Microorganisms*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112814>
- She, T., Tan, D., Balcazar, J. L., Friman, V.-P., Wang, D., Zhu, D., Ye, M., Sun, M., Yuan, S., & Hu, F. (2025). Phage-mediated horizontal transfer of *Salmonella enterica* virulence genes with regulatory feedback from the host. *iMeta*, 4(4), e70042. <https://doi.org/10.1002/imt2.70042>
- Shi, C., Singh, P., Ranieri, M. L., Wiedmann, M., & Switt, A. I. M. (2015). Molecular methods for serovar determination of *Salmonella*. *Critical Reviews in Microbiology*, 41(3). <https://doi.org/https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.837862>
- Sia, C. M., Pearson, J. S., Howden, B. P., Williamson, D. A., & Ingle, D. J. (2025). *Salmonella* pathogenicity islands in the genomic era. *Trends in Microbiology*, 33(7), 752-764. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.02.007>
- Siceloff, A. T., & Shariat, N. W. (2025). Optimizing *Salmonella* Recovery From Commercial Poultry Environmental Samples With Selective Preenrichment. *Journal of Food Protection*, 88(11), 100627. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2025.100627>
- Skrzypiec, E., Skarżyńska, M., Zając, M., Kwit, R., Lalak, A., Śmiałowska-Węglińska, A., Mikos-Wojewoda, E., Pasim, P., Koza, W., Wojdat, D., Bona, I., Pastuszka, D., Hudzik-Pałosz, S., & Wasyl, D. (2025). Surveillance of *Salmonella* Serovars in the Food Chain in Poland: A Five-Year Review (2016–2020). *Pathogens*, 14(7), 712. <https://doi.org/10.3390/pathogens14070712>
- Soltys, R. C., Sakomoto, C. K., Oltean, H. N., Guard, J., Haley, B. J., y Shah, D. H. (2021). High-resolution comparative genomics of *Salmonella* Kentucky aids source tracing and detection of ST198 and ST152 lineage-specific mutations. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 695368. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.695368>

- Sripaurya, B., Pelyuntha, W., Ngasaman, R., Ching, C. L., Guyonnet, V., & Vongkamjan, K. (2025). Antibiotic resistance, sequence typing, and virulence gene profiles of *Salmonella enterica* isolated from the broiler production chain in southern Thailand. *Research in Veterinary Science*, 196, 105891. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2025.105891>
- Tafazoli, A., Hemmati, M., Rafigh, M., Alimardani, M., Khaghani, F., Korostyński, M., & Karnes, J. H. (2025). Leveraging long-read sequencing technologies for pharmacogenomic testing: Applications, analytical strategies, challenges, and future perspectives. *Frontiers in Genetics*, 16. <https://doi.org/10.3389/fgene.2025.1435416>
- Tate, H., Hsu, C. H., Chen, J. C., Han, J., Foley, S. L., Folster, J. P., Francois Watkins, L. K., Reynolds, J., Tillman, G. E., Nyirabahizi, E., & Zhao, S. (2022). Genomic Diversity, Antimicrobial Resistance, and Virulence Gene Profiles of *Salmonella* Serovar Kentucky Isolated from Humans, Food, and Animal Ceca Content Sources in the United States. *Foodborne pathogens and disease*, 19(8), 509–521. <https://doi.org/10.1089/fpd.2022.0005>
- Teklemariam, A. D., Al-Hindi, R. R., Albiheyri, R. S., Alharbi, M. G., Alghamdi, M. A., Filimban, A. A. R., Mutiri, A. S. A., Al-Alyani, A. M., Alseghayer, M. S., Almaneea, A. M., Albar, A. H., Khormi, M. A., & Bhunia, A. K. (2023). Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/foods12091756>
- Thermo Fisher Scientific. (2015). *PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit* (Manual No. MAN0014332 Rev. A.0). <https://www.thermofisher.com>
- Timsit, S., Armand-Lefèvre, L., Le Goff, J., & Salmona, M. (2024). The clinical and epidemiological impacts of whole genomic sequencing on bacterial and virological agents. *Infectious Diseases Now*, 54(2), 104844. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104844>
- Trigodet, F., Lolans, K., Fogarty, E., Shaiber, A., Morrison, H. G., Barreiro, L., Jabri, B., & Eren, A. M. (2022). High molecular weight DNA extraction strategies for long-read

- sequencing of complex metagenomes. *Molecular Ecology Resources*, 22(5), 1786-1802. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13588>
- Upretee, P., Botermans, W., Martens, K., Marion, S., Fostier, J., & Madhu, N. (2025). Methods for Single-Biomolecule Translocation Event Detection From Nanopore Current Signal: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 25(9), 14505-14521. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2025.3551262>
- van Almsick, V., Sobkowiak, A., & Schwierzeck, V. (2026). Long-read sequencing for bacterial plasmid analysis: A brief overview. *FEMS Microbiology Letters*, 373, fnag014. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnag014>
- Vinueza-Burgos, C., Cevallos, M., Ron-Garrido, L., Bertrand, S., & Zutter, L. D. (2016). Prevalence and Diversity of *Salmonella* Serotypes in Ecuadorian Broilers at Slaughter Age. *PLOS ONE*, 11(7), e0159567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567>
- Wang, M., Zhang, Y., Tian, F., Liu, X., Du, S., & Ren, G. (2021). Overview of Rapid Detection Methods for *Salmonella* in Foods: Progress and Challenges. *Foods*, 10(10), 2402. <https://doi.org/10.3390/foods10102402>
- Wang, Q., Song, M., Zhao, W., Hu, X., Tang, Z., & Guo, L. (2026). Investigating the dynamics of *S. Enteritidis* serotype spread in breeder poultry company using a whole genome sequencing approach. *Frontiers in Veterinary Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fvets.2026.1810481>
- Wang, X., Sun, K., Li, M., & Yang, X. (2025). Whole-genome sequencing and molecular characterization of *Salmonella* isolates in the Meishan region (2014–2024). *Foodborne Pathogens and Disease*. <https://doi.org/10.1177/15353141251412205>
- Wang, Z., Liu, Y., Zhang, Y., Zeng, T., Li, D., Shi, X., Zhang, J., Wang, H., Shi, L., Zhang, J., Bai, Y., & Dong, Y. (2026). Nanopore sequencing with proteins: Synchronization and disynchronization of molecular dynamics simulations with laboratory and industrial developments. *ChemRxiv*, 2026(0203). <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2026-0lzw1/v2>

