



# Universidad Nacional del Litoral

## Facultad de Ciencias Veterinarias

*Laboratorio de Ecología de Enfermedades y Laboratorio de Análisis de Alimentos. Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)*

*Tesis presentada para optar por el grado académico de  
Doctora en Ciencias Veterinarias*

## **“Ecoepidemiología de *Campylobacter* termotolerantes en agro-ecosistemas de la cuenca lechera santafesina.”**

**Autor: Veterinaria Melisa A. Saluzzo**  
**Director: Dr. Pablo M. Beldomenico**  
**Codirector: Dr. Laureano S. Frizzo**

A “Don Enrique”, de pocas  
palabras y mucho corazón...

## **AGRADECIMIENTOS:**

Aquí me siento al lado de una jarra Oxoid que me dice que le genero un vacío tremendo porque sabe que me voy. Entre placa y placa le voy contando lo que me va pasando y lo cuán agradecida estoy. Escribo a mucha gente que se ha cruzado en este tiempo, de todo lo que he aprendido en este camino.

Quiero agradecer enormemente a los dueños y empleados de los establecimientos que nos abrieron sus puertas para llevar adelante el trabajo, gracias por su “SI” y gran generosidad.

Quisiera hablarles de un amigo infaltable que ha estado en todas las campañas, él es “el Mate”, fiel testigo de largas jornadas, marcando un descanso en cada puesta de redes y abrigo de esas madrugadas de mucho frío.

Agradecer a mis compañeros de trabajo, a los estudiantes de grado y pasantes que han estado presentes tanto en el campo y análisis de datos como en el procesado de muestras, poniéndole mucha onda y anécdota. Y también, agradecer a mis directores por el tiempo dedicado y el conocimiento brindado.

También, agradezco a mis amigos que me dio la ciudad, por todo lo vivido y compartido; además, a mi familia y amigos que están a más de 800km que me acompañaron en este camino.

Y como siempre, dice el dicho “para lo último, lo mejor”, agradecer a Dios...

Gracias por todo, a todos...

# ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS:	i
ÍNDICE DE TABLAS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS.....	xii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
1. Introducción .....	4
1. 1. Género <i>Campylobacter</i> : generalidades .....	5
1. 2. <i>Campylobacter</i> termotolerantes y su impacto en la salud pública .....	7
1. 3. Ecoepidemiología de <i>Campylobacter</i> termotolerantes .....	10
1. 3. 1. Epidemiología de <i>Campylobacter</i> termotolerante en establecimientos de pollos de engorde .....	11
1. 3. 2. Epidemiología de <i>Campylobacter</i> termotolerante en establecimientos lecheros .....	13
1. 3. 3. Ecoepidemiología de <i>Campylobacter</i> termotolerante en aves silvestres ..	15
1. 3. 3. 3. Aspectos ecológicos de las aves silvestres asociados a la incidencia de CT.....	18
1. 3. 3. 4. Evidencia de transmisión de CT en la interfaz humano-doméstico-silvestre .....	19
2. Hipótesis y Objetivos .....	22
2. 1. Hipótesis .....	23
2. 2. Objetivo general .....	23
2. 3. Objetivos específicos.....	23
3. Materiales y Métodos .....	24
3. 1. Sitio de estudio.....	25
3. 2. Colecta de las muestras .....	28
3. 3. Procesamiento de las muestras.....	30
3. 3. 1. Aislamiento microbiológico .....	31
3. 3. 2. Identificación preliminar y conservación de los aislamientos .....	31
3. 4. Extracción genómica e identificación de género y especies de <i>Campylobacter</i> .....	32

3. 4. 1. Método de extracción genómica.....	32
3. 4. 2. Identificación de género .....	32
3. 4. 3. Identificación de especies .....	33
3. 5. Electroforesis en campo pulsado (Pulsed field gel electrophoresis PFGE) .....	34
3. 5. 1. Preparación del ADN genómico .....	34
3. 5. 2. Digestión del ADN genómico .....	35
3. 5. 3. Electroforesis en campos pulsados.....	35
3. 5. 4. Análisis de los patrones de PFGE.....	36
3. 6. Análisis estadístico .....	36
3. 6. 1. Uso de Software, variables de estudio y modelos estadísticos .....	36
3. 6. 2. Análisis a nivel de comunidad, orden, familia y especie de aves silvestres..	37
3. 6. 3. Análisis a nivel de especie de <i>Campylobacter</i> spp. de las aves silvestres.....	37
3. 6. 4. Análisis de dinámicas de patrones estacionales .....	37
4. Resultados.....	39
4. 1. Prevalencia y distribución de especies de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en los establecimientos pecuarios .....	40
4. 1. 1. Resultados generales .....	40
4. 1. 2. Prevalencia y distribución de <i>Campylobacter</i> spp. termotolerantes en los establecimientos de pollos de engorde .....	41
4. 1. 3. Prevalencia y distribución de <i>Campylobacter</i> spp. termotolerante en establecimientos lecheros.....	44
4. 1. 4. Comparación de prevalencias generales entre los establecimientos pecuarios .....	47
4. 2. CT en aves silvestres de establecimientos pecuarios .....	47
4. 2. 1. Descripción general de los resultados.....	47
4. 2. 2. Prevalencia de CT según grupo taxonómico .....	54
4. 3. Patrón temporal de <i>Campylobacter</i> termotolerantes.....	69
4. 3. 1. Descripción de las variables climáticas en los dos años de estudio .....	69
4. 3. 2. Patrón temporal de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en ambos tipos de establecimientos pecuarios.....	70

4. 3. 3. Patrón temporal de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en aves silvestres que habitan establecimientos pecuarios .....	73
4. 3. 4. Comparación del patrón temporal de <i>Campylobacter</i> termotolerantes de las aves silvestres con los pollos de engorde y con los bovinos .....	74
4. 4. Diversidad genotípica de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en establecimientos pecuarios.....	83
4. 4. 1. Diversidad genotípica de <i>Campylobacter jejuni</i> en establecimientos lecheros y pollos de engorde .....	83
4. 4. 2. Diversidad genotípica de <i>Campylobacter coli</i> en establecimientos lecheros y pollos de engorde .....	90
5. Discusión .....	93
5. 1. Especies y prevalencia de CT en diferentes compartimentos de establecimientos pecuarios .....	94
5. 2. Aspectos ecológicos de las aves silvestres en establecimientos pecuarios asociados a la presencia de <i>Campylobacter</i> termotolerante.....	103
5. 3. Patrones temporales de CT en establecimientos pecuarios, comparación entre aves silvestres con animales de producción y entre aves silvestres de ambos sistemas .....	106
5. 4. Diversidad genotípica en establecimientos pecuarios.....	108
6. Conclusiones .....	111
7. Bibliografía.....	114

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Secuencia de Primers, gen target y tamaño esperado de los fragmentos amplificados, utilizados en las PCR específicas de género y especie de <i>Campylobacter</i> termotolerantes.....	34
Tabla 2: Prevalencia y distribución de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en los diferentes compartimentos muestreados en establecimientos de pollos de engorde.....	42
Tabla 3: Frecuencia y distribución de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en los diferentes compartimentos muestreados en establecimientos lecheros .....	45
Tabla 4: Prevalencia y especies de CT de las aves silvestres en establecimientos pecuarios.....	49
Tabla 5: Prevalencia y distribución de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en aves silvestres en los establecimientos productivos.....	53
Tabla 6: Prevalencia de CT en las familias de aves silvestres en establecimientos pecuarios.....	54
Tabla 7: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia de CT en las aves silvestres en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.....	56
Tabla 8: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial asociado a la presencia de CT en las familias Passeridae, Furnariidae, Icteridae, Troglodytidae y otras familias de aves silvestres que pertenecen al Orden Passeriformes en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.....	57
Tabla 9: Prevalencia general de CT de distintos gremios tróficos y alimentación a nivel del suelo a los que pertenecen las aves silvestres que habitan en establecimientos pecuarios.....	60

Tabla 10: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en aves silvestres que pertenecen a los diversos gremios tróficos en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables estadísticamente significativas están en negrita.....	62
Tabla 11: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en aves silvestres según la alimentación a nivel del suelo en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables estadísticamente significativas están en negrita.....	63
Tabla 12: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia de CT en aves silvestres de los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.....	65
Tabla 13: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp en aves silvestres de los establecimientos pecuarios. Aquellas variables estadísticamente significativas están en negrita. Modelo <b>A</b> : <i>C. jejuni</i> ; Modelo <b>B</b> : <i>C. coli</i> ; Modelo <b>C</b> : <i>Campylobacter</i> spp .....	66
Tabla 14: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en gorriones domésticos ( <i>Passer domesticus</i> ) en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.....	67
Tabla 15: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de <i>C. jejuni</i> y <i>Campylobacter</i> spp. en gorriones domésticos ( <i>Passer domesticus</i> ) de los establecimientos pecuarios. Aquellas variables estadísticamente significativas están en negrita. Modelo A: <i>C. jejuni</i> ; Modelo B: <i>Campylobacter</i> spp.....	68
Tabla 16: Descripción de las variables climáticas por año y estación.....	69
Tabla 17: Distribución de las prevalencias por especie de <i>Campylobacter</i> termotolerantes según año, comportamiento y estación. ....	76

Tabla 18: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos de pollos de engorde.....	77
Tabla 19: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos lecheros.....	79
Tabla 20: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos lecheros.....	81

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Imagen de microscopia electrónica de <i>Campylobacter jejuni</i> (Public Domain) (Autor: De Wood, Pooley, USDA, ARS, EMU. Fuente: Agricultural Research Service (ARS) is the U.S. Department of Agriculture's chief scientific research agency. <a href="https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ARS_Campylobacter_jejuni.jpg">https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ARS_Campylobacter_jejuni.jpg</a> .....	5
Figura 2: Vías de infección de CT en humanos. Fuente: Retrospectiva de la importancia de <i>Campylobacter</i> en la salud humana, Condalab. <a href="https://www.condalab.com/int/es/blog/retrospectiva-de-la-importancia-de-campylobacter-en-la-salud-humana--n429">https://www.condalab.com/int/es/blog/retrospectiva-de-la-importancia-de-campylobacter-en-la-salud-humana--n429</a> .....	8
Figura 3 A: División política de la provincia de Santa Fe. B: Ubicación geográfica de los sitios de muestreo (establecimientos de pollos de engorde y tambo) en el departamento Castellanos. C: Ubicación geográfica de los sitios de muestreo (establecimientos de pollos de engorde y tambo) en el departamento Las Colonias. D: Ubicación geográfica de los sitios de muestreo (establecimientos de pollos de engorde y tambo) en el departamento La Capital.....	27
Figura 4: Proporción de los aislamientos de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni+C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp. en los establecimientos pecuarios. ....	40
Figura 5: Proporción de los aislamientos de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni + C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp. en establecimientos de pollos de engorde. ....	41
Figura 6: Prevalencia de CT en muestras recolectadas en establecimientos de pollos de engorde (las barras de error indican intervalos de 95% de confianza). ....	43
Figura 7: Proporción de aislamientos de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni+C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp. en establecimientos lecheros.....	44
Figura 8: Prevalencia de CT en muestras recolectadas en establecimientos lecheros (las barras de error indican intervalos de 95% de confianza). ....	46
Figura 9 A. Proporción de los Órdenes de las aves silvestres. En “Otros” fueron incluidos aquellos que representaron una proporción menor del 1,5%. B. Proporción de familias	

de aves silvestres muestreadas en establecimientos pecuarios que pertenecen al Órden Passeriformes. En “otras” fueron incluidas aquellas familias que representaron a una proporción menor/ igual del 2,5%.....	48
Figura 10: A. Proporción de aves silvestres halladas en establecimientos pecuarios que pertenecen a diversos gremios tróficos. B. Proporción de aves silvestres según su frecuencia de alimentación con respecto al suelo. ....	52
Figura 11: Proporción de aislamientos de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni + C. coli</i> y <i>Campylobacter spp.</i> en aves silvestres capturadas en establecimientos pecuarios. ...	53
Figura 12: Prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerante por Ordenes de aves silvestres. Las diferencias significativas fueron indicadas por distintas letras ( $p= 0,007$ ). .....	56
Figura 13: Prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerante de las familias que pertenecen al Orden: Passeriformes. Las diferencias significativas entre las familias fueron indicadas por las diferentes letras ( $p = 0,014$ ).....	58
Figura 14: Prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerante de las aves silvestres que se alimentan a nivel del suelo. La frecuencia de alimentación en relación al nivel del suelo están presentados con una diferencia significativa, indicadas por las diferentes letras ( $\text{Chi}^2 p = 0,019$ ).....	64
Figura 15: Prevalencia general y distribución de las especies de CT por estación y año de la totalidad de compartimentos que pertenecieron a los establecimientos pecuarios. .....	71
Figura 16: Prevalencia general y distribución de las especies de CT por estación y año en establecimientos de pollos de engorde. ....	72
Figura 17: Prevalencia y distribución de las especies de CT por estación y año en establecimientos lecheros.....	73

Figura 18: Prevalencia general y especies de CT en las aves silvestres en establecimientos pecuarios.....	74
Figura 19: Prevalencia general y distribución de las especies de CT de los pollos de engorde y las aves silvestres en establecimientos de pollos de engorde. ....	74
Figura 20: Prevalencia general y distribución de las especies de CT en los bovinos y las aves silvestres en establecimientos lecheros.....	75
Figura 21: Relación de correlación entre: A: proporciones de pollos de engorde con proporciones de aves silvestres; B: proporciones de <i>C. jejuni</i> de pollos de engorde con proporciones de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres; C: proporciones de <i>C. coli</i> de aves silvestres con proporciones de <i>C. coli</i> de pollos de engorde; D: proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres con proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. pollos de engorde. 78	
Figura 22: Relación de correlación entre: A: proporciones de bovinos con proporciones de aves silvestres; B: proporciones de <i>C. jejuni</i> de bovinos con proporciones de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres; C: proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. de bovinos con proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres. ....	80
Figura 23: Relación de correlación entre: A: proporciones de aves silvestres que habitan establecimientos de pollos de engorde con proporciones de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros; B: proporciones de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres que habitan establecimientos de pollos de engorde con proporciones de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros; C: proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres que habitan establecimientos de pollos de engorde con proporciones de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros. ....	82
Figura 24: Dendrograma elaborado con perfiles de PFGE en aislamientos de <i>Campylobacter jejuni</i> de los establecimientos pecuarios. ....	89
Figura 25: Dendrograma elaborado con perfiles de PFGE en aislamientos de <i>Campylobacter coli</i> de los establecimientos pecuarios .....	92
Figura 26: Interambio hipotético entre compartimentos en establecimientos de pollos de engordes.....	102

Figura 27: Intercambio hipotético entre compartimentos en establecimientos lecheros.