- Wick, R. R., Judd, L. M., & Holt, K. E. (2023). Assembling the perfect bacterial genome using Oxford Nanopore and Illumina sequencing. *PLOS Computational Biology*, 19(3), e1010905. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010905>
- Willey, J. M., Willey, J., Sandman, K. M., & Wood, D. H. (2022). Prescott—Microbiología, 12va edc. India: McGraw Hill.
- World Health Organization (WHO). (2018). *Salmonella* (no-tifoidea). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- World Health Organization. (2024). Food safety. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- Worley, M. J. (2025). Salmonella Type III Secretion System Effectors. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2611. <https://doi.org/10.3390/ijms26062611>
- Yan, S., Jiang, Z., Zhang, W., Liu, Z., Dong, X., Li, D., Liu, Z., Li, C., Liu, X., & Zhu, L. (2023). Genomes-based MLST, cgMLST, wgMLST and SNP analysis of *Salmonella* Typhimurium from animals and humans. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 96, 101973. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.101973>
- Yang, X., Yang, S., Liu, M., Liu, Z., Gu, Q., Xue, L., Guo, W., & Wu, Q. (2026). Genomic landscape and phylogenetic reconstruction of Chinese monophasic *Salmonella enterica* serovar 1,4,[5],12:i:-: Focus on *fljAB* locus variation and microevolutionary dynamics. *Food Research International*, 234, 119032. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2026.119032>
- Yavaş, C., Şeflekçi, Y., & Eröz, R. (2025). In silico analysis of the whole genome of *S. enterica*: genome assembly and annotation. *Northwestern Medical Journal*, 5(2), 61–76. <https://doi.org/10.54307/2025.nwmj.101>
- Ye, Y., Li, L., Chen, Y., Li, B., & Xu, Z. (2025). Molecular methods for rapid detection and identification of foodborne pathogenic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 41(5), 175. <https://doi.org/10.1007/s11274-025-04396-6>

- Yu, K., Wang, H., Cao, Z., Gai, Y., Liu, M., Li, G., Lu, L., & Luan, X. (2022). Antimicrobial resistance analysis and whole-genome sequencing of *S. enterica* serovar Indiana isolate from ducks. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 28, 78-83. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.12.013>
- Zeng, H., Yang, D., Huang, N., Li, Y., Chen, J., Yu, Z., Tang, J., & Jiang, Z. (2025). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* in Retail Meat Collected from Different Markets in Sichuan, China. *Pathogens*, 14(3), 222. <https://doi.org/10.3390/pathogens14030222>
- Zhao, W., Zeng, W., Pang, B., Luo, M., Peng, Y., Xu, J., Kan, B., Li, Z., & Lu, X. (2023). Oxford nanopore long-read sequencing enables the generation of complete bacterial and plasmid genomes without short-read sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1179966. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1179966>
- Zheng, Z., Chen, M., & Liu, J. (2025). Plasmid-mediated antimicrobial resistance in non-typhoidal *Salmonella*: serotype-specific mechanisms and ecological implications. *International Journal of Food Microbiology*, 110956. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2026.110956>
- Zhou, J., Chen, L., Tan, Y., Sun, Q., & Wang, H. (2025). Whole genome sequencing of *Salmonella* in poultry from China reveals the presence of *bla*NDM-5 in different serotypes. *Microbiology Spectrum*. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105647>
- Zizza, A., Fallucca, A., Guido, M., Restivo, V., Roveta, M., & Trucchi, C. (2025). Foodborne Infections and *Salmonella*: Current Primary Prevention Tools and Future Perspectives. *Vaccines*, 13(1), 29. <https://doi.org/10.3390/vaccines13010029>
- Zulkifli, A. S., Abd Mutalib, S., Sam-On, M. F. S., & Mohd Zaini, N. A. (2025). Prevalence and Survival of *Salmonella* spp. in Raw Chicken: Risks in Online Delivery and Storage Systems. *Sains Malaysiana*, 54(10), 2419-2429. <https://doi.org/10.17576/jsm-2025-5410-07>

ANEXOS

Anexo 1

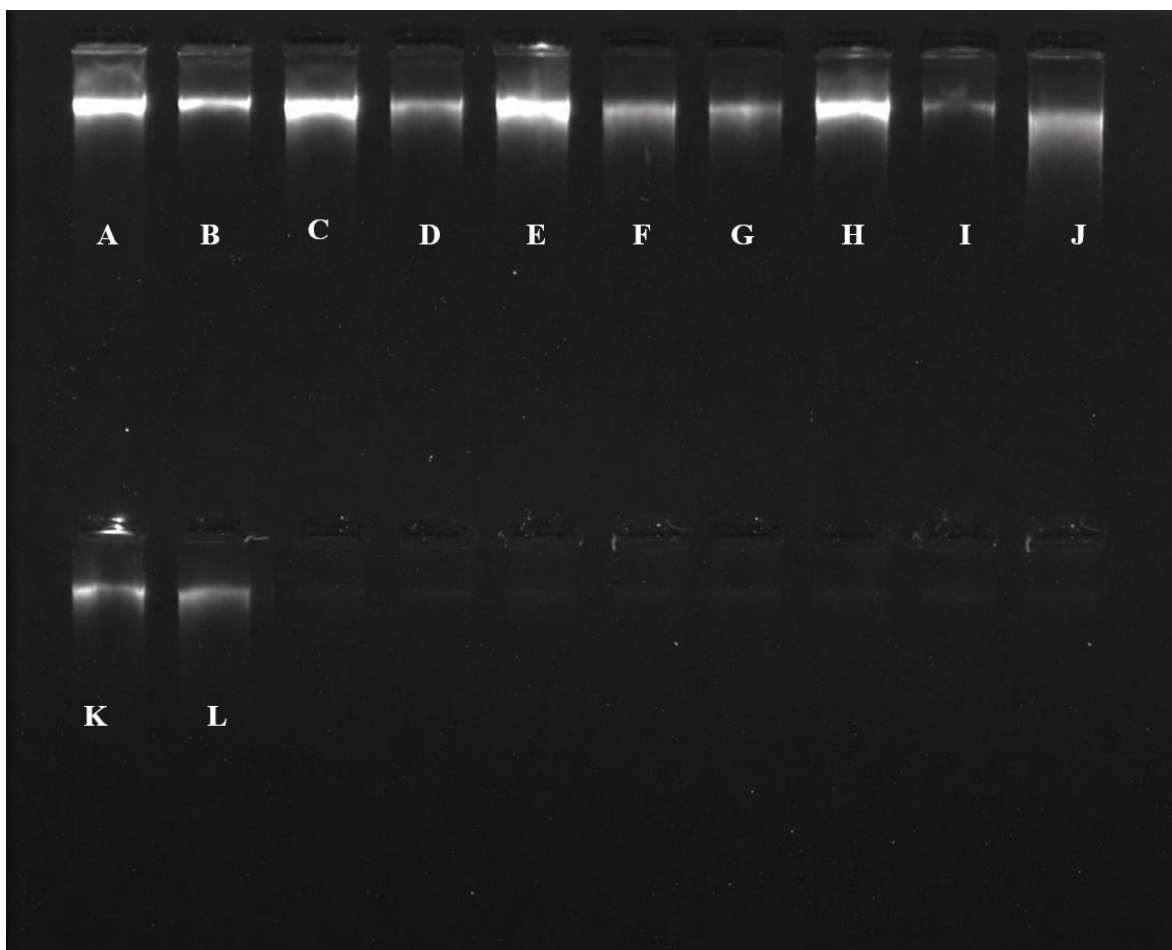
Resultados de pruebas bioquímicas aplicadas a las cepas reactivadas.

Código	Abreviación	TSI	H ₂ S	Gas	Citrato Simmons	Ureasa
SM3LxR1C2	A	K/A	+	+	+	-
SM9L1R2C2	B	K/A	+	+	+	-
IzL3M	C	K/A	+	+	+	-
AtL3C	D	K/A	+	+	+	-
SrL1CR1	E	K/A	+	+	+	-
SM8L3R3C3	F	K/A	+	+	+	-
HgL1C	G	K/A	+	+	+	-
SM10L1R3C6	H	K/A	+	+	+	-
JBL1C	I	K/A	+	+	+	-
PiL1C	J	K/A	+	+	+	-
SM11L1R3C1	K	K/A	+	+	+	-
SM6L3R1C1	L	K/A	+	+	+	-
MvL1C	M	K/K	-	+	-	-

Nota: K/A: slant alcalino (rojo) / fondo ácido (amarillo); K/K: alcalino en slant y fondo; +: positivo; -: negativo. La cepa MvL1C fue descartada del estudio por no corresponder al género *Salmonella*.

Anexo 2

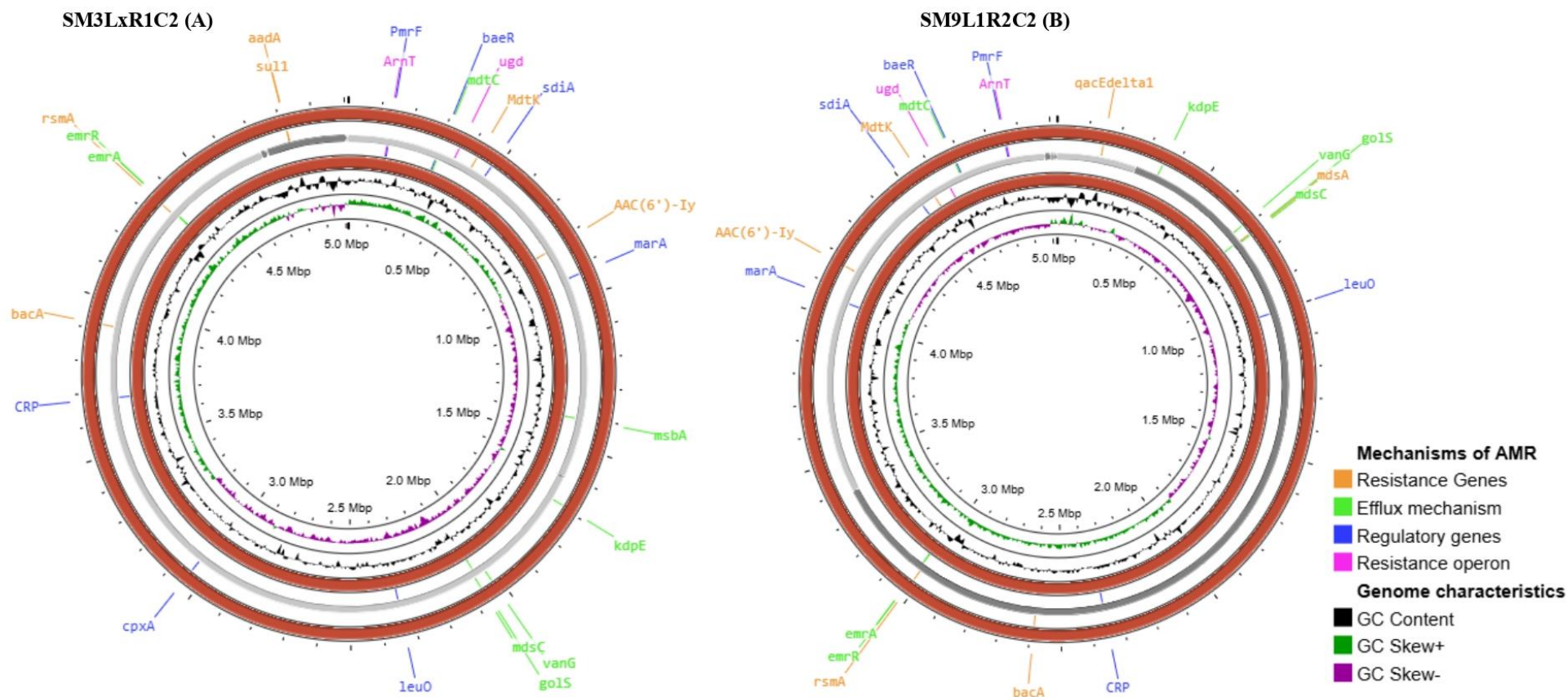
Verificación de la integridad de ADN en gel de agarosa.



Nota. Gel de electroforesis en agarosa de las muestras de ADN extraído, utilizado para evaluar la integridad y calidad del material genético. La presencia de bandas intensas y bien definidas, con escasa migración, indica ADN de alto peso molecular y buena integridad. Por el contrario, la aparición de bandas difusas o patrones de “smear” sugiere fragmentación y posible degradación del ADN, debido a la presencia de fragmentos de menor tamaño que migran a lo largo del gel. Sin embargo, las muestras presentan bandas mayormente compactas y cercanas a los pozos, indicando ADN de integridad adecuada. No se observa un patrón de “smear” pronunciado, lo que sugiere una baja fragmentación y ausencia de degradación significativa del ADN.

Anexo 3

Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato.