..... 103

# ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

<b>CT</b>	<i>Campylobacter</i> termotolerantes
<b>PCR</b>	del inglés Polymerase Chain Reaction; reacción en cadena de la polimerasa
<b>ARN</b>	ácido ribonucleico
<b>PCR-RFLP</b>	del inglés Restriction Fragment Length Polymorphism; polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción
<b>ADN</b>	ácido desoxirribonucleico
<b>DO</b>	Densidad Óptica
<b>PFGE</b>	del inglés Pulsed-Field Gel Electrophoresis; Electroforesis en Gel de Campo Pulsado
<b>MLST</b>	del inglés MultiLocus Sequence Typing; Tipificación Multilocus de Secuencias
<b>ETAs</b>	Enfermedad transmitida por los alimentos
<b>SGB</b>	del inglés Guillain-Barré Syndrome; Síndrome de Guillain-Barré
<b>ELISA</b>	del inglés enzyme-linked immunosorbent assay; ensimoinmunoanálisis de adsorción
<b>IgM, IgA y IgG</b> Inmunoglobulinas M, A y G	
<b>mCCDA</b>	agar modificado Desoxicilato-Cefoperazona-Carbón
<b>TBE</b>	Tris Borato EDTA
<b>UPGMA</b>	del inglés unweighted pair group method with arithmetic mean; agrupamiento mediante el promedio aritmético no ponderado
<b>MLMG</b>	modelos lineales mixto generalizados
<b>AIC</b>	criterio de información de Akaike
<b>Aut1</b>	otoño del primer año de muestreo;
<b>Aut2</b>	otoño del segundo año de muestreo
<b>Win1</b>	invierno del primer año de muestreo

<b>Win2</b>	invierno del segundo año de muestreo
<b>Spr1</b>	primavera del primer año de muestreo
<b>Spr2</b>	primavera del segundo año de muestreo
<b>Sum1</b>	verano del primer año de muestreo
<b>Sum2</b>	verano del segundo año de muestreo
<b>Cap</b>	Departamento La Capital
<b>Col</b>	Departamento Las Colonias
<b>Cas</b>	Departamento Castellanos
<b>PF</b>	Establecimiento pollo de engorde
<b>DF</b>	Establecimiento lechero
<b>Pasdom</b>	gorrión doméstico
<b>Furruf</b>	hornero
<b>Troaed</b>	tacuarita
<b>Colpic</b>	torcacita
<b>Agebad</b>	tordo músico
<b>Macrix</b>	picabuey
<b>P</b>	Pollo de engorde
<b>ccd</b>	<i>A. diaperinus</i> adulto c/ desinfección
<b>csd</b>	<i>A. diaperinus</i> adulto s/ desinfección
<b>lcd</b>	<i>A. diaperinus</i> larva c/ desinfección
<b>lsd</b>	<i>A. diaperinus</i> larva s/ desinfección
<b>msd</b>	Mosca domestica s/ desinfección
<b>mcd</b>	Mosca domestica c/ desinfección
<b>T</b>	Ternero
<b>V</b>	Vaca en lactancia
<b>Bo</b>	Botas de los empleados

- G** Gallina de traspatio
- W** agua de bebida dentro del galpón.

## RESUMEN

*Campylobacter* termotolerantes se encuentra entre los principales agentes causales de enfermedad diarreica en humanos a nivel mundial. Entre el 50% y el 80% de los casos de campilobacteriosis se originan de las gallinas (tanto en pollos parrilleros como en gallinas ponedoras), siendo la manipulación y la preparación de la carne de pollos responsables del 20% al 30% de los casos. La leche de vaca y los productos lácteos no pasteurizados también son vehículos comunes de la transmisión. El objetivo de este trabajo fue contribuir al conocimiento de la epidemiología de *Campylobacter* termotolerantes (CT) en establecimientos productivos de agro-ecosistemas de la cuenca lechera santafesina, con el objeto de generar información que permita aplicar medidas de manejo del riesgo sustentadas científicamente, las cuales puedan reducir la diseminación de CT y permitan disminuir su impacto en la salud pública. Para esto, un total de 6 establecimientos pecuarios de la zona centro de Santa Fe, Argentina, fueron monitoreados sistemáticamente; tres establecimientos de pollos de engorde y tres establecimientos lecheros. Un total de 4823 muestras fueron recolectadas de los sistemas pecuarios, las cuales incluyeron hisopados de cloaca/recto de animales de producción, aves silvestres, aves domésticas de traspatio, y muestras de vectores y fomites. El aislamiento de CT se realizó en condiciones de microaerofilia por método de filtración en agar mCCDA, luego de un enriquecimiento selectivo en caldo Bolton suplementado con antibióticos. Todos los aislamientos fueron identificados a nivel de especie (*C. jejuni* y *C. coli*) por PCR multiplex. CT fue detectado en pollos de engorde, bovinos, aves silvestres, aves domésticas de traspatio, moscas, estadíos de adulto y larva (*Alphitobius diaperinus*), leche, alimento, agua y botas de los empleados. La prevalencia general de CT fue 19,5% en los establecimientos de pollos de engorde y 8,1% en los lecheros. En ambos sistemas productivos, *C. jejuni* fue la especie dominante, seguida de *C. coli*, encontrándose ambas en mayor prevalencia en los establecimientos avícolas (*C. jejuni* 11,4%; *C. coli* 3,3%). Posteriormente, los aislamientos fueron evaluados mediante la técnica de electroforesis en gel de campo pulsado, detectándose una alta diversidad genotípica entre los aislamientos, principalmente en *C. jejuni*. Las aves silvestres presentes en ambos sistemas pecuarios, fueron el foco de atención en este estudio. El Orden Passeriformes fue el grupo de mayor abundancia en ambos sistemas productivos, en el que se destacan a los gorriones domésticos (*Passer domesticus*) como la especie dominante y de mayor prevalencia de CT. Además, la ausencia de un patrón estacional pero una alta prevalencia de *C. jejuni* y alta frecuencia de aislamientos compartidos entre aves silvestres y domésticas en granjas avícolas, pero no en tambos, sugiere que el tipo de

sistema productivo condiciona la dinámica de transmisión de CT. Los resultados son evidencia que las aves silvestres, especialmente los gorriones domésticos, tienen un rol potencial en la transmisión de CT en la interfaz doméstico – silvestre en el centro de la provincia de Santa Fe.

Palabras claves: *Campylobacter* termotolerantes – Aves silvestres – Sistemas pecuarios – Epidemiología – *Passer domesticus*

## ABSTRACT

Thermotolerant *Campylobacter* (TC) is one of the main causative agents of diarrheal disease in humans worldwide. Between 50% and 80% of campylobacteriosis cases originate from chickens (both broiler chickens and laying hens), with the handling and preparation of chicken meat being responsible for 20% to 30% of cases. Cow's milk and unpasteurized dairy products are also common vehicles of transmission. The objective of this work was to contribute to the knowledge of the epidemiology of TC in productive units of agro-ecosystems in the Santa Fe dairy basin, in order to apply scientifically supported risk management measures to reduce the dissemination of TC and allow decrease its impact on public health. For this purpose, six farms in the central area of Santa Fe, Argentina, were included in this study, of which three belonged to broiler farms and the remaining three to dairy farms. Overall, 4823 samples were collected from the farms systems, which included production animals, wild birds, backyard domestic birds, vectors and fomites. TC isolation were obtain under microaerophilic conditions by filtration method onto mCCDA agar, after selective enrichment in Bolton broth supplemented with antibiotics. All isolates were identified to the species level (*C. jejuni* and *C. coli*) by multiplex PCR. Thermotolerant *Campylobacter* was detected in broiler chickens, cattle, wild birds, backyard domestic birds, flies, adult and larval stages (*Alphitobius diaperinus*), milk, feed, water and farms worker's boots. The prevalence of TC was 19.5% in broiler farms and 8.1% in dairy farms. In both production systems, *C. jejuni* was the dominant species, followed by *C. coli*, both of which were more prevalent in poultry farms (*C. jejuni* 11,4%; *C. coli* 3,3%). The isolates were evaluated using pulsed field gel electrophoresis, detecting a high genotypic diversity among the isolates, mainly in *C. jejuni*. Wild birds being present in both livestock systems were the focus of attention in this study. The Passeriformes Order was the most abundant group in both production systems, in which house sparrows (*Passer domesticus*) stood out as the dominant species. In addition, the absence of a seasonal pattern but a high prevalence of *C. jejuni* and a high frequency of shared isolates between wild and domestic birds indicated that the type of production system conditioned this exchange of TC. Therefore, wild birds, especially house sparrows, play a role in transmission and are potential reservoirs of CT at the domestic-wild interface in the center of the province of Santa Fe.

**Keywords:** Thermotolerant *Campylobacter* – Wild birds – Livestock systems – Epidemiology – *Passer domesticus*

# 1. Introducción

### 1. 1. Género *Campylobacter*: generalidades

La familia *Campylobacteraceae* incluye a bacterias Gram negativas de los géneros, *Campylobacter*, *Arcobacter* y *Sulfurospirillum* (Vandamme et al., 2015). La mayoría de las especies pertenecientes al género *Campylobacter* pueden parasitar a algunas especies animales, colonizando principalmente sus órganos reproductores, el tracto intestinal y la cavidad bucal, generalmente sin causar signos clínicos, aunque pudiendo ser patógenas para el humano (Vandamme, 2000).

Las bacterias del género *Campylobacter* son bastones Gram negativos delgados (0,2–0,8 µm × 0,5–5 µm), curvados en espiral, no formadores de esporas. Tienen forma de S y ala de gaviota cuando dos células forman cadenas cortas (Vandamme et al., 2015). La mayoría de las especies son móviles, tienen un movimiento similar al de un sacacorchos por medio de un único flagelo polar sin vaina en uno o ambos extremos de la célula. Algunas especies, son inmóviles (ej: *Campylobacter gracilis*) o tiene múltiples flagelos, (ej: *Campylobacter showae*) (Debruyne et al., 2005) (Figura 1). La energía la obtienen de los aminoácidos o de los productos intermedios del ciclo del ácido tricarboxílico. La mayoría de las especies reducen el nitrato y no son productoras de pigmentos. Presentan un metabolismo respiratorio microaerofílico (5%O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) (Vandamme et al., 2015).

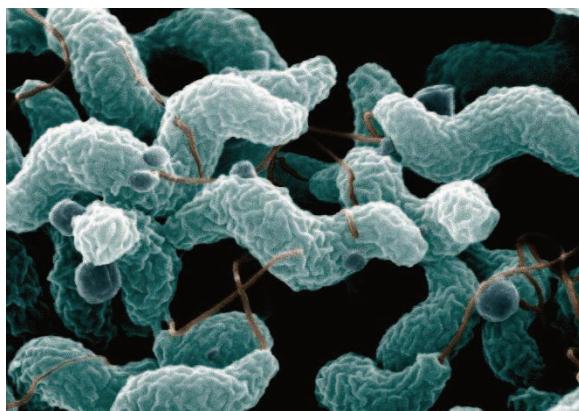


Figura 1: Imagen de microscopía electrónica de *Campylobacter jejuni* (Public Domain) (Autor: De Wood, Pooley, USDA, ARS, EMU. Fuente: Agricultural Research Service (ARS) is the U.S. Department of Agriculture's chief scientific research agency. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ARS\\_Campylobacter\\_jejuni.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ARS_Campylobacter_jejuni.jpg)

La temperatura óptima de crecimiento es de 30°C a 37°C; sin embargo, dentro del género, existen especies termófilas, las cuales crecen entre 37°C y 42°C, siendo su temperatura óptima 41,5°C. Bajo condiciones desfavorables, como la alta concentración de oxígeno atmosférico, temperaturas extremas o ausencia de nutrientes, se ha descripto la aparición de formas viables no cultivables (VBNC) (Facciola et al., 2017), las cuales no son aislables, haciendo necesaria la detección de fragmentos de ADN para determinar su presencia (Moore, 2001). La incapacidad de crecer por debajo de 30°C se debe a la ausencia de genes de proteína de choque frío, las que desempeñan un papel fundamental en la adaptación a bajas temperaturas. Levin (2007) sugirió que estos organismos deberían denominarse "termotolerantes" ya que no muestran una verdadera termofilia (crecimiento a 55°C o más). Entre ellas, se encuentran, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis* (Vandamme et al., 2005), *Campylobacter subantarcticus*, *Campylobacter peloridis* y *Campylobacter volucris* (Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019).

Debido a la peculiaridad del metabolismo respiratorio de los *Campylobacter* termotolerantes (CT), existen caldos y agar de enriquecimiento selectivo para el aislamiento. Existen, además, sustancias químicas captadoras de oxígeno, tales como la hemina y el carbón vegetal, que son incorporados a los medios de cultivo para el crecimiento y aislamiento de CT, junto con el uso de una atmósfera microaerófila. Las jarras anaeróbicas con Campy paks, sobres o bolsas se utilizan para generar una atmósfera adecuada con el cultivo en placa de agar (Heisick et al., 1984).