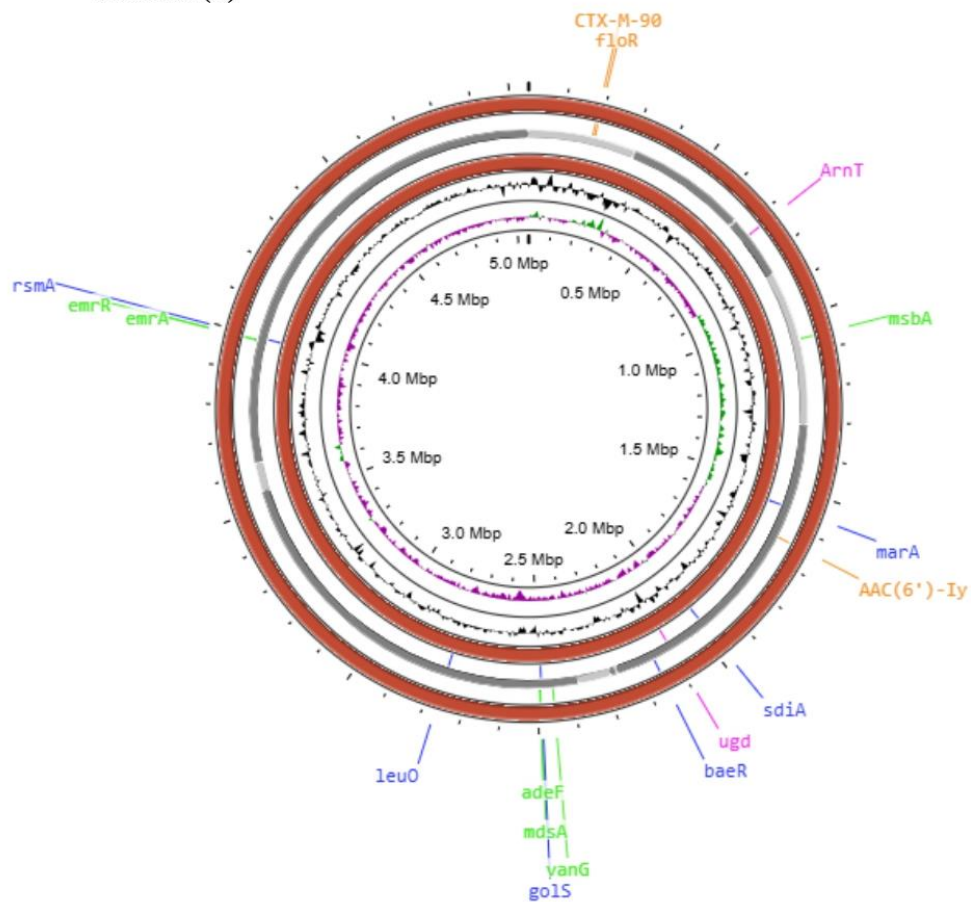


Continúa

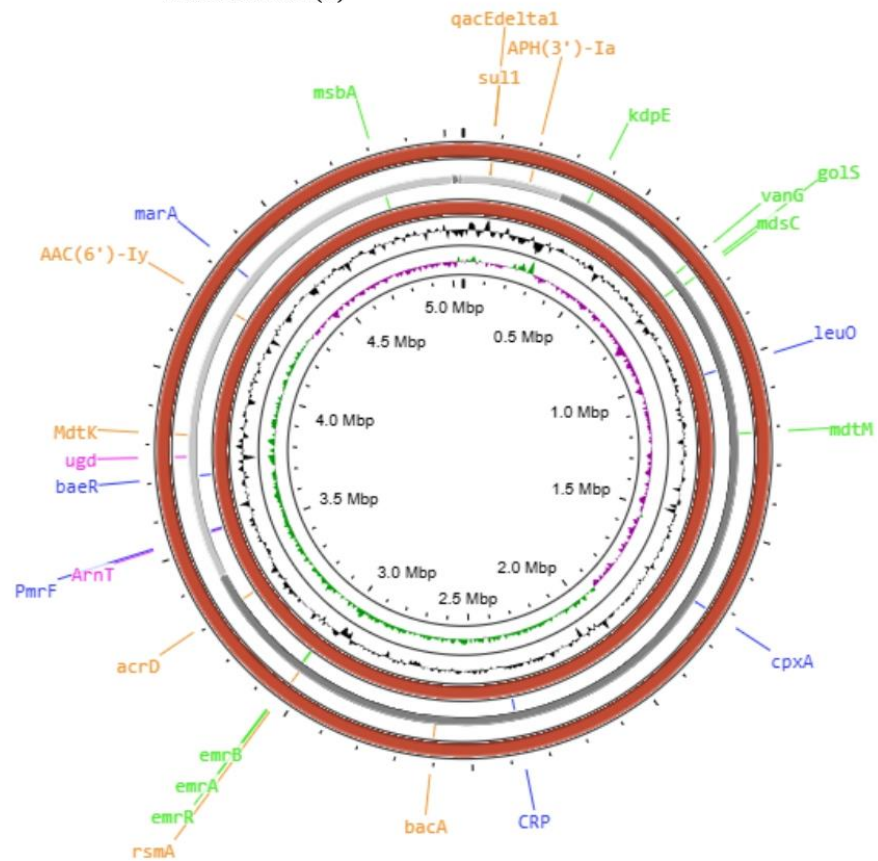
Anexo 3

Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato

SfL1CR1 (E)



SM8L3R3C3 (F)

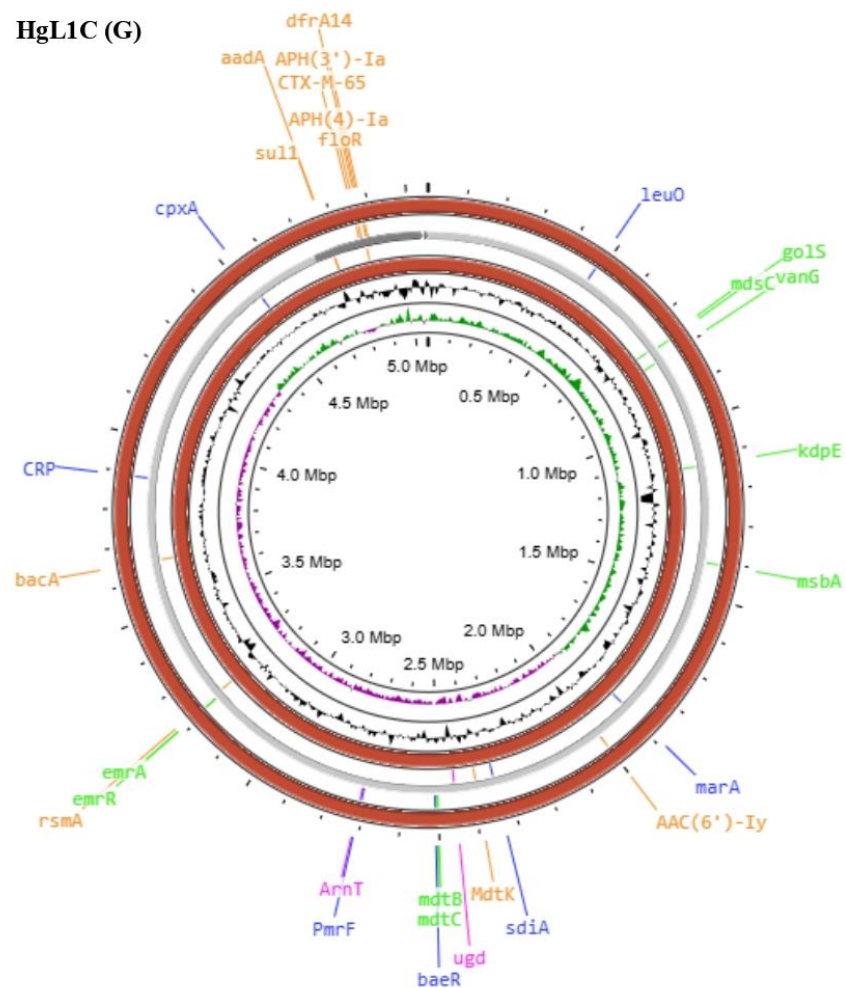


Continúa

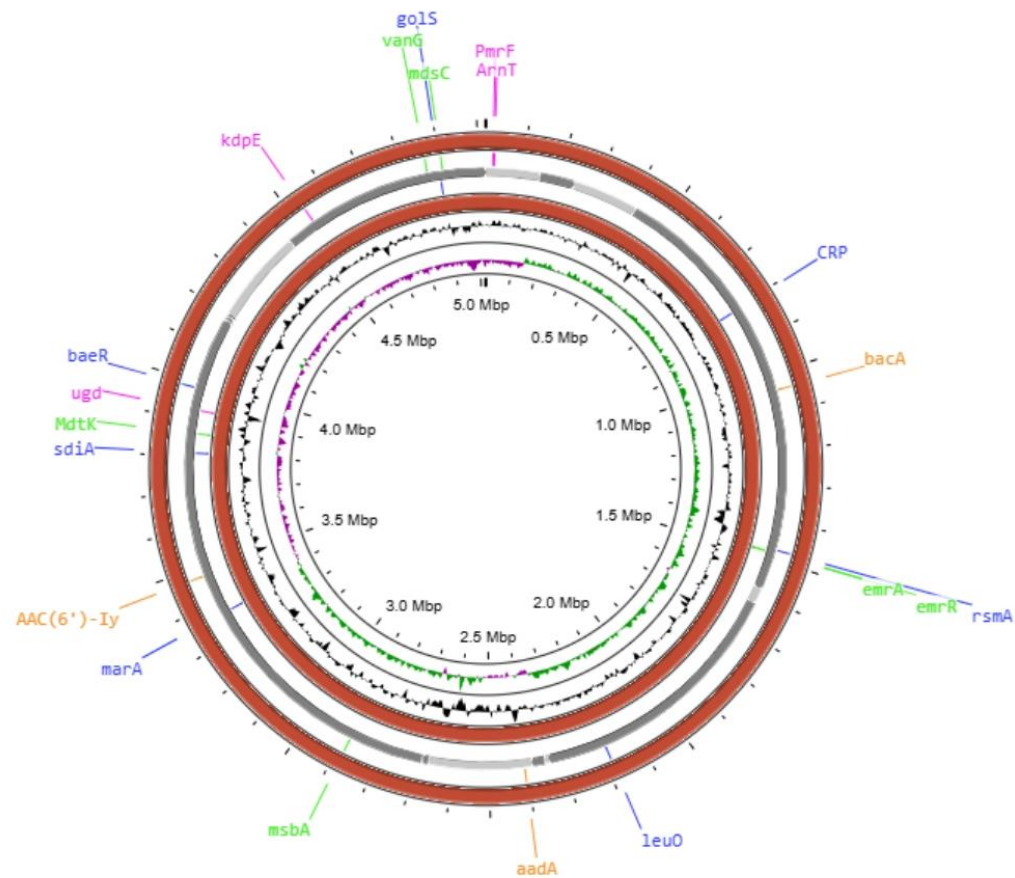
Anexo 3

Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato.

Hg1C (G)



SM10L1R3C6 (H)