Dentro de las técnicas de identificación de género y especie se utilizan PCR convencional o PCR en tiempo real (Pitkänen, 2013; Vandamme et al., 2015) en las cuales, los genes diana son: el gen *rRNA 16S* (Hellein et al., 2011) y el gen *rRNA 23S* (Engvall et al., 2002). Entre otros métodos de detección de *Campylobacter* se puede utilizar la observación directa por microscopía en campo oscuro para detectar la presencia de células curvadas con movilidad en un preparado fresco, la coloración de Gram y la tinción con fucsina (Markey et al., 2013). Otras técnicas de identificación son pruebas de tipo fenotípicas como la tolerancia a diferentes temperaturas, la prueba de hidrólisis del hipurato e hidrólisis del indoxil acetato, la sensibilidad a antibióticos y, según la especie a identificar, la tolerancia a diferentes concentraciones de sustancias como NaCl y glicina, entre otras. (Patton et al., 1991; Ghosh et al., 2014). También existen *kits* de inmunoensayos (Khan et al., 2018) e hibridación fluorescente *in situ* (Lehtola et al., 2006).

Existen además diferentes herramientas para caracterizar la variabilidad intraespecífica de *Campylobacter*, que pueden utilizarse para realizar estudios epidemiológicos, asignar características individuales a una cepa para compararlas con las de otras cepas de la misma especie, establecer un origen común, fuentes de infección, estudios de cepas en un área geográfica, entre otros (Taboada *et al.*, 2013). Dentro de éstas herramientas, encontramos los métodos fenotípicos como la serotipificación (Lauwers y Penner, 2018), fagotipificación (Janež y Loc-Carrillo, 2013) y los métodos moleculares como aquellos que se basan en la digestión con enzimas de restricción de productos de PCR (PCR-RFLP) (Taboada *et al.*, 2013), amplificación al azar del ADN polimórfico (RAPD) (Taboada *et al.*, 2013), ribotipificación (Cox *et al.*, 2010), electroforesis en geles de agarosa de campo pulsado (PFGE) (Ribot *et al.*, 2001) o tipificación de secuencias multilocus (MLST) (Dingle *et al.*, 2001).

De los métodos mencionados anteriormente, la PFGE es considerada el método de tipificación de referencia para *Campylobacter* (Ribot *et al.*, 2001). En este método se determina un patrón de bandas de ADN de acuerdo al tamaño de los fragmentos generados por la digestión enzimática del ADN genómico (Goering, 2010; Zamudio *et al.*, 2011). Sin embargo, esta técnica es costosa y laboriosa, lo cual puede suponer una limitación importante para implementarla en los laboratorios. Por otro lado, la MLST es uno de los métodos más ampliamente utilizado para la tipificación molecular de cepas de *Campylobacter* que permite comparar la similitud de las cepas de *C. jejuni* de diversidad de orígenes. Esta técnica consiste en la obtención de siete tramos de secuencias de nucleótidos con variación genética neutra. Los resultados obtenidos de las secuencias proporcionan una base para futuras investigaciones la epidemiología y la genética de la población de *C. jejuni* (Dingle, 2001).

## **1. 2. *Campylobacter* termotolerantes y su impacto en la salud pública**

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) representan graves amenazas para la salud de millones de personas. En décadas pasadas se han documentado en todos los continentes graves brotes de ETAs, lo que demuestra su importancia desde el punto de vista social y de salud pública (FAO, 2004).

Dentro de los peligros microbiológicos más comúnmente implicados en brotes de ETAs, se destacan los *Campylobacter* termotolerantes (CT), encontrándose entre los principales agentes causales de enfermedad diarreica en humanos a nivel mundial (WHO, 2020). Según datos de programas de vigilancia epidemiológica europeos sobre

infecciones por CT en humanos, entre el 50% y el 80% de los casos de campilobacteriosis se originan de las gallinas (tanto en pollos parrilleros como en gallinas ponedoras), siendo la manipulación y la preparación de la carne de pollo responsables del 20% al 30% de los casos (EFSA, 2011). Se destaca que la contaminación cruzada durante la preparación de la carne aviar en el hogar es la vía más importante de exposición a *Campylobacter* (Signorini et al., 2013). La leche de vaca y los productos lácteos no pasteurizados también son vehículos comunes para la transmisión de *Campylobacter* spp. (Taylor et al., 1979; Evans, 1996; Javid, 2011). Las causas probables de la contaminación de la leche son el eventual contacto con heces bovinas o agua contaminada (Lejeune y Rajala-Schultz; 2009; Rapp et al., 2012) (Figura 2).

*Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, son consideradas las especies más importantes que causan enfermedades humanas, representando el 85% y el 10% de los casos informados de campilobacteriosis, respectivamente (Allos, 2001). Sin embargo, a diferencia de los países industrializados, en Sudamérica se han reportado prevalencias de *C. coli* del 25% (Fernandez, 2011). En menor medida, fueron reportados casos causados por *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis* (EFSA, 2018).

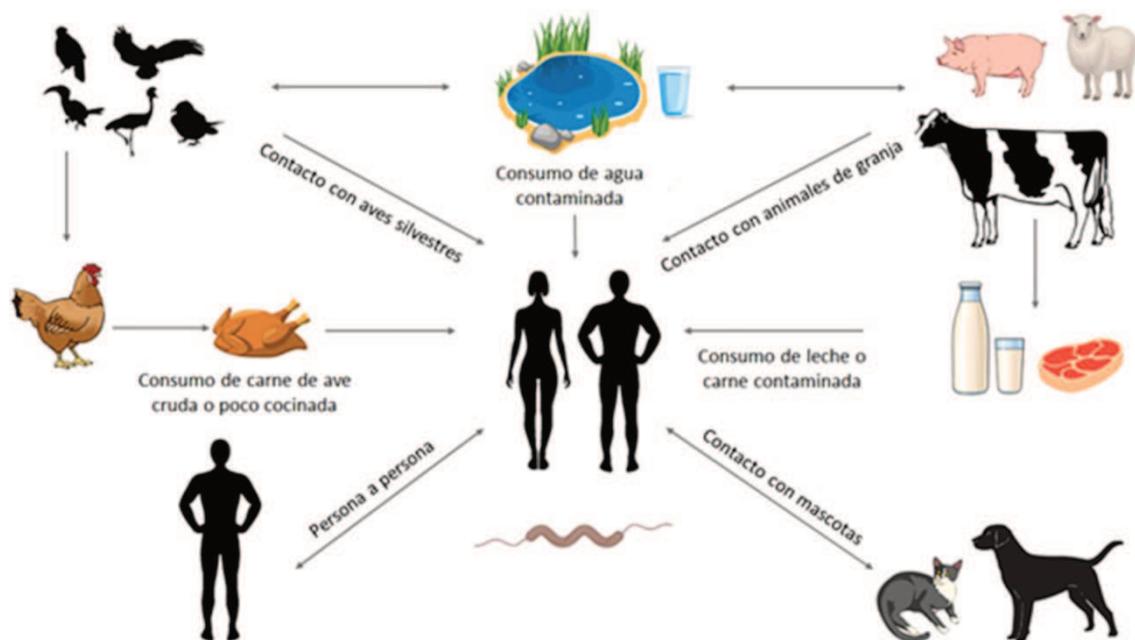


Figura 2: Vías de infección de CT en humanos. Fuente: Retrospectiva de la importancia de *Campylobacter* en la salud humana, Condalab. <https://www.condalab.com/int/es/blog/retrospectiva-de-la-importancia-de-campylobacter-en-la-salud-humana--n429>

La infección con CT en humanos causa un cuadro gastrointestinal (Ketley, 1997), presentándose con diarrea y dolor abdominal, acompañado por vómitos y fiebre; además, puede resultar en una deshidratación significativa (Kaakoush et al., 2015; Facciolà, et al., 2017). La gastroenteritis, en la mayoría de los casos, es autolimitada. El inicio de los síntomas ocurre de 24 a 72 h después de la ingestión de alimentos contaminados. El pico de la enfermedad puede durar de 24 a 48 horas y los síntomas pueden durar de tres a siete días (Blaser, 1997; Blaser y Engberg, 2008). También, se han descripto de manera infrecuente un número de complicaciones post-diarréicas (infecciones y secuelas extraintestinales), las que pueden ser graves y en ocasiones mortales (Zilbauer et al., 2008). Actualmente se reconoce al *C. jejuni* como la causa bacteriana más frecuente de síndrome de Guillain-Barré (SGB), presentando dos tipos de patologías neuronales: polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda en un 42% y neuropatía axial aguda en un 72% de los casos. De igual manera, las infecciones con *Campylobacter* se han asociado con la presentación del síndrome de Reiter, conocida como artritis reactiva, que involucra signos de artritis, conjuntivitis y afecciones del tracto urinario y genital (Acosta et al., 2007; Rees et al., 1995).

En países en desarrollo, la gastroenteritis por *Campylobacter* es restringida a los niños menores de 5 años. Sin embargo, en países desarrollados, el grupo etario afectado son los adultos jóvenes, entre 15 y 44 años (Butzler, 2004; Coker et al., 2002). Estas diferencias se atribuyen a la exposición frecuente durante la infancia en países en desarrollo, la cual favorece a la inmunidad adquirida (Rao et al., 2001), dado que la mayoría de los casos son asintomáticos (Cawthraw et al., 2000; Fernandez, 2011). Otros autores lo relacionan a las bajas condiciones de saneamiento básico, promoviendo mayor oportunidad de transmisión de estos agentes (Grados et al., 1988; Oberhelman et al., 2003). Asimismo, fueron halladas diferencias en la prevalencia entre zonas rurales y urbanas, ya que se debe a la asociación con la exposición a la producción pecuaria en personas de 15 a 34 años, relacionada al tipo de ocupación (Lévesque et al., 2013).

Según datos de vigilancia de casos de campilobacteriosis en Europa y Oceanía, se observan tendencias estacionales, con picos principalmente en el verano (Nylen et al., 2002). Los factores de riesgo que predisponen a la infección por *Campylobacter* durante estos meses incluyen el contacto con animales, el mayor consumo de alimentos preparados a la parrilla, el consumo de agua no tratada de arroyos y otras fuentes naturales (Eberhart-Phillips et al., 1997).

En casi todos los países de Sudamérica, se ha reportado *Campylobacter* como causa importante de cuadros diarreicos, con mayor frecuencia en niños menores de dos años. Sin embargo, esta frecuencia, disminuye a medida que se avanza en edad (Fernandez, 2011). Los países que presentaron reportes con prevalencias más altas fueron Argentina, Ecuador, Paraguay y Perú (Rodríguez *et al.*, 2015). En Argentina, los estudios de prevalencia de CT realizados en humanos son escasos y solo se reportaron en las provincias de Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe. Los mismos coinciden en que la especie más frecuentemente reportada es *C. jejuni*. Se estima que el número anual de casos de campilobacteriosis en Argentina supera el millón, lo que corresponde a una tasa de incidencia anual del 2,77% (Signorini *et al.*, 2013). Otros trabajos informan que CT presenta mayor incidencia en comparación a otros patógenos entéricos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. (Notario *et al.*, 1996; López *et al.*, 2003; Giugno *et al.*, 2010; Fuentes *et al.*, 2010).

Según datos del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud del Ministerio de Salud de la Nación Argentina, las diarreas agudas ocurren con una tasa de 16,6 casos cada 100.000 personas nacidas vivas. Dentro de las diarreas agudas informadas, *Campylobacter* es el segundo agente etiológico en orden de importancia según casos reportados de infecciones en niños menores a 5 años. Las provincias que reportaron casos positivos fueron Neuquén, Salta, San Luis, Río Negro, Santa Fe, La Pampa, Buenos Aires y Entre Ríos (Boletín de Vigilancia, Ministerio de Salud Argentina, 2014). Es importante notar que el número de casos con diagnóstico etiológico es muy bajo y que no todos los laboratorios disponen de las capacidades analíticas para aislar *Campylobacter*, lo que puede resultar en una subestimación de la prevalencia de la enfermedad, y de la real significancia de los casos y brotes reportados (Fuentes *et al.*, 2010; Huerta *et al.*, 2013; Zbrun *et al.*, 2013).

### **1. 3. Ecoepidemiología de *Campylobacter* termotolerantes**

La incidencia de campilobacteriosis en humanos está relacionada con la prevalencia de *Campylobacter* en producción primaria y con las medidas de prevención de la contaminación cruzada a lo largo de la cadena de producción (EFSA, 2011; Zbrun *et al.*, 2017; Rossler *et al.*, 2019). Existe una relación lineal entre la prevalencia de *Campylobacter* en pollos de engorde y el riesgo para la salud pública.

En Argentina, existe consumo predominante de tres tipos de carnes: aviar, bovino y porcina, con un consumo *per cápita* de 45,7 kg/habitante/año, 47,6 kg/habitante/año y 15,8 kg/habitante/año, respectivamente. A pesar de la caída promedio en el consumo de la carne aviar y bovina, siguen prevaleciendo sobre la carne porcina (MAGyP, 2021). La provincia de Santa Fe es la principal productora de leche en el país, con una capacidad industrial cercana a los 9.300.000 l/día. Los departamentos más importantes de la cuenca lechera santafesina son Las Colonias y Castellanos, y en menor medida La Capital (Lácteos, 2022). Por esa razón es de suma importancia conocer la ecoepidemiología de CT en sistemas productivos primarios para luego aplicar las medidas de prevención y control del agente en cuestión.

### **1. 3. 1. Epidemiología de *Campylobacter* termotolerante en establecimientos de pollos de engorde**

A pesar de la alta prevalencia CT en pollos, estos permanecen asintomáticos (Young et al. 2007) y por ello la bacteria se considera comensal (Young et al. 2007; EFSA 2010; Hermans et al. 2012). Esto determina que en la literatura la presencia de CT en aves se denomine “colonización” y en humanos “infección”. No obstante, ser comensal implica que el agente no tiene costo para el hospedador, y por ende la relación con la bacteria no es de parasitismo sino de comensalismo. Varios estudios han informado de la capacidad de CT para abandonar el intestino del pollo y colonizar otros órganos, principalmente el hígado (Van Deun et al. 2007; O’Leary et al. 2009; Jennings et al. 2011).