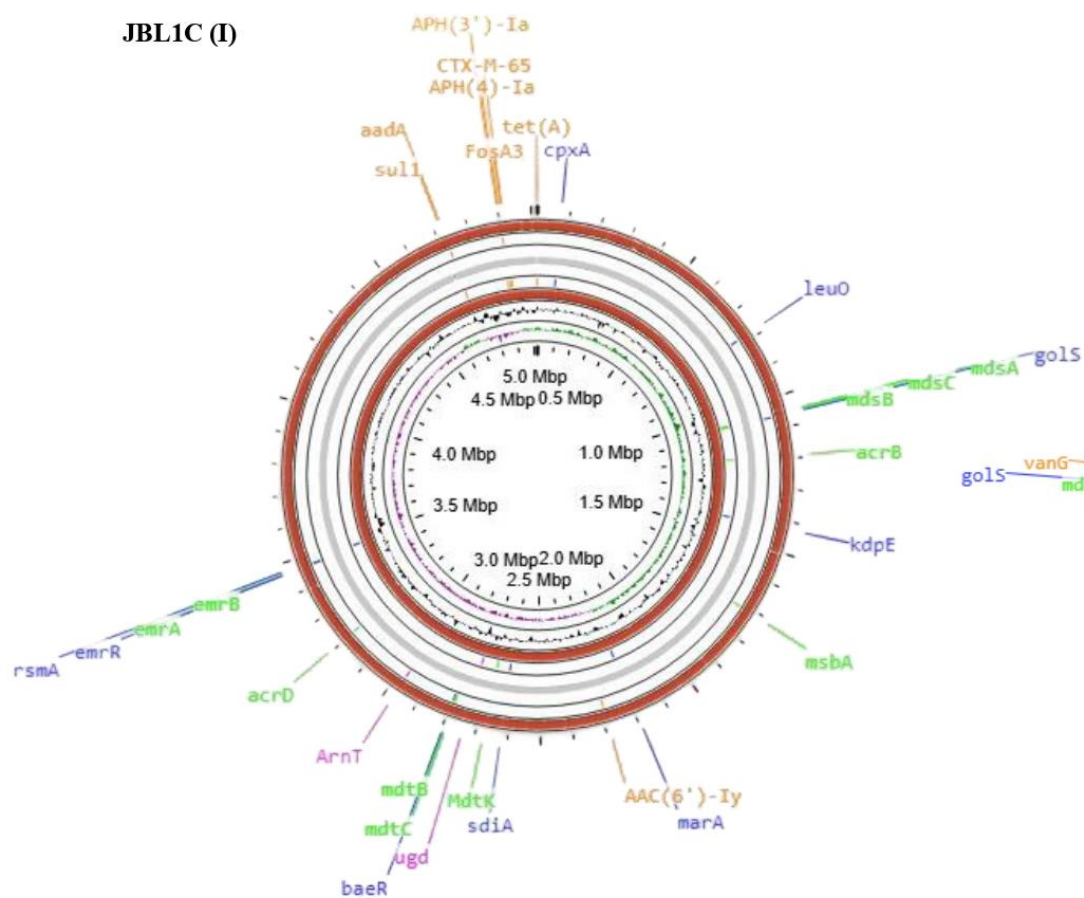


Continúa

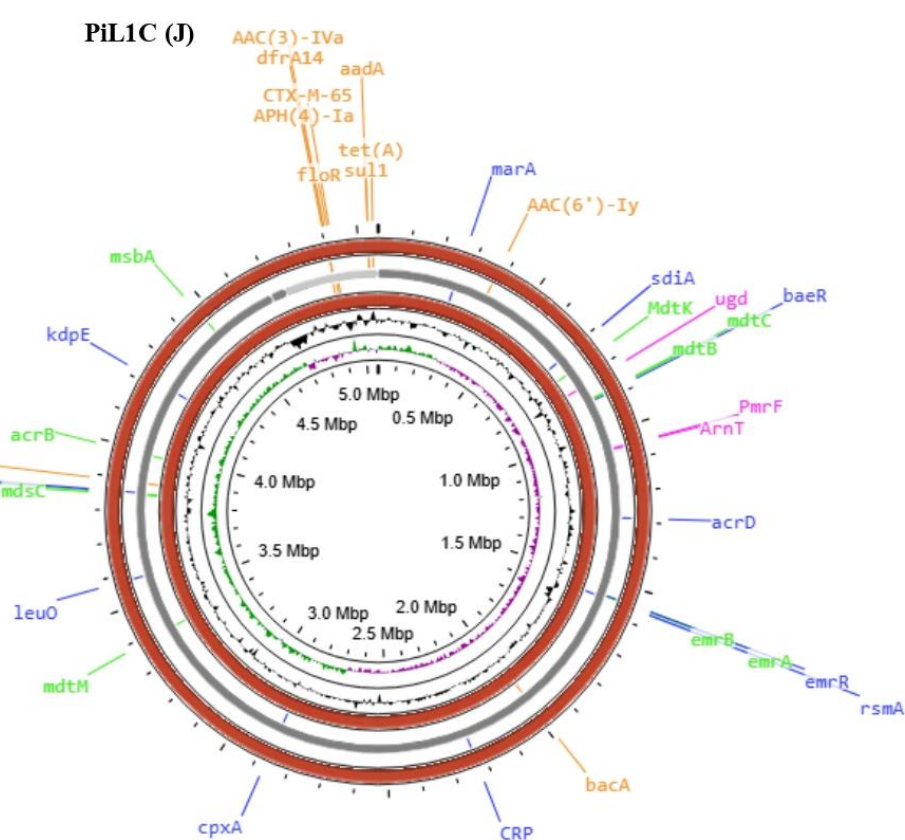
Anexo 3

Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato.

JBL1C (I)



PiL1C (J)

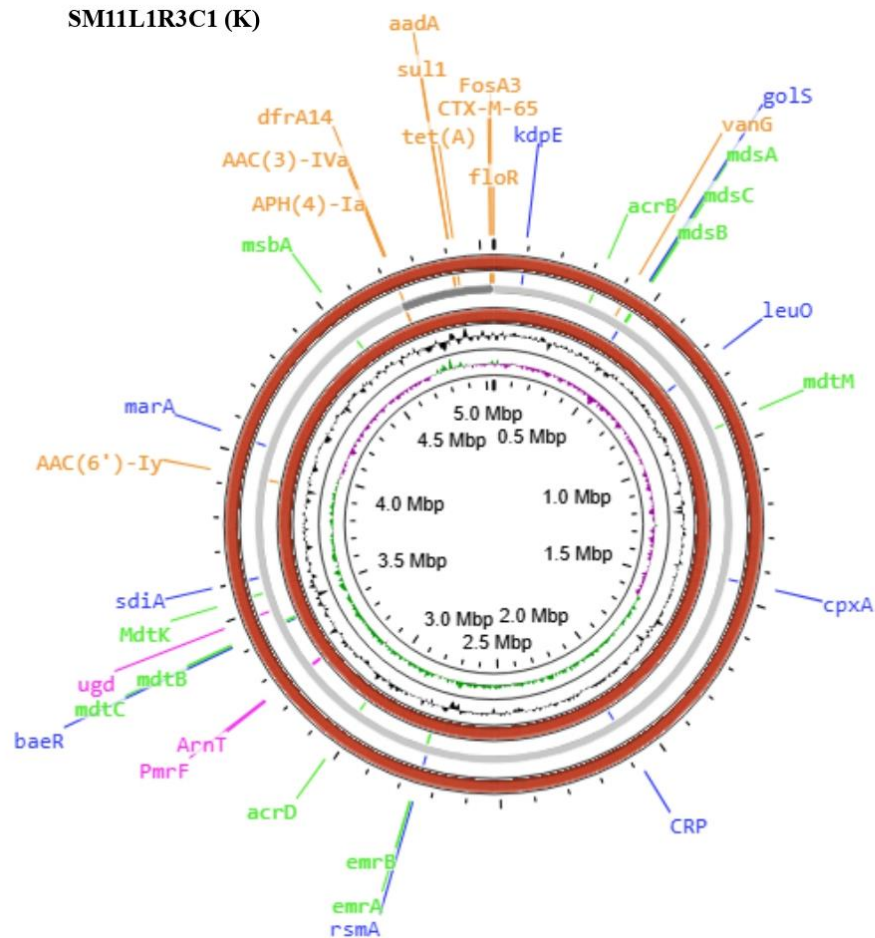


Continúa

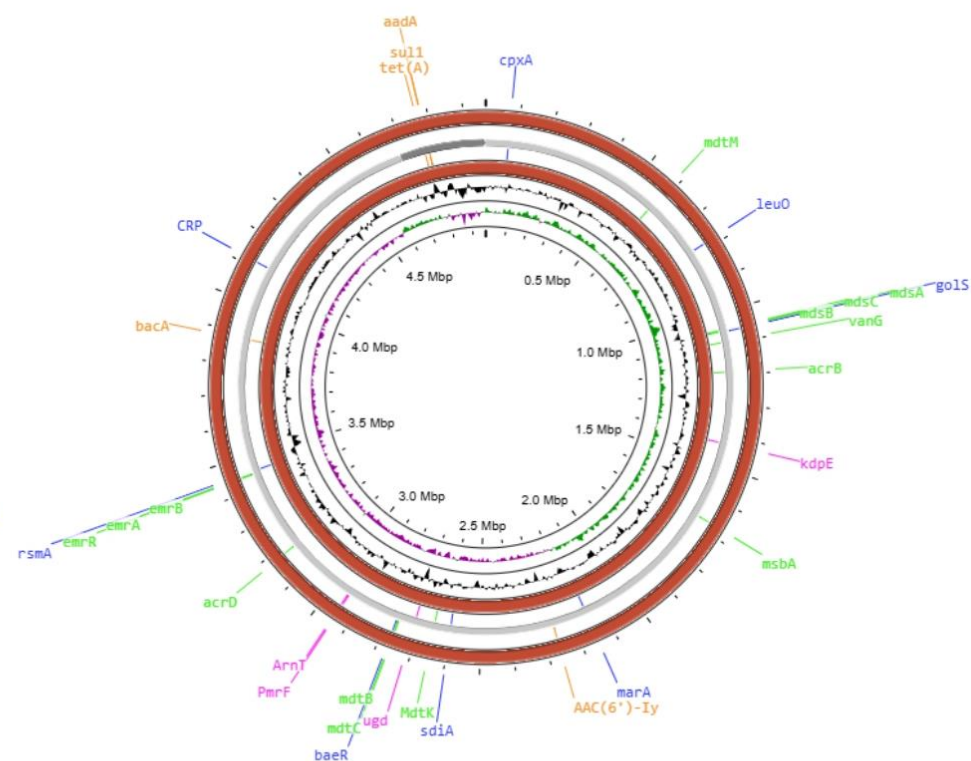
Anexo 3

Mapas circulares del genoma de las cepas aisladas a partir de pollo comercializado en mercados de la ciudad de Ambato.