En cuanto a la respuesta inmune a infecciones por *C. jejuni*, Cawthraw et al., (1994) desafilaron oralmente con la cepa de *C. jejuni* a pollitos de un día de edad y mostraron un aumento significativo en los anticuerpos circulantes, detectados por medio de un inmunoensayo con enzimas asociadas (ELISA). Los niveles de anticuerpos alcanzaron su máximo a las 5, 7 y 9 semanas después de la infección detectando IgM, IgA e IgG, respectivamente. Además, de detectar anticuerpos circulantes, también fue detectado la expresión de genes de citoquinas proinflamatorias en respuesta a *C. jejuni* (Shaughnessy et al., 2009). CT parecería modular el sistema inmunológico intestinal e inducir respuesta inmune sistémica (Chagneau et al., 2023). Esta respuesta inmune tiene un costo para las aves, por lo que la relación ave-CT sería una de parasitismo y no de comensalismo. El presente trabajo trata sobre la epidemiología de CT, donde debemos tener en cuenta que ‘infección’ no implica presencia de enfermedad aparente (en la naturaleza la mayoría de las infecciones son subclínicas), nos referiremos a su

presencia en aves y otros animales como 'infección', y no 'colonización' como en la literatura tradicional.

La crianza de los pollos de engorde generalmente se realiza en sistemas intensivos en galpones cerrados. En estos sistemas, la población de un galpón se renueva completamente. Una vez que un lote sale del galpón para su comercialización, posteriormente ingresa uno nuevo con pollitos bebés. La contaminación de un lote nuevo puede darse cuando el lote anterior estuvo infectado y quedó CT en el ambiente del galpón (Stern et al., 2001).

Cuando un lote de pollos de engorde se expone por primera vez a CT, generalmente el patógeno se propaga rápidamente, alcanzando una prevalencia cercana al 100% de las aves (Lindblom et al. 1986; Jacobs-Reitsma et al. 1995). Cada ave infectada excreta CT de forma intermitente (Achen et al. 1998). A medida que las aves maduran, la probabilidad de infección y el tiempo de excreción de CT decrecen (Pokamunski et al., 1986; Achen et al., 1998; Lindblom et al., 1986; Kaino et al., 1988).

En los pollos de engorde, *Campylobacter* es detectado a partir de las tres semanas de edad, con una alta tasa de excreción por materia fecal y rápida diseminación dentro del galpón en condiciones de producción comercial (Allen et al., 2011; Food Standards Agency, 2008; Newell et al., 2003). Las infecciones antes de las tres semanas de edad son raras y esto se atribuye a que los anticuerpos maternos protegen contra el agente en el transcurso de ese período (Cawthraw and Newell, 2010). Sin embargo, en otro trabajo se halló que infecciones por CT fueron detectadas en pollos menores a una semana de edad (Zbrun et al., 2015).

En estudios realizados en Europa, la prevalencia de galpones positivos a CT varió entre el 2% y el 100%, presentando los países del Norte de Europa prevalencias más bajas que los países del Sur (EFSA, 2010). Esta diferencia puede deberse a la influencia de patrones climáticos y estacionalidad que varían con la latitud, aunque también a diferencias en la estructura y gestión de la industria (EFSA, 2011). Países del norte de Europa tienen picos de prevalencia en verano más pronunciados en comparación con los países del sur (EFSA, 2010a; Nylen et al., 2002). Estas diferencias podrían ser atribuidas a la presencia de moscas, agua contaminada, mayor ventilación en los galpones, entre otros (EFSA, 2011).

El agente se encuentra ampliamente distribuido en el entorno de los establecimientos, sin embargo, la identificación de las fuentes de infección y los factores de riesgo que influyen en la introducción de *Campylobacter* son complejos (Shain et al., 2015). La transmisión vertical de *C. jejuni* en pollos de engorde ha sido estudiada ampliamente, concluyéndose que la probabilidad de que ocurra en condiciones naturales es nula. Un trabajo experimental sugirió que la infección natural del contenido del huevo es debida a la contaminación fecal de la superficie externa y la penetración a través de grietas en la cáscara (Lindblom et al., 1986; Pearson et al., 1996; Zbrun et al., 2013). Por el contrario, la transmisión horizontal de *Campylobacter* en el ambiente dentro de los galpones y desde el ambiente hacia los pollos es considerada la forma más importante de diseminación de este microorganismo (Newell et al., 2011). Esta diseminación se da a través de vectores biológicos presentes en inmediaciones del establecimiento (animales de la fauna de los alrededores) y/o fomites (cama, agua e indumentaria de trabajo de los empleados) (Clark and Bueschkens, 1988; Kazwala et al., 1990, 1992; Shanker et al.; 1990; Pearson et al., 1993; Hermans et al., 2011b; Meerburg y Schoelitz, 2018).

### **1. 3. 2. Epidemiología de *Campylobacter* termotolerante en establecimientos lecheros**

En el sistema productivo lechero, los individuos permanecen varios años dentro de estos, lo cual pueden existir factores relacionados con los animales que hagan que algunos individuos sean más resistentes que otros a la infección por *Campylobacter* (Hakkinen et al., 2009). Esto puede causar estado de portador con eliminación intermitente, mientras que algunos individuos excretan CT de manera permanente, otros individuos se consideran negativos. Según Wesley et al. (2000), un gran tamaño de los rodeos puede contribuir a la transmisión de la infección debido al alto número de hospedadores susceptibles que pueden verse expuestos continuamente al contacto con los portadores.

La dinámica de infección por CT difiere entre las vacas adultas y los terneros, siendo la frecuencia de infección mayor en los últimos (Grau, 1991). La mayor incidencia en terneros puede estar relacionada con que el rumen no está completamente desarrollado, y el consumo de leche o sustituto de la leche que permite una mayor supervivencia y paso de CT al tracto intestinal. Si bien CT se ha detectado en el abomaso, raramente es reportado en el rumen de terneros y bovinos adultos, lo que sugiere la posibilidad que

la bacteria no crezca en ese compartimento y que su presencia en rumen sea el resultado de una ingesta reciente (Grau, 1988; Grau, 1991).

En el tambo, CT se distribuye ampliamente tanto en el ambiente circundante como en los animales de producción. Sin embargo, la transmisión de genotipos entre el ganado y el ambiente parece ser limitada, y por ello se especula que CT ambientales tienen una importancia reducida como fuente de infección para el ganado lechero (Kwan et al., 2008; Sanad et al., 2013). No obstante, se demostró que aislamientos obtenidos del ambiente y la fauna tenían mayor similitud, siendo distintos a los obtenidos de los bovinos dentro de una misma área geográfica. Esto sugiere que la fauna contamina el ambiente y puede infectarse a partir del contacto con ambientes contaminados, pero probablemente esas bacterias no circulen en bovinos (Kwan et al., 2008). Es probable que CT no sobreviva el tiempo suficiente en el ambiente como para infectar al bovino, excepto en el agua, donde se ha informado de una supervivencia prolongada (Cools et al. 2003). Los aislamientos persistentes pueden representar genotipos especialmente adaptados para infectar el intestino bovino y la resistencia individual a la infección también puede diferir entre animales de un mismo rodeo (Kärenlampi et al. 2007; McCarthy et al. 2007; Hakkinen et al., 2009). Al nacer, los terneros se encuentran libres de CT y adquieren el agente por el contacto estrecho con las deposiciones diarias de otros bovinos. La excreción de CT comienza a los 4 días de nacer (Stanley et al., 1998; Grau, 1991).

En un estudio en rebaños lecheros realizado en el Reino Unido se observó un patrón estacional, con picos en primavera y otoño. Los picos estacionales coinciden con la transición de invierno al pastoreo de primavera y del pastoreo de otoño retornando a la estabulación de invierno. Esta dinámica estacional, puede reflejar un cambio en la dieta o la fuente de agua durante los períodos de pastoreo (Stanley et al., 1998). Sin embargo, otros autores afirman que la prevalencia fue mayor en verano y otoño; y más baja en invierno (Meanger y Marshall 1988; Rahimi et al., 2017). Meanger y Marshall (1988) sugirieron que las condiciones climatológicas están directamente relacionadas con la presencia de CT, a diferencia de Stanley et al, (1998), quienes no encontraron evidencia alguna al respecto.

### 1. 3. 3. Ecoepidemiología de *Campylobacter* termotolerante en aves silvestres

Las aves son el grupo de vertebrados terrestres con mayor riqueza de especies (Sibley y Monroe, 1990) y, debido a la capacidad de vuelo, se encuentran en todas las eco-regiones (Newton, 2003). El número de estudios científicos que abordan la infección por CT en aves silvestres es muy limitado. No obstante, existen reportes de CT en aves silvestres en todo el mundo. A la fecha, la mayor cantidad de estudios fueron realizados en Europa (Herman et al., 2003; Bull et al., 2006; Messens et al., 2009; Colles et al., 2009; Ridley et al., 2011; Hald et al., 2016), continuando con América del Sur (Rossler et al., 2020; Tresierra – Ayala et al., 2006; Tresierra – Ayala et al., 1995; Fernandez et al., 1988; Fernandez et al., 1996), y unos pocos trabajos en Asia (Chuma et al., 2000; Mohamed; 2014; Abdollahpour et al., 2015), Oceanía (French et al., 2009; Mohan, 2013; Mohan et al., 2015), América del Norte (Nesbit et al., 2001; Sippy et al., 2012; Taff et al., 2016), Antártida (Leotta et al., 2006; Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019) y África (Mdegela et al., 2006).

Los ambientes en donde se estudiaron CT en aves silvestres son diversos, incluyendo sistemas productivos, ambientes urbanos y naturales. La mayor cantidad de estudios se realizó en sistemas productivos, principalmente establecimientos de pollos de engorde, en la mayoría de los continentes (Ridley et al., 2011; Bull et al., 2006; Sippy et al., 2012; Hald et al., 2016; Mohamed, 2014; Rossler et al., 2020). Estos sitios son de especial relevancia, ya que el pollo representa el principal reservorio de CT (EFSA, 2018). En segundo lugar en cantidad de estudios se encuentran los ambientes urbanos, principalmente plazas y parques (en Asia, América del Sur y Oceanía), ya que son hábitat propicio para las aves y lugares de esparcimiento para niños (Tresierra – Ayala et al., 1995; Tresierra – Ayala et al., 2006; French et al., 2009; Mohan et al., 2013; Abdollahpour et al., 2015; Mohan, 2015). Por último, estudios realizados en la Antártida son los únicos que reportan CT en aves silvestres en ambientes naturales. Estos trabajos cobran relevancia por la significancia que tiene encontrar CT en lugares tan remotos (Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019).

Se destaca que en todos los ambientes se encontró CT infectando aves silvestres. En general, la especie de CT hallada con mayor frecuencia fue *C. jejuni*, y la presencia de otras especies dependió del tipo de ambiente. Es interesante que *C. coli* sólo se reportó en ambientes productivos (Hald et al., 2015), mientras que *C. lari* predominó en ambientes naturales, seguida por *C. jejuni*, *C. subantarcticus*, *C. peloridis* y *C. volucris* (Leotta et al., 2006; Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019). En ambientes urbanos sólo fue reportado *C. jejuni* (Tresierra – Ayala et al., 1995; Tresierra – Ayala et

al., 2006; Mohan et al., 2013; Abdollahpour et al., 2015; Mohan, 2015). A pesar de que *C. jejuni* se distribuye mundialmente, su prevalencia varía según el tipo de ambiente, es mayor en ambientes productivos, y decrece en ambientes urbanos y naturales (Mohan et al., 2013; Mohan, 2015; Hald et al., 2015; Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019). A la fecha no existen hipótesis que ofrezcan explicaciones sobre esta distribución heterogénea de las especies de CT.

Los CT se encuentran en aves silvestres que pertenecen a diversos Órdenes taxonómicos. Sin embargo, entre ellos varían los niveles de prevalencias reportados. Los Órdenes que presentaron mayores prevalencias fueron Passeriformes, Columbiformes, Anseriformes, Sphenisciformes, y Charadriiformes. Los dos primeros son los que predominaron en ambientes urbanos y productivos, y los dos últimos en ambientes naturales. Sin embargo, Anseriformes sólo fueron reportados con CT en ambientes urbanos. Los Passeriformes con mayores reportes de CT fueron el estornino europeo (*Sturnus vulgaris*) y el gorrión doméstico (*Passer domesticus*); para Columbiformes, la paloma domésica (*Columba livia*) y para Anseriformes la especie con mayor cantidad de reportes fue el pato azul (*Hymenolaimus malacorhynchos*). En ambientes naturales, los aislamientos corresponden a pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*), skúa parda (*Stercorarius antarcticus*) y gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) (Tresierra – Ayala et al., 1995; Tresierra – Ayala et al., 2006; French et al., 2009; Mohan et al., 2013; Abdollahpour et al., 2015; Mohan, 2015; Johansson et al., 2018; Cerdà-Cuéllar et al., 2019).

Se sabe que la mayor diversidad de las aves se encuentra en la región Neotropical. Esta región se extiende desde el sur de México hasta el extremo sur de Sudamérica, y alberga alrededor del 35% de las especies de aves del mundo (Newton, 1998). Teniendo en cuenta esto, el conocimiento actual de CT en aves de Sudamérica es escaso. Sólo existen reportes en Chile, Perú y Argentina. Los Órdenes que reportaron la presencia de CT fueron similares a los del resto de las regiones. La especie más común de CT hallada en Sudamérica también fue *C. jejuni*, continuando con *C. coli* y, por último, *C. lari* (Fernandez, 1988; Tresierra – Ayala et al., 1995; Fernandez et al., 1996; Tresierra – Ayala et al., 2006, Rossler et al., 2020).