SM11L1R3C1 (K)



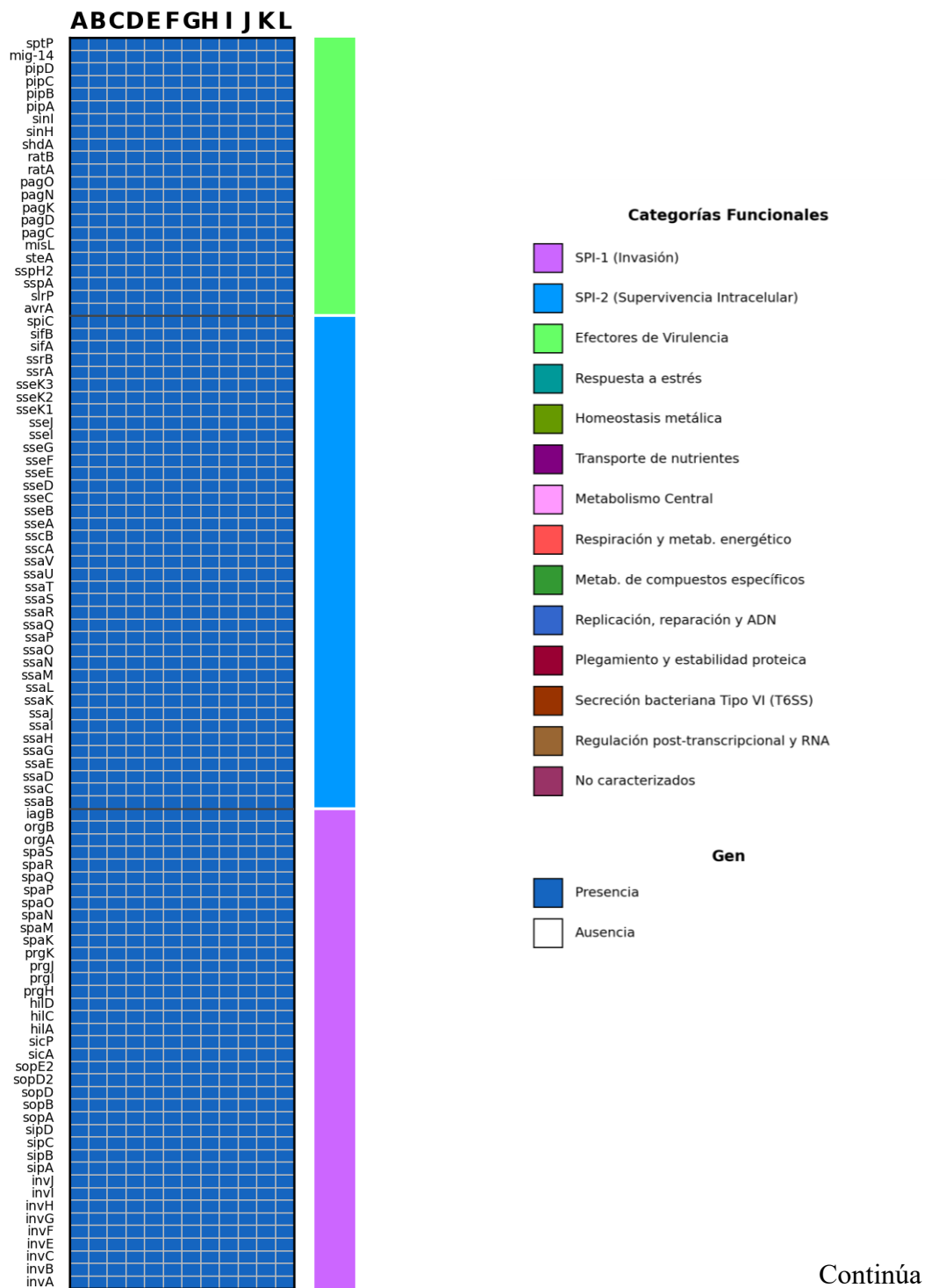
SM6L3R1C1 (L)



Nota. Los mapas circulares muestran la organización genómica de los aislamientos analizados, incluyendo regiones codificantes, contenido GC y orientación de genes predichos mediante herramientas de anotación bioinformática.

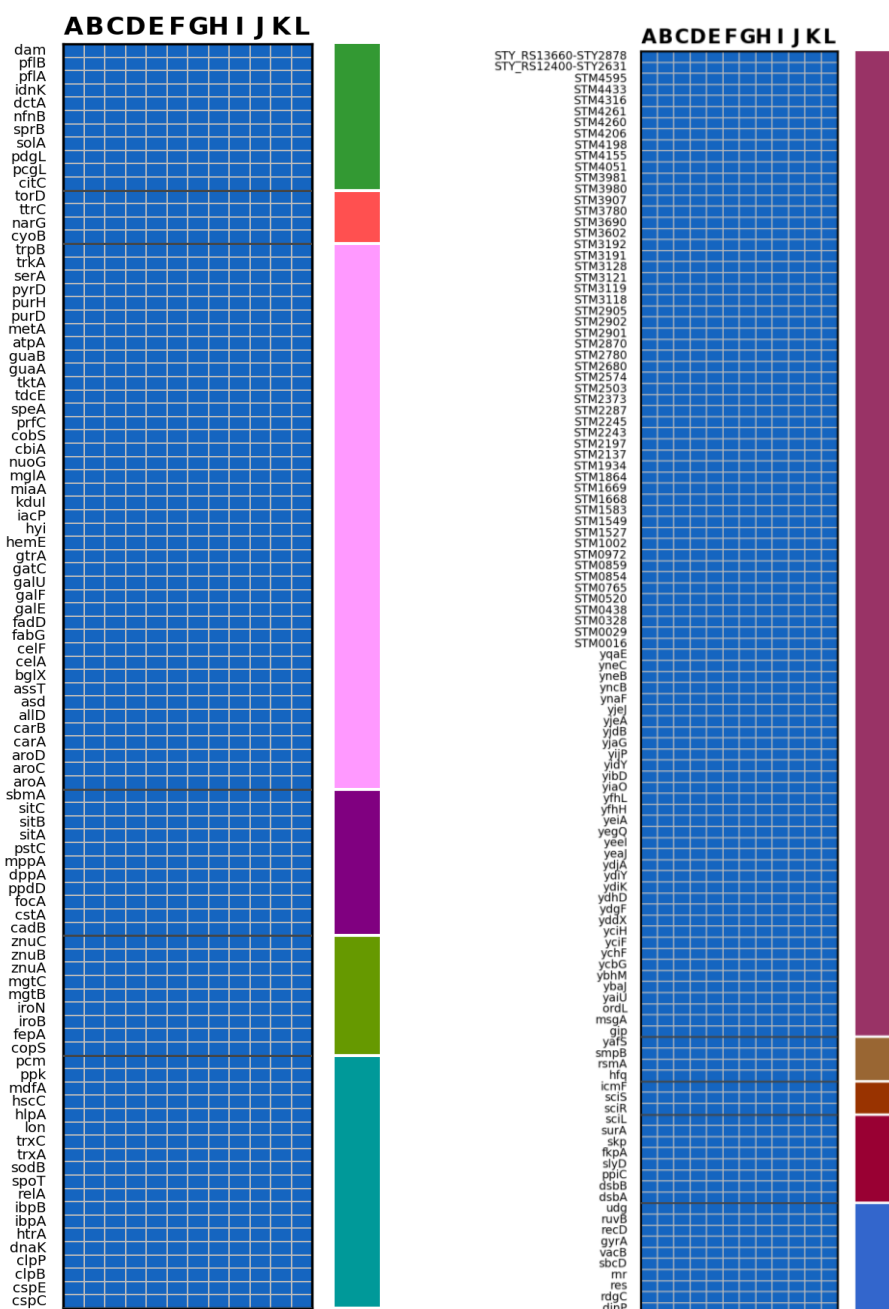
Anexo 4

Mapas de calor de los genes de virulencia de las cepas de *S. enterica*.



Anexo 4

Mapas de calor de los genes de virulencia de las cepas de S. enterica.



Nota. La figura muestra la presencia y ausencia de genes de virulencia agrupados en categorías funcionales. Las filas representan genes específicos y las columnas corresponden a las cepas analizadas. La coloración lateral indica la función general de cada grupo de genes, mientras que las celdas azules representan la presencia del gen y las celdas blancas su ausencia.

Anexo 5

Metadata de las cepas del clúster filogenético correspondientes a S. Infantis.

Überstrain	Fuente (Source Niche)	Año de recolección	Provincia (Region)	Fuente de muestra (Source Type)
SAL_ZA7885AA	Poultry	2014	Unknow	Avian
SAL_ZA7569AA	Poultry	2013	Unknow	Avian
SAL_ZA7868AA	Poultry	2014	Unknow	Avian
SAL_ZA7849AA	Poultry	2013	Unknow	Avian
SAL_ZA7792AA	Poultry	2016	Unknow	Avian
SAL_ZA7793AA	Poultry	2016	Unknow	Avian
SAL_ZA7796AA	Poultry	2016	Unknow	Avian
SAL_ZA7678AA	Poultry	2015	Unknow	Avian
SAL_ZA7680AA	Poultry	2015	Unknow	Avian
SAL_ZA7683AA	Poultry	2015	Unknow	Unspecified Meat
SAL_ZA7686AA	Poultry	2015	Unknow	Unspecified Meat
H	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
K	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
A	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
L	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
F	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
B	Poultry	2022	Tungurahua	Avian

Continúa

Anexo 5

Metadata de las cepas del clúster filogenético correspondientes a S. Infantis.

Uberstrain	Fuente (Source Niche)	Año de recolección	Provincia (Region)	Fuente de muestra (Source Type)
E	Poultry	2022	Tungurahua	Avian
SAL_CB4346AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB4382AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB4406AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_KB4326AA	Poultry	2020	Pichincha	Avian
SAL_KB4327AA	Poultry	2020	Pichincha	Avian
SAL_CB3939AA	Poultry	2017	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB3946AA	Poultry	2018	Pichincha	Avian
SAL_CB3949AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB3954AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB3952AA	Poultry	2018	Pichincha	Avian
SAL_CB4313AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_ZA7590AA	Poultry	2017	Cotopaxi	Animal Feed
SAL_ZA7591AA	Poultry	2017	Cotopaxi	Avian
SAL_ZA7593AA	Poultry	2017	Tungurahua	Avian
SAL_ZA7592AA	Poultry	2017	Cotopaxi	Avian
SAL_ZA7596AA	Poultry	2017	Tungurahua	Avian

Continúa

Anexo 5

Metadata de las cepas del clúster filogenético correspondientes a S. Infantis.

Uberstrain	Fuente (Source Niche)	Año de recolección	Provincia (Region)	Fuente de muestra (Source Type)
SAL_CB4320AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB4322AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB4325AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat
SAL_CB4333AA	Poultry	2018	Pichincha	Unspecified Meat

Nota. Metadata obtenida de Enterobase.

Anexo 6

Metadata de las cepas del clúster filogenético al que pertenece la cepa AtL3C (cepa D) siendo correspondientes a S. Kentucky.

Uberstrain	Fuente	Tipo de muestra	Año	País / Estado
SAL_AC6973AA	Avícola	Hígado de pollo	2023	EE.UU. / Oregon
SAL_HC0709AA	Avícola	Hígados de pollo	2024	EE.UU. / New York
SAL_HC0713AA	Avícola	Hígados de pollo	2024	EE.UU. / New York
SAL_HC0714AA	Avícola	Corazones de pollo	2024	EE.UU. / New York
SAL_IC1548AA	Avícola	Alas de pollo	2023	EE.UU. / Oregon
SAL_XB1988AA	Avícola	Pollo (muestra compuesta)	2024	EE.UU. / New Mexico
SAL_XB3253AA	Avícola	Hígado de pollo	2024	EE.UU. / Washington
SAL_XB6738AA	Avícola	Piernas de pollo	2023	EE.UU. / Oregon

Continúa

Anexo 6

Metadata de las cepas del clúster filogenético al que pertenece la cepa AtL3C (cepa D) siendo correspondientes a S. Kentucky.

Uberstrain	Fuente	Tipo de muestra	Año	País / Estado
SAL_AD6424AA	Avícola	G. gallus, pool de órganos	2024	EE.UU. / Mississippi
SAL_AC9441AA	Avícola	G. gallus, hisopo de arrastre	2023	EE.UU. / Ohio
SAL_PB1264AA	Avícola	Pollo empanizado crudo	2022	EE.UU. / Iowa
SAL_YB5042AA	Anim. compañía	C. lupus familiaris, heces	2023	EE.UU. / New York
SAL_OC2928AA	Avícola	G. gallus, intestino	2024	Canadá / British Columbia
SAL_FB7423AA	Humano	Homo sapiens, tejido	2018	Canadá
SAL_FD1393AA	Avícola	G. gallus, tejido compuesto	2025	EE.UU. / Alabama
SAL_SB4866AA	Avícola	Papel de pollito	2023	EE.UU. / Minnesota
SAL_SB4867AA	Avícola	Papel de pollito	2023	EE.UU. / Minnesota
SAL_SB4868AA	Avícola	Papel de pollito	2023	EE.UU. / Minnesota
SAL_SB4907AA	Avícola	Papel de pollito	2023	EE.UU. / Minnesota
SAL_SB4913AA	Avícola	Papel de pollito	2023	EE.UU. / Minnesota
D (AtL3C)	Avícola	Piel de carcasa de pollo	2022	Ecuador / Tungurahua
SAL_ZA7594AA	Avícola	Ponedoras, hisopo cloacal	2017	Ecuador / Cevallos
SAL_ZA7595AA	Avícola	Ponedoras, hisopo cloacal	2017	Ecuador / Pelileo

Nota. Metadata obtenida de Enterobase.