#### **1. 3. 3. 1. CT en aves silvestres en diferentes ambientes**

Los CT en aves silvestres se han estudiado principalmente en sistemas productivos primarios, sobre todo en las granjas de pollos de engorde. Las prevalencias generales halladas en esas granjas fueron entre 0% a 24% (Ridley et al., 2011; Bull et al., 2006;

Sippy et al., 2012; Hald et al., 2016; Mohamed, 2014; Rossler et al., 2020). Las especies de CT halladas fueron *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y otras de las que no se pudo determinar la especie. Dentro de ellas, la especie dominante fue consistentemente *C. jejuni*, con prevalencias entre 6,7% a 92,3%, seguida por *C. coli*, presentándose de 0% a 16%. En tercer lugar un reporte de *C. lari* con 6 % de prevalencia (Ridley et al., 2011; Bull et al., 2006; Colles et al., 2009; Mohamed, 2014; Rossler et al., 2020; Sippy et al., 2012; Hald et al., 2016). En un trabajo que estudió las prevalencias de especies de CT en las aves silvestres en otros tipos de establecimientos (tambos y granjas de cerdos), los valores fueron similares a los establecimientos de pollos de engorde (Hald et al., 2016).

En zonas urbanas, como plazas y periferia de las ciudades, la prevalencia general de CT fue desde 8% al 46%. En estos trabajos, sólo pudo ser identificado a nivel de especie *C. jejuni*, comprendiendo prevalencias del 8 al 25%, siendo el resto de las especies sin identificar, con prevalencias entre 9,1 y 46% (Abdollahpour et al., 2015; Tresierra – Ayala et al., 2006; Tresierra – Ayala et al., 1995; French et al., 2009; Mohan, 2015; Mohan et al., 2013; Gabriele-Rivet et al., 2016). Estos reportes tienen implicancias para el manejo de la contaminación de CT en los lugares de recreación y esparcimiento por los riesgos asociados a la salud pública (Mohan et al., 2013). Es de resaltar que en ninguno de estos estudios se ha reportado la presencia de *C. coli*.

En ambientes naturales, hasta el momento CT sólo fue estudiado en aves silvestres de la Antártida y Sub-Antártida, reportando la presencia de *C. lari*, *C. jejuni*, *C. subantarcticus*, *C. peloridis*, y *C. volucris* (Leotta et al., 2006; Cerdà-Cuéllar et al., 2019; Johansson et al., 2018; García-Peña et al., 2017). En estos ambientes *C. jejuni* no fue la especie más frecuentemente reportada, con prevalencias entre 1 - 1,5%, sino que fue *C. lari*, con niveles que alcanzaron 4 - 5,2% (Cerdà-Cuéllar et al., 2019; Johansson et al., 2018). Las tres especies restantes se encontraron con prevalencias menores a 1% (Johansson et al., 2018).

### **1. 3. 3. 2. Estacionalidad de CT en aves silvestres**

Con respecto a patrones temporales de la ocurrencia de CT en aves silvestres, hay unos pocos estudios que investigaron la estacionalidad (Mohan et al., 2013; Hald et al., 2015; Taff et al., 2016). En investigaciones realizadas en Dinamarca en aves silvestres presentes en sistemas productivos primarios (tambos y granjas de pollos), se observó una estacionalidad marcada con picos de prevalencia en verano (Hald et al., 2015). Este patrón coincide con el patrón temporal descripto en pollos de engorde. Se hipotetiza que

la mayor prevalencia en verano es debida a la abundancia de moscas que actúan como vectores mecánicos (Hald et al., 2008), así como mayor consumo de agua y ventilación en los galpones, entre otros factores (EFSA, 2011). En humanos se observó un patrón similar con aumento de casos en verano, ya que se han detectado factores de riesgo que predisponen a la infección por CT como el contacto con los animales, el consumo de alimentos preparados a la parrilla y beber agua no tratada de arroyos (Eberhart-Phillips et al., 1997; Nylen et al., 2002). Sin embargo, en aves silvestres de zonas urbanas de Nueva Zelanda se registró un patrón estacional diferente al que se da en pollos, siendo las prevalencias bajas durante el verano y altas durante el invierno y la primavera (Mohan et al., 2013). Esto sugiere que en los sistemas productivos la estacionalidad estaría gobernada por dinámicas relacionadas a la producción, mientras que en otros ambientes operarían otros factores, que aún se desconocen.

La migración de las aves silvestres es un fenómeno estacional, asociado a la dispersión de agentes patógenos, por lo que puede contribuir a la estacionalidad de CT en determinados ambientes. Por ejemplo, cuervos americanos (*Corvus brachyrhynchos*) estudiados en Davis, California, presentaron las prevalencias más altas en temporada invernal, lo cual estaba asociado a la alta densidad de estas aves producida por la llegada de migrantes, que junto a los residentes forman grandes colonias en esos momentos. Este comportamiento social contribuye a la infección intra-especie y el uso del hábitat conduce a un riesgo de transmisión para otras especies, incluyendo al humano (Taff et al., 2016).

Para establecer con mayor confianza cuales serían los patrones estacionales en aves silvestres son necesarios estudios longitudinales de larga duración en donde se pueda constatar una consistencia en el patrón a lo largo de los años, abarcando diferentes especies de aves y diversos ambientes. Estudios en condiciones naturales podrían arrojar luz sobre los determinantes de los patrones estacionales, pero son especialmente escasos, ya que presentan obstáculos de logística como de infraestructura para realizarlos (Kerry y Riddle, 2009; Johansson et al., 2018).

### **1.3.3.3. Aspectos ecológicos de las aves silvestres asociados a la incidencia de CT**

Hasta el momento, se sabe poco sobre el rango de hospedadores que es capaz de ser usado por los CT y de la competencia de hospedador (capacidad de ser parasitado con éxito por el patógeno) de cada grupo.

La migración es un aspecto ecológico relevante que puede resultar en susceptibilidad diferencial a la infección entre especies. Una investigación de aves en Suecia encontró que la prevalencia de CT difiere de acuerdo a la distancia de migración (Waldeström et al., 2002). En aves que migran largas distancias se aisló CT con una prevalencia del 3%. En contraste, con aquellas aves migratorias de corta distancia se aisló CT con una prevalencia del 11%. Sin embargo, en otro estudio realizado en Italia, las aves migratorias de larga distancia presentaron una prevalencia del 17,2%; mientras que las aves migratorias de corta distancia fue del 31,5% (Sensale et al., 2006). En ambos trabajos, no se proponen explicaciones que justifiquen las diferencias encontradas entre las aves migratorias de corta y larga distancia. No obstante, la migración supone un estrés para las aves, por lo que la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas podría verse afectada y en consecuencia, la transmisión de agentes patógenos entre dichas aves podría aumentar (Gylfe et al., 1999).

Otro aspecto ecológico de las aves silvestres que se considera que puede influir sobre la prevalencia de CT es el gremio trófico, ya que el comportamiento alimenticio puede afectar en la exposición a CT. En estudios relacionados a ese aspecto, observaron que la mayoría de las especies granívoras e insectívoras que se alimentan a cierta altura por encima del suelo no se aisló CT (Waldeström et. al.; 2002; Sensale et al., 2006), mientras que en otras que se alimentan cerca o al ras del suelo la prevalencia fue alta (Sensale et al., 2006; Waldeström et. al; 2002; Hald et al., 2015).

Por otro lado, hallazgos de un estudio en aves migratorias en Suecia sugieren que la probabilidad de infección por CT estuvo más asociada al grupo taxonómico que al gremio trófico (Waldeström et al. 2002). La prevalencia de CT en distintas especies que pertenecen a la familia Turdidae (Orden Passeriformes) fueron observadas drásticas diferencias entre ellas. La infección por CT se encontró solo en individuos del género *Turdus* ubicándose en la subfamilia Turdinae, mientras que el resto de los géneros muestreados, que incluyeron *Erythacus*, *Oenanthe*, *Luscinia*, *Phoenicurus*, *Ficedula* y *Muscicapa*, todos pertenecientes a la subfamilia Muscicapinae, estuvieron libres de *Campylobacter*. Ambas subfamilias se alimentan de invertebrados a nivel del suelo (Waldeström et. al; 2002).

#### **1. 3. 3. 4. Evidencia de transmisión de CT en la interfaz humano-doméstico-silvestre**

La evaluación de los componentes e interacciones de las interfases humano-animal-ecosistema permite prevenir, detectar, controlar, eliminar o manejar los riesgos de las

enfermedades de humanos originadas directa o indirectamente a partir de animales domésticos o silvestres (Soler-Tovar et al., 2010).

Existe evidencia científica de la transmisión inter-específica de CT entre aves silvestres, humanos y animales domésticos. En las últimas décadas, se realizaron estudios de tipificación de secuencias multilocus (MLST) para comparar la similitud entre las cepas de *C. jejuni* de aves silvestres, animales de granja y humanos. Esta técnica está basada en la secuenciación de fragmentos de varios genes conservados o *housekeeping*. Estos genes codifican proteínas que realizan funciones básicas para el mantenimiento de la viabilidad celular, presentando una tasa de mutación muy baja, por lo que representan indicadores muy estables en el tiempo, proporcionando una base para investigaciones de la epidemiología y la genética de poblaciones de *C. jejuni* (Dingle et al., 2001).

En el marco de un programa de vigilancia genómica de *Campylobacter* llevado a cabo en el Reino Unido se compararon aislamientos caracterizados por MLST obtenidos de aves silvestres con aislamientos de humanos, reportándose mayores similitudes durante los meses cálidos. El estudio concluyó que entre el 2,1 y 3,5% de los casos anuales de *C. jejuni* en humanos son atribuibles a aves silvestres (Cody et al., 2015). Otros reportes describieron cifras similares (Levesque et al., 2013; Sheppard et al., 2010). La exposición de humanos a CT a partir de aves silvestres se daría principalmente por contaminación fecal (Phiri et al., 2021).

Otro trabajo realizado en el Reino Unido reveló que las aves silvestres son portadoras de cepas de *C. jejuni*, asociadas con el ganado y otras caracterizadas solamente en las aves. Sin embargo, en los bovinos no se hallaron cepas de *C. jejuni* de aves silvestres, por lo que podría inferirse que la dirección de la transmisión es predominantemente del ganado a las aves silvestres (Hugues et al., 2009). En otros estudios, se obtuvieron aislamientos de *C. jejuni* con alta similitud dentro de la misma especie de ave o gremio trófico (Broman et al., 2004), lo que sugiere una fuente de transmisión común para los individuos de esa especie, o una asociación entre determinados subtipos de *C. jejuni* y ciertos gremios ecológicos o grupos filogenéticos de aves (Broman et al., 2004; Griekspoor et al., 2015).

En parques infantiles de Nueva Zelanda se obtuvieron aislamientos de *C. jejuni* de aves silvestres como el estornino europeo (*Sturnus vulgaris*), el gorrión común (*Passer domesticus*), la golondrina del Pacífico (*Hirundo tahitica*), el mirlo (*Turdus merula*), la urraca australiana (*Gymnorhina tibicen*), el zorzal común (*Turdus philomelos*), el tui

(*Prosthemadera novaeseelandiae*), el pinzón (*Fringilla coelebs*) y el jilguero europeo (*Carduelis carduelis*) (French et al., 2009). Algunos de los aislamientos de este estudio fueron indistinguibles de los aislamientos obtenidos de casos clínicos humanos, sugiriendo que las heces de las aves silvestres que habitan los parques infantiles son una fuente potencial de infección en espacios de recreación (French et al., 2009). Asimismo, en Suecia se obtuvieron aislamientos a partir del estornino (*Sturnus vulgaris*) y del mirlo (*Turdus merula*). Dichos aislamientos resultaron similares a algunas cepas reportadas en humanos. Estas especies de aves habitan zonas de interfaz humano-doméstico-silvestre, lo cual podría indicar una potencial transmisión del patógeno entre estas aves y el hombre (Broman et al., 2004).

Por su aislamiento geográfico durante parte de su ciclo de vida, durante mucho tiempo se pensó que los animales antárticos estaban protegidos de la introducción de patógenos de otras regiones. Sin embargo, estudios recientes informaron la presencia de patógenos humanos y animales en esta región, donde se consideraban ausentes (Woods et al., 2009; Grimaldi et al., 2015). Un estudio reportó la presencia de genotipos de *C. jejuni* propios de humanos y animales domésticos en aves marinas de Antártida (Cerdà-Cuéllar et al., 2019). Esto evidencia que la transmisión de CT considerada casi exclusiva de ambientes antropizados es muy amplia a nivel mundial y se da aún en zonas donde la actividad humana es muy baja. La transmisión de agentes zoonóticos entre la fauna antártica se ve facilitada por la conectividad entre poblaciones de aves marinas oportunistas, como la escúa parda (*Stercorarius antarcticus*). Ésta se caracteriza por ser una de las principales especies de aves marinas oportunistas del océano Austral, las cuales a menudo se alimentan de desechos humanos. La detección en las escúas pardas de varios genotipos de *C. jejuni* que se encuentran casi exclusivamente en humanos y ganado doméstico, respalda la hipótesis de que la transmisión de CT del humano a la fauna antártica. Entre el 70% y el 85% de los aislamientos obtenidos de las escúas pardas, fueron aislados previamente de casos de gastroenteritis humana, y algunos de ellos también de pollo o productos derivados del pollo. Rara vez (entre el 1 al 9% de los aislamientos) fueron aislados en las aves silvestres (Cerdà-Cuéllar et al., 2019).

## **2. Hipótesis y Objetivos**

## **2. 1. Hipótesis**

Componentes del ambiente de granjas avícolas y tambos tienen un papel relevante para la epidemiología de CT en los animales de producción.

## **2.2. Objetivo general**

El objetivo general de este trabajo es contribuir al conocimiento de la epidemiología de *Campylobacter* termotolerantes en establecimientos productivos de agro-ecosistemas de la cuenca lechera santafesina, con el objeto de aplicar medidas de manejo del riesgo sustentadas científicamente que reduzcan la diseminación de CT y permitan disminuir su impacto en la salud pública.

## **2. 3. Objetivos específicos**

- 1- Diagnosticar *Campylobacter* termotolerantes y establecer prevalencias en muestras recolectadas sistemáticamente desde compartimentos de potencial relevancia epidemiológica en establecimientos productivos (tambos y granjas de parrilleros) de la cuenca lechera santafesina.
- 2- Comparar prevalencias, patrones temporales y distribución de especies de CT de las aves silvestres con los animales domésticos (pollos y bovinos).
- 3- Evaluar la diversidad genética de CT, estableciendo asociaciones entre las cepas que se obtengan de las aves silvestres con animales de producción.

# **3. Materiales y Métodos**

### 3. 1. Sitio de estudio

La provincia de Santa Fe integra la región agrícola-ganadera e industrial de la Argentina que concentra gran parte de la población del país. Se encuentra ubicada entre los meridianos de 59° y 63° de longitud oeste y los paralelos de 28° y 34° de latitud sur. Al norte, limita con la provincia de Chaco, al oeste con Santiago del Estero y Córdoba, Buenos Aires al sur, y con Entre Ríos y Corrientes al este (Castignani, 2011). Administrativamente se divide en 19 departamentos, con un total de 3.544.908 habitantes correspondiendo a 26,6 hab/km<sup>2</sup>. Los departamentos con mayor número de habitantes son: Rosario, con 1.348.725, La Capital con 572.265, General López con 201.574 y General Obligado con 197.986 (INDEC, 2022).

El sector productivo primario incluye a la agricultura y a la ganadería como principales actividades. Dentro de la provincia es posible diferenciar tres regiones fisiográficas: una Pampeana al sur, otra Chaqueña al norte y una Chaco-Pampeana en el centro. La región Pampeana Sur tiene aptitud para las producciones agrícolas, especialmente con cultivos como trigo, maíz, soja, girasol y pasturas de calidad. En la región Centro la agricultura se integra a los sistemas mixtos basados en la ganadería lechera y/o de invernada. Es en este sector donde se ubica alrededor del 31% de la producción láctea nacional y el 50% de la producción de carne bovina de la provincia. Por último, la región Norte tiene menor superficie con suelos aptos para la agricultura y extensas áreas con pastizales naturales; la ganadería predominante es la cría, y con menor intensidad la recría y la invernada. De las 13.300.000 hectáreas que conforman el territorio provincial, un 26% tiene la capacidad de uso agrícola, el 32,4% posee aptitud ganadero-agrícola, el 31,5% exclusivamente ganadera y un 10% se puede considerar superficie subutilizada desde la visión agrícola-ganadera (INTA, 2009). La producción avícola en la provincia ocupa el tercer lugar con una capacidad de faena de 36.682.374 de cabezas, que corresponde a un 4,8% de la producción nacional. Cuenta con 447 establecimientos avícolas de los cuales el 31% corresponde a granjas de producción de huevo para consumo y el 69% a granjas de producción de pollos parrilleros (EPSA Santa Fe, 2021; Anuario Avícola, 2022).

En la zona centro de Santa Fe, de oeste a este se encuentran los departamentos Castellanos, Las Colonias y La Capital. En cada uno de esos departamentos fueron evaluados dos establecimientos, siendo uno de ellos un tambo y el otro una granja avícola (Figura 3). En todos los casos, la distancia entre ambos establecimientos fue superior a los 3 km e inferior a 8 km. Los establecimientos se encontraban en la zona rural y fueron seleccionados aquellos ubicados en proximidad a la ruta y fácil acceso.

Los establecimientos de pollos de engorde presentaron tres galpones con una disposición en paralelo. Cada galpón, tenía entre 11.000 a 15.000 aves. Para las estaciones cálidas, poseen un sistema que permite bajar las cortinas que cubren los laterales del galpón y ventiladores dentro del mismo. En estaciones frías, poseen pantallas con emisión de calor, siempre manteniendo la confortabilidad de los individuos. El criterio de inclusión de tambos al estudio consistió en presentar caminos de fácil acceso y que sean próximos a los establecimientos de pollos de engorde. Los establecimientos lecheros fueron heterogéneos entre ellos. Uno de ellos, tenía 70 vacas en lactancia, alta densidad de árboles, aves domésticas de traspatio (gansos y gallinas). El segundo establecimiento, tenía 350 vacas en lactancia, contaba con aves domésticas de traspatio (gallinas) y alta densidad de árboles. Y por último, el tercero, contaba con 860 vacas en lactancia, no había presencia de aves domésticas de traspatio y tenía baja densidad de árboles.

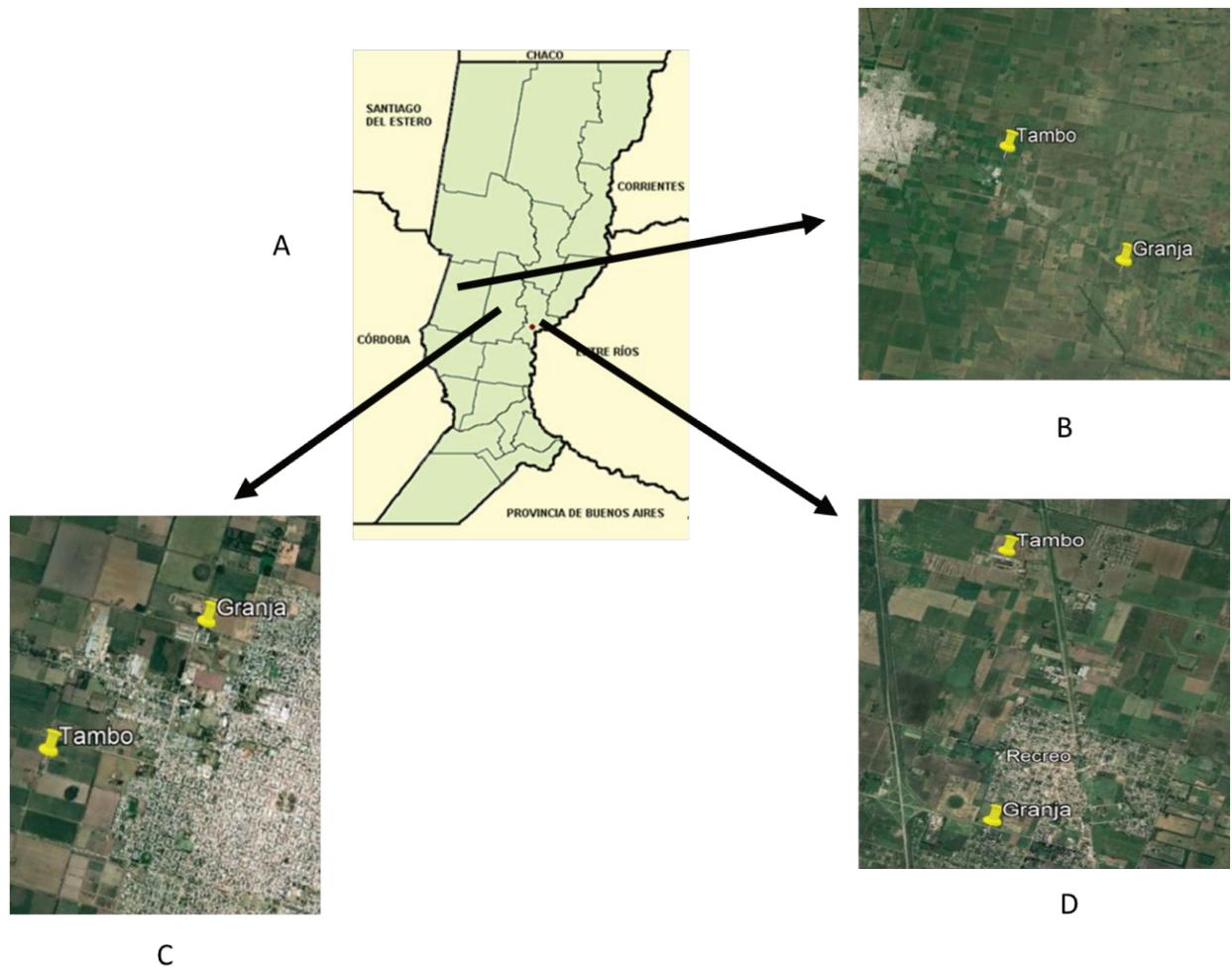


Figura 3 A. División administrativa de la provincia de Santa Fe y ubicación geográfica de los sitios de muestreo (establecimientos de pollos de engorde y tambo) en el departamento Castellanos (B), Las Colonias (C) y La Capital (D).

### 3. 2. Colecta de las muestras

Para la obtención de datos de los establecimientos, el período de estudio abarcó desde abril del 2019 a marzo del 2022. En el lapso transcurrido desde marzo del 2020 hasta enero del 2021 no fue realizada la colecta de muestras a campo debido a la pandemia de COVID-19. El estudio fue observacional de tipo longitudinal; en ese período se realizaron ocho muestreos en cada establecimiento, uno por cada estación climática. Los muestreos se iniciaron tres semanas posteriores al comienzo de cada estación y culminaron tres semanas previas a la finalización de la misma.

En los establecimientos seleccionados se tomaron muestras de diferentes compartimentos de los sistemas estudiados, considerados como potenciales fuentes de CT. Definimos como compartimento a los elementos bióticos y abióticos que se encuentran dentro del sistema productivo y donde puedan encontrarse CT, como bovinos (en tambos), pollos (en granjas de parrilleros), aves silvestres (en tambos y granjas), animales de compañía (perros y gatos) que habiten tambos y granjas, dípteros como la mosca doméstica (*Musca domestica*) (tambos y granjas), estadios de larva y adulto del escarabajo *Alphitobius diaperinus* que se encuentra en la cama de los pollos (granjas), leche de tanque (tambos), agua de bebida y alimento de los animales (en tambos y granjas).

La toma de muestras de cada compartimento se realizó de la siguiente manera:

La colecta de agua se realizó asépticamente en tubos de 50 ml, desde 5 picos del galpón donde se alojan las aves, y de distintos lugares de acumulación de agua como lagunas, charcos así como de los picos utilizados para el lavado de la ubre (Bianchini et al., 2014). Si el agua recibió tratamiento con cloro, el mismo fue inactivado utilizando Tiosulfato de Sodio al 1% (Walter, 2003).

El alimento balanceado fue recolectado a partir del silo que lo distribuye a los distintos galpones o comederos (dentro y fuera de la sala de ordeñe), según la organización de cada establecimiento. La muestra de leche de tanque fue recolectada en un tubo de 50ml de manera aséptica una vez finalizado el ordeñe (Bianchini et al., 2014), trasportándose bajo condiciones de refrigeración.

La cama del galpón fue dividida en cinco fracciones y luego, se tomó una muestra de cada una de ellas. Estas fueron recolectadas en bolsas de polietileno, trasladadas hasta el laboratorio donde se realizó la separación de adultos y larvas de *A. diaperinus* del resto del material (Hazeleger et al., 2008). Un total de 20 moscas por muestreo fueron capturadas mediante raqueta eléctrica para *M. domestica*, la cual, tiene su radio de

acción lindante a los galpones de pollos y sala de ordeñe. Las mismas, fueron colocadas de manera individual en tubos estériles, manteniéndolas refrigeradas hasta su arribo al laboratorio (Stern et al., 2001).

La toma de muestra del calzado de trabajo, se realizó con un hisopo estéril en la suela de todos los empleados presentes en el momento del muestreo (Ramabu et al., 2004; Hiett et al., 2002).

En todos los establecimientos se tomaron muestras de aves silvestres. Para la recolección de las mismas, fueron colocadas redes de niebla, en horarios cercanos al alba o por la tarde, en inmediaciones de los galpones, sala de ordeñe y de los silos de alimentos. Las mismas fueron revisadas cada diez minutos para minimizar el tiempo en el que las aves quedan atrapadas. Cada individuo fue cuidadosamente removido de los hilos y colocados individualmente en una bolsa de tela hasta su procesamiento, el cual se realizó en un plazo de 30 minutos en una estación de trabajo emplazada en el mismo sitio. La muestra fue recolectada, de la cloaca, con un hisopo estéril (Sippy et al., 2012). Luego, el hisopo fue colocado en un tubo con 4 ml de Caldo Bolton y transportado en condiciones de refrigeración hasta el laboratorio. Cada ave fue identificada a nivel de especie. Luego, el ave fue liberada en el sitio de la captura.

A cada especie se le asignó una categoría de gremio trófico basándose en el principal componente de su dieta (de la Peña 2011). Los gremios fueron clasificados en omnívoros, insectívoros, frugívoros y granívoros. Asimismo, se clasificó a las especies de aves capturadas según la frecuencia con la que se alimentan del suelo, creando una variable de tres niveles: 1) nunca se alimentan del suelo; 2) ocasionalmente se alimentan del suelo; y 3) con mucha frecuencia o siempre se alimentan del suelo.

Además, al momento del muestreo, los caninos y felinos (domésticos) y las aves de traspatio (gansos y gallinas) fueron muestreados. Las muestras de materia fecal fueron colectadas del recto en caninos y felinos y de la cloaca en las aves de traspatio mediante un hisopo estéril. Luego, el hisopo fue colocado en un tubo de 4 ml con Caldo Bolton y posteriormente fue transportado refrigerado hasta el laboratorio (Andrzejewska et al., 2013).

En cada establecimiento avícola, las muestras de materia fecal de 25 pollos parrilleros fueron recolectadas en la quinta semana de crianza (aproximadamente animales de 40 a 45 días de vida) (Bolton y Coates, 1983). Las mismas fueron tomadas de la cloaca del animal mediante un hisopo estéril y colocado en un tubo de 4 ml con Caldo Bolton.

En los terneros, la muestra fue extraída directamente del recto con bolsas de polietileno de aquellos que estaban presentes al momento del muestreo (Klein *et al.*, 2013). Las muestras de materia fecal de vacas en producción fueron recolectadas de 30 animales. Una vez observada la deposición, una alícuota de materia fecal fue recolectada con bolsa de polietileno (Bianchini *et al.*, 2014). Todas las muestras fueron trasladadas refrigeradas hasta el laboratorio.

### **3. 3. Procesamiento de las muestras**

Las muestras colectadas mediante hisopos fueron colocadas en tubos que contenían 4 ml de medio selectivo caldo Bolton (OXOID®, Basingstoke, Reino Unido). El caldo Bolton estaba suplementado con 5% de sangre de caballo desfibrinada y hemolisada, 20 mg/l de cefoperazona (Sigma®, St. Louis, USA), 20 mg/l de trimetoprima (Sigma®, St. Louis, USA), 20 mg/l de vancomicina (Richet®, Buenos Aires, Argentina) y 50 mg/l de cicloheximida (Sigma®, St. Louis, USA) (Bolton y Coates, 1983).

Una alícuota de las muestras de agua (2 ml), cama (2g) y alimento (2 g) fueron sembradas en 18 ml de medio selectivo Bolton. Por otro lado, un insecto (moscas, adultos y larvas de *Alphitobius diaperinus*), fue desinfectado con alcohol 70% y, luego, triturado en un tubo de 4 ml con medio selectivo caldo Bolton (OXOID®, Basingstoke, Reino Unido). El mismo procedimiento fue realizado sin desinfectarlo y luego, colocado sin triturar en el tubo con el medio selectivo. Esta diferencia en la desinfección permitió detectar el agente en el interior o exterior del insecto respectivamente. Todas las muestras colocadas en el caldo Bolton fueron incubadas a 42°C durante 24 h para el enriquecimiento selectivo en condiciones microaerófilas ( $H_2:CO_2:O_2 = 85:10:5$ ) en jarras *ad hoc* (AnaeroJar™, Oxoid, Basingstoke, Reino Unido).

Culminada la incubación de las muestras que estaban contenidas en tubos con 4ml, la mitad del contenido fue transferido a un tubo de 2ml. Posteriormente, los tubos de 2 ml fueron centrifugados durante 10min a 4.500 xg (Thermo Scientific Sorvall® RC 6™ Plus Superspeed Centrifuge, Estados Unidos) (Blaser *et al.*, 1986; Khanna *et al.*, 2006). Una vez descartado el contenido, el mismo procedimiento fue repetido una vez más. Finalizado el centrifugado, el contenido fue descartado y se obtuvo un sedimento. Las muestras de agua, alimento y cama fueron centrifugadas por 10min a 4.500 xg. Posteriormente el contenido fue descartado y obtenido un sedimento.

### **3. 3. 1. Aislamiento microbiológico**

*Campylobacter* termotolerantes se aisló de las muestras utilizando el método de filtración pasiva (Berrang et al., 2017). En este caso, fueron utilizadas membranas estériles de acetato de celulosa, con un diámetro de 47 mm y un tamaño de poro de 0,45 µm (Sartorius AG, Goettingen, Alemania). Las mismas, fueron cortadas en 3 porciones, esterilizadas y colocadas sobre la superficie de placas de agar con medio mCCDA (agar base *Campylobacter* exento de sangre) (OXOID®, Basingstoke, Reino Unido) (Goossens et al., 1986; Jokinen et al., 2012). Los sedimentos obtenidos mediante centrifugación fueron retirados de los tubos utilizando cucharitas previamente flameadas. Estas cucharitas con el sedimento fueron colocadas sobre la membrana. Luego, las placas fueron colocadas en estufa a 37°C durante 10 minutos para que las células bacterianas pasen a través de los poros microscópicos de la membrana hacia el medio de cultivo (Jokinen et al., 2012; He et al., 2015). Posteriormente, con una pinza fue retirada la membrana que contenía la muestra. Luego, las placas fueron colocadas en jarras *ad hoc* e incubadas durante 48 h a 42°C en condiciones de microaerofilia, con una mezcla gaseosa de H<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub> = 85:10:5. Para las muestras de materia fecal de vacas y terneros, se utilizaron cucharitas para tomar una porción (1gr aproximado) desde la bolsa que las contenía. Esta porción fue colocada sobre las membranas. Luego, se procedió de la misma manera como se describió anteriormente.

### **3. 3. 2. Identificación preliminar y conservación de los aislamientos**

Finalizada la incubación, se procedió a seleccionar, desde las placas, aquellas colonias morfológicamente compatibles con *Campylobacter* (pequeñas, grises, lisas, brillantes y convexas con un borde definido) (Salim et al., 2014). La identificación preliminar de *Campylobacter* termotolerante se basó en la observación al microscopio de contraste de fases para verificar la morfología típica y ausencia de otros microorganismos a partir de un preparado en fresco. Luego, el aislamiento fue amplificado a partir de una colonia, en una placa de mCCDA para tenerlo en mayor cantidad. Posteriormente, con un ansa fue recolectado y colocado en un medio crioprotector (glicerina 17%, caldo triptona soya y suero equino), conservado a -80°C (Terzolo et al., 1987).

### **3. 4. Extracción genómica e identificación de género y especies de *Campylobacter***

#### **3. 4. 1. Método de extracción genómica**

Para la identificación de género y especie fue realizada la extracción genómica por el método de hervido (An et al., 2018). En microtubos de 1,5ml con 0,2ml de agua destilada estéril fue colocado el aislamiento, previamente tomado con un anzal flameada desde la placa. Luego, los tubos fueron colocados en agua a 100°C durante 10min. Culminado el tiempo, fueron centrifugados (Hettich® ROTOR-ANWEISUNG, Alemania) a 10.600xg durante 10min y 0,1 ml del sobrenadante fue extraído, bajo cabina de extracción para PCR, desde el tubo. Posteriormente, el sobrenadante con el genoma extraído fue colocado en tubos de 0,5 ml y conservado a -20°C. Todos los aislamientos morfológicamente compatibles con *Campylobacter* se identificaron a nivel de género y especie mediante PCR multiplex.

#### **3. 4. 2. Identificación de género**

En primer lugar, se procedió a seguir el protocolo propuesto por Linton et al. (1997) para la confirmación del género. Las condiciones de la PCR fueron las siguientes para una reacción de 25 µL: 25 ng de ADN genómico; 0,2 mM de cada desoxinucleótido; 0,4 µM de cada *primer*; 50 mM KCl; 20 mM Tris-HCl (pH 8,3); 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; y 0,625 U de Taq PEGASUS ADN polimerasa (Productos Bio-Lógicos®, Argentina). Las secuencias de los *primers* empleados se detallan en la Tabla 1. Cada PCR se realizó en un termociclador (HealForce®, Shanghai, China) y comprendió un paso de desnaturización inicial de ADN a 94°C durante 4 minutos, seguido de 25 ciclos de 3 etapas: 1) desnaturización a 94°C durante 1 minuto; 2) *annealing* a 55°C durante 1 minuto y 3) extensión a 72°C durante 1 minuto. Por último, las reacciones se sometieron a una extensión prolongada a 72°C durante 10 minutos.

Terminados los ciclos, se llevaron las muestras a un sistema de electroforesis, previamente preparado con el gel de agarosa al 1,5% solidificado y con los pocillos marcados. Posteriormente, el gel fue introducido en la cuba de electroforesis, y se llenó la cuba con una solución buffer TBE 1X (Tris (Bio-Rad®, USA) - Ácido Bórico (Bio Pack®, Argentina) – EDTA (Bio-Rad®, USA)). En los pocillos marcados fue introducido el producto de la PCR de cada muestra junto con el Buffer para electroforesis y el colorante Gel Red (Biotium®, Hayward, USA). El análisis de los productos amplificados se realizó mediante electroforesis durante 45 min a 80V, transcurrido ese tiempo, se observó el gel en un transiluminador con luz UV (Labnet®, Canadá). Lo que se observó, fue el tamaño del producto de la PCR, dependiendo del mismo, se marcó una distancia

específica en el gel, el cual comparamos con un indicador de tamaño molecular de 100pb (Productos Bio-Lógicos®, Argentina). Los geles se fotografiaron con una cámara digital (Olympus SZ-11).

### 3. 4. 3. Identificación de especies

Los aislamientos positivos al género *Campylobacter* fueron identificados a nivel de especie (*C. coli* y *C. jejuni*). La identificación fue realizada mediante una PCR múltiple siguiendo el protocolo descripto por Vandamme *et al.* (1997). Los *primers* utilizados para la identificación de especies están detallados en la Tabla 1. Todas las amplificaciones se prepararon para un volumen final de 25  $\mu$ l de reacción. Para ello se utilizó una *master mix* que contuvo 25 ng de ADN genómico, 20 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM de KCl, 3 mM de MgCl<sub>2</sub> y cada desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP) en una concentración de 0,2 mM. Cada mezcla de reacción también contuvo 1U de Taq PEGASUS DNA polimerasa (Productos Bio-Lógicos®, Argentina) y 20 pmol de cada uno de los *primers* (Jun3, Jun4, Col1 y Col2). Cada PCR, consistió de una desnaturización inicial por 5 min a 94°C, 2 ciclos de desnaturización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 64°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 62°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 58°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 56°C y extensión a 72°C por 1 min y 30 ciclos de desnaturización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 54°C y extensión a 72°C por 1 min y un paso final de extensión a 72°C durante 10 min. Culminados los ciclos, se procedió de la misma forma que fue descripta para la identificación de género (electroforesis, lectura de productos de PCR y registros del gel).

Tabla 1: Secuencia de Primers, gen target y tamaño esperado de los fragmentos amplificados, utilizados en las PCR específicas de género y especie de *Campylobacter* termotolerantes

	Denominación del primer	Secuencia del Primer	Gen target	Tamaño esperado del fragmento amplificado	Referencia	
<i>Campylobacter</i> spp	C412	5'-GGATGACACTTTCGGAGC-3'	16S	816 pb	Linton et al., 1997	
	C1288	5'-CATTGTAGCACGTGTGTC-3'	rRNA			
<i>C. jejuni</i>	Jun-3	5'-CATCTTCCCTAGTCAAGCCT-3'	23S	773 pb	Vandamme et al., 1997	
	Jun-4	5'-AAGATATGGCTCTAGCAAGAC-3'	rRNA			
<i>C. coli</i>	Col-1	5'-GCTATGACCATGATTACGC-3'	23S	364 pb		
	Col-2	5'-TTGTAAAACGACGGCCAGT-3'	rRNA			

### 3. 5. Electroforesis en campo pulsado (Pulsed field gel electrophoresis PFGE)

#### 3. 5. 1. Preparación del ADN genómico

Los aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes fueron analizados de acuerdo con el método descripto en el protocolo Pulse Net12 (Ribot et al., 2001; [https://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/campy\\_protocol.pdf](https://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/campy_protocol.pdf)). Aquellos que fueron positivos a la identificación de especie por PCR fueron reactivados en mCCDA, (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido). La incubación se realizó a 42°C durante 48 h en microaerofilia ( $H_2:CO_2:O_2 = 85:10:5$ ) en jarras *ad hoc* (AnaeroJar™, Oxoid, Basingstoke, Reino Unido). Transcurrida la incubación, se verificó la pureza del cultivo y morfología típica de *Campylobacter* mediante microscopía de contraste de fases.

En la placa con crecimiento de *Campylobacter*, fue colocado 1ml de solución salina estéril (0,85% NaCl<sub>2</sub>; Biopack, Buenos Aires, Argentina). Luego, con una espátula estéril fue removido el cultivo. Desde la placa, un 1ml fue recolectado y colocado en un tubo que contenía 1ml de solución salina (0,85% NaCl<sub>2</sub>) para obtener una suspensión del microorganismo. Esta suspensión se ajustó a una densidad óptica de 0,680 (rango entre 0,570 a 0,820) medida en espectrofotómetro en una longitud de onda de 610 nm. Una vez que se ajustó la densidad en dicho rango, se procedió al armado del plug de agarosa. A partir de la suspensión del microorganismo, fueron transferidos 200 µl a un tubo de 1,5 ml. En el tubo de 1,5ml fueron adicionados 10 µl de proteinasa K (20 mg/ml; Promega, Madison, USA) y 200 µl de agarosa 1% fundida (Pulsed Field Certified Agarose, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Estados Unidos). La proteinasa K, la

suspensión del microorganismo y la agarosa fueron mezclados y colocados en un molde de PFGE. Los moldes se colocaron en refrigeración (4°C) durante 5 minutos para lograr la solidificación de la agarosa. Una vez solidificados, los *plugs* fueron colocados en tubos de 2 ml que contenían 1,5 ml de la solución de lisis celular (*buffer* de lisis 50 mM Tris, 50 mM EDTA pH 8,0 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Estados Unidos), sal lauril sarcosina sódica 1% (Sigma-Aldrich, San Luis, Estados Unidos) y proteinasa K (20 mg/ml; Promega, Madison, USA). Los tubos se incubaron en un baño termostático a 50°C durante 30 min. Finalizada la incubación se descartó el *buffer* de lisis. Para los lavados, en cada tubo se añadió 10ml de agua ultrapura estéril, y se dejaron en el baño termostático a 50°C durante 15min. Este proceso de lavado se repitió 3 veces utilizando *buffer* TE (10 mM Tris: 1 mM EDTA, pH 8,0). Una vez finalizados los lavados, los *plugs* fueron conservados a 4°C en *buffer* TE en un tubo de 1,5 ml (Ribot et al., 2001).

Para este protocolo se utilizó una cepa de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Braenderup strain H9812 (ATCC BAA-664) como estándar de referencia de tamaño molecular (Ribot et al., 2001) de acuerdo al protocolo estandarizado (<https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>). Los *plugs* de *Salmonella* H9812 se realizaron a partir de colonias aisladas crecidas en agar Columbia (OXOID®, Basingstoke, Reino Unido) incubada a 37°C durante 24 h. A partir de este cultivo se preparó una suspensión de las células y se procedió de la misma forma descripta para *Campylobacter*.

### **3. 5. 2. Digestión del ADN genómico**

Para la digestión del ADN de los *plugs* de *Campylobacter* se utilizó la enzima de restricción *Sma*I (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Estados Unidos). El *plug* fue colocado en un tubo de 1,5 ml junto con el *buffer* (10X diluido 1/10) y la enzima de restricción *Sma*I (40U). Los tubos se incubaron a 25°C durante 4 h. Para la digestión del ADN de los *plugs* de *Salmonella braenderup* H9812 se utilizó enzima de restricción *Xba*I (40U; Thermo Fisher Scientific, Waltham, Estados Unidos). El *plug* fue colocado en un tubo de 1,5 ml junto con el *buffer* (10X diluido 1/10) y la enzima de restricción *Xba*I (40U). Los tubos fueron incubados a 37°C durante 2 h (Ribot et al., 2001).

### **3. 5. 3. Electroforesis en campos pulsados**

Los *plugs* digeridos fueron llevados a un sistema de electroforesis, donde previamente fue preparado el gel de agarosa 1% (Pulsed Field Certified Agarose, Bio-Rad

Laboratories, Hercules, Estados Unidos) y con los pocillos marcados. En el gel de agarosa, las líneas 2 y 12 fueron colocados los *plugs* de *Salmonella braenderup* H9812, en los 13 lugares restantes fueron colocados los *plugs* de *Campylobacter*. Una vez colocados los *plugs* en los pocillos, fueron sellados con agarosa. Luego, el gel fue colocado en la cuba de electroforesis, donde previamente se agregó 1,8L de *buffer TBE 1X* (Tris/Borato/EDTA). La electroforesis se llevó a cabo en un equipo para electroforesis en campo pulsado CHEF-DR III (Bio-Rad®). Las condiciones electroforéticas fueron 6 V/cm (cambio de orientación inicial 6,76 s, cambio de orientación final 35,38 s) durante 18 h a 14°C. Después de la electroforesis, los geles fueron teñidos 30 min en bromuro de etidio (10 mg/ml). La imagen fue capturada con un sistema de fotodocumentación (Ribot *et al.*, 2001).

### **3. 5. 4. Análisis de los patrones de PFGE**

A partir de las fotos capturadas de los geles de agarosa, los perfiles electroforéticos obtenidos mediante PFGE se analizaron con el software BioNumerics V6,6. El método de alineación utilizado fue el agrupamiento promedio no ponderado (UPGMA), basado en un coeficiente de similitud DICE, con un 2% de optimización y una tolerancia en la posición de bandas de 4%. El dendrograma fue analizado de acuerdo al criterio de tipificación de cepas bacterianas (Tenover *et al.*, 1995), para determinar si existían diferencias entre las cepas en estudio.

## **3. 6. Análisis estadístico**

### **3. 6. 1. Uso de Software, variables de estudio y modelos estadísticos**

Para analizar los datos de los estudios realizados, se utilizó el software R (V.3.1.0, The R Project for Statistical Computing; <http://www.r-project.org>). Los análisis se realizaron mediante estadística descriptiva o bien a la hora de poner a prueba hipótesis estadísticas se utilizaron modelos lineales mixto generalizados (MLMG) con respuesta binomial (función de enlace “logit”). Los paquetes utilizados fueron MuMin (Barton, 2020) y lme4 (Bates y Bolker, 2011; Bates *et al.*, 2015).

La variable respuesta fue binaria (presencia/ausencia de CT), ya sea CT en general o de cada especie en particular. Las variables independientes incluidas en los modelos fueron: año (categórica ordinal), estación (categórica nominal), tipo de establecimiento (categórica nominal), orden taxonómico (categórica nominal) en aves silvestres, gremio

trófico (categórica nominal) y alimentación a nivel del suelo (categórica ordinal). Además, se incluyeron efectos aleatorios de intercepto para tener en cuenta la falta de independencia de las observaciones de un mismo establecimiento en un mismo tiempo, para así eliminar posibles problemas de pseudo-replicación. Cada uno de los modelos completos explorados se redujo teniendo en cuenta los valores de AIC (criterio de información de Akaike) (Burnham y Anderson, 2002). Un término fue retenido en el modelo cuando su remoción incrementó el valor de AIC en 2 o más unidades. Las diferencias significativas de prevalencias entre los ordenes, familias, gremios tróficos y alimentación a nivel del suelo fueron analizadas mediante la prueba *post hoc* de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

### **3. 6. 2. Análisis a nivel de comunidad, orden, familia y especie de aves silvestres**

El análisis que exploró las dinámicas de CT tanto en la totalidad de las aves silvestres ( $n = 1256$ ) como de los gorriones domésticos (*P. domesticus*) ( $n = 917$ ) en ambos tipos de establecimientos pecuarios para observar si hubo diferencias entre ellos. Este análisis fue para descartar que aquellas diferencias entre tipos de establecimientos sean atribuibles a la composición de la comunidad de aves en tambos y pollos de engorde. Para el análisis de los ordenes, fueron incluidos los Passeriformes ( $n = 1176$ ) y los Columbiformes ( $n = 54$ ), ya que presentan el mayor número de individuos capturados, y el resto de los Ordenes fueron incluidos en “otros” ( $n = 26$ ). Con el subset de datos de Passeriformes, se exploraron diferencias entre familias, evaluando Passeridae ( $n = 917$ ), Furnariidae ( $n = 76$ ), Icteridae ( $n = 41$ ), Troglodytidae ( $n = 46$ ), y las restantes incluidas en “otros” ( $n = 96$ ). Tanto para ordenes como familias, la variable independiente tipo de establecimiento no fue incluida debido a que en los modelos anteriores no mostró una asociación significativa a la presencia de CT.

### **3. 6. 3. Análisis a nivel de especie de *Campylobacter* spp. de las aves silvestres**

La prevalencia de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp. de la comunidad de aves y del gorrón doméstico fue incluida por separado en un MLMG como variables respuesta ajustando por año, estación y como variable independiente el tipo de establecimiento, con los factores al azar muestreo y departamento.

### **3. 6. 4. Análisis de dinámicas de patrones estacionales**

Las prevalencias estacionales generales y especies de CT de las aves silvestres y los animales de producción fueron incluidas en un MLMG. Por un lado, las prevalencias

generales estacionales y especies de CT de las aves silvestres se utilizaron como variable respuesta, ajustando por departamento y, como variable independiente, la prevalencia general o especie de CT de pollos o de bovinos. Por otro lado, las prevalencias de las aves silvestres que habitan en establecimientos lecheros, como variable respuesta, ajustado por departamento y, como variable independiente, la prevalencia estacional y especies de CT de las aves que habitan establecimientos de pollos de engorde. Un total de 15 aislamientos de *C. coli* que pertenecieron a las aves silvestres no fueron incluidas en los modelos, ya que representaron el 6,2% (15/240) del total de los aislamientos de las aves silvestres. Posteriormente, con dichos resultados fueron correlacionados (Spearman) y graficados. El nivel de significancia estadístico fijado para todos los análisis fue de  $p<0,05$ .

# 4. Resultados

## 4. 1. Prevalencia y distribución de especies de *Campylobacter* termotolerantes en los establecimientos pecuarios

### 4. 1. 1. Resultados generales

El 14,1% (680/4823) (IC 95%: 13,2–15,1) de las muestras tomadas de todos los compartimentos fueron positivas a CT. De los 680 aislamientos obtenidos, el 52,1% (354/680) (IC 95%: 41,8–62,1) correspondieron a infecciones simples por *C. jejuni*; el 13,8% (94/680) (IC 95%: 7,9–22,4) a infecciones simples por *C. coli*, y el 33,1% (225/680) (IC 95%: 24–43,1) a otras especies de *Campylobacter*. Un total de siete aislamientos, que correspondieron al 1,0% (7/680) (IC 95%: 0–5,4), presentaron co-infecciones por *C. jejuni* y *C. coli*, los cuales pertenecieron a dos gorrones domésticos, un hornero y cuatro pollos de engorde (Figura 4). Teniendo en cuenta lo anterior, la prevalencia general de *C. jejuni* fue 7,5% (361/4823) (IC 95%: 3–14,3), para *C. coli* del 2,1% (101/4823) (IC 95%: 2,1–7) (IC 95%: 0–4) y para *Campylobacter* spp. 4,7% (225/4823) (IC 95%: 1,5–11). Al comparar las prevalencias generales se observó que la diferencia de *C. jejuni* con el resto fue estadísticamente significativa ( $\chi^2$ :  $p<0,001$ ).

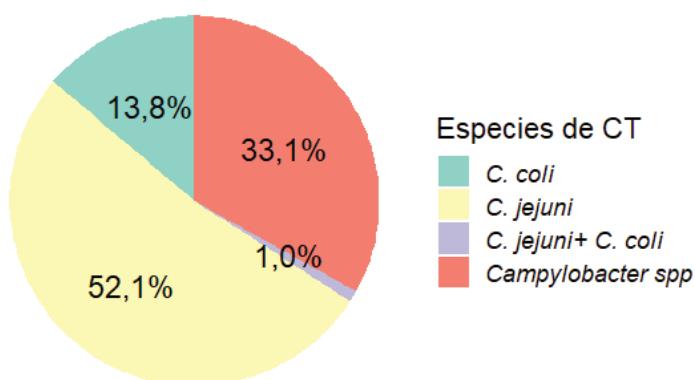


Figura 4: Proporción de los aislamientos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. jejuni+C. coli* y *Campylobacter* spp. en los establecimientos pecuarios.

#### 4. 1. 2. Prevalencia y distribución de *Campylobacter* spp. termotolerantes en los establecimientos de pollos de engorde

El 19,5 % (495/2542) (IC 95%: 18–21) de los animales domésticos, aves silvestres, vectores y fómites en los establecimientos de pollos de engorde fueron positivos a CT. De los 495 aislamientos obtenidos, el 57,6 % (285/495) (IC 95%: 47,3–67,4) perteneció a infecciones simples por *C. jejuni*; el 15,7 % (78/495) (IC 95%: 9,4–24,7) a infecciones simples por *C. coli*, y el 25,4% (126/495) (IC 95%: 47,7–67,8) a *Campylobacter* spp. Un total de 6 aislamientos presentaron co-infecciones de *C. jejuni* y *C. coli*, correspondieron al 1,2% (6/495) (IC 95%: 0 – 5,8) (Figura 5). Eso determinó que la prevalencia general de *C. jejuni* fue 11,4% (291/2542) (IC 95%: 5,8–19,1), para *C. coli* 3,3% (84/2542) (IC 95%: 0,7–8,7) y para *Campylobacter* spp. 4,9% (126/2542) (IC 95%: 1,6–11,1).

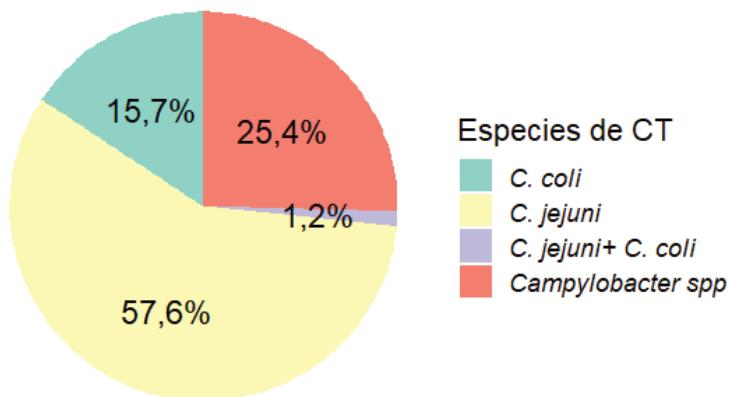


Figura 5: Proporción de los aislamientos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. jejuni* + *C. coli* y *Campylobacter* spp. en establecimientos de pollos de engorde.

La mayor frecuencia de aislamientos de CT fue obtenido con un 48,1% en pollos de engorde, seguidos por un 38,2% en las botas de empleados y 29,7% en las aves silvestres (Tabla 2). Continuó con un 18,0% en *A. diaperinus* en los adultos con desinfección, 12,0% en adultos sin desinfección, 9,0% en larvas con desinfección y 6,7% en larvas sin desinfección. Con menor frecuencia, CT fue aislado con un 2,3% en el agua; 2,0% en moscas con desinfección y 1,0% en la cama. Ningún aislamiento fue obtenido de alimento ( $n = 105$ ), moscas sin desinfección ( $n = 101$ ), caninos domésticos ( $n = 29$ ) ni felinos domésticos ( $n = 4$ ).

Tabla 2: Prevalencia y distribución de *Campylobacter* termotolerantes en los diferentes compartimentos muestreados en establecimientos de pollos de engorde.

Origen de la muestra	Aislamientos de <i>Campylobacter</i> termotolerantes (CT)			
	N positivos /N Total (%)	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>Campylobacter</i> spp.
Pollos de engorde	248/509 (48,7)	147/509 (28,9)	59/509 (11,6)	42/509 (8,2)
Aves silvestres	148/665 (22,2)	72/665 (10,8)	11/665 (1,6)	65/665 (9,8)
Agua	3/129 (2,3)	3/129 (2,3)	0/129 (0,0)	0/129 (0,0)
Alimento	0/105 (0,0)	0/105 (0,0)	0/105 (0,0)	0/105 (0,0)
Botas de empleados	13/34 (38,2)	9/34 (26,5)	2/34 (5,9)	2/34 (5,9)
Cama	1/106 (1,0)	1/106 (1,0)	0/106 (0,0)	0/106 (0,0)
<i>A. diaperinus</i> adulto c/ desinfección	33/183 (18,0)	20/183 (10,9)	3/183 (1,6)	10/183 (5,5)
<i>A. diaperinus</i> adulto s/ desinfección	23/191 (12,0)	18/191 (9,4)	1/191 (0,5)	4/191 (2,1)
<i>A. diaperinus</i> larva c/ desinfección	17/190 (9,0)	14/190 (7,4)	1/190 (0,5)	2/190 (1,0)
<i>A. diaperinus</i> larva s/ desinfección	13/194 (6,7)	11/194 (5,7)	1/194 (0,5)	1/194 (0,5)
Mosca domestica c/ desinfección	2/102 (2,0)	2/102 (2,0)	0/102 (0,0)	0/102 (0,0)
Mosca domestica s/ desinfección	0/101 (0,0)	0/101 (0,0)	0/101 (0,0)	0/101 (0,0)
Caninos	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)
Felinos	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)
<b>Total</b>	<b>495/2542 (19,5)</b>	<b>297/2542 (11,7)</b>	<b>78/2542 (3,1)</b>	<b>126/2542 (4,9)</b>

La prevalencia en pollos de engorde fue significativamente mayor ( $p<0,001$ ) en comparación con el resto de los compartimentos, a excepción de las botas de los empleados ( $p=0,24$ ) (Figura 6).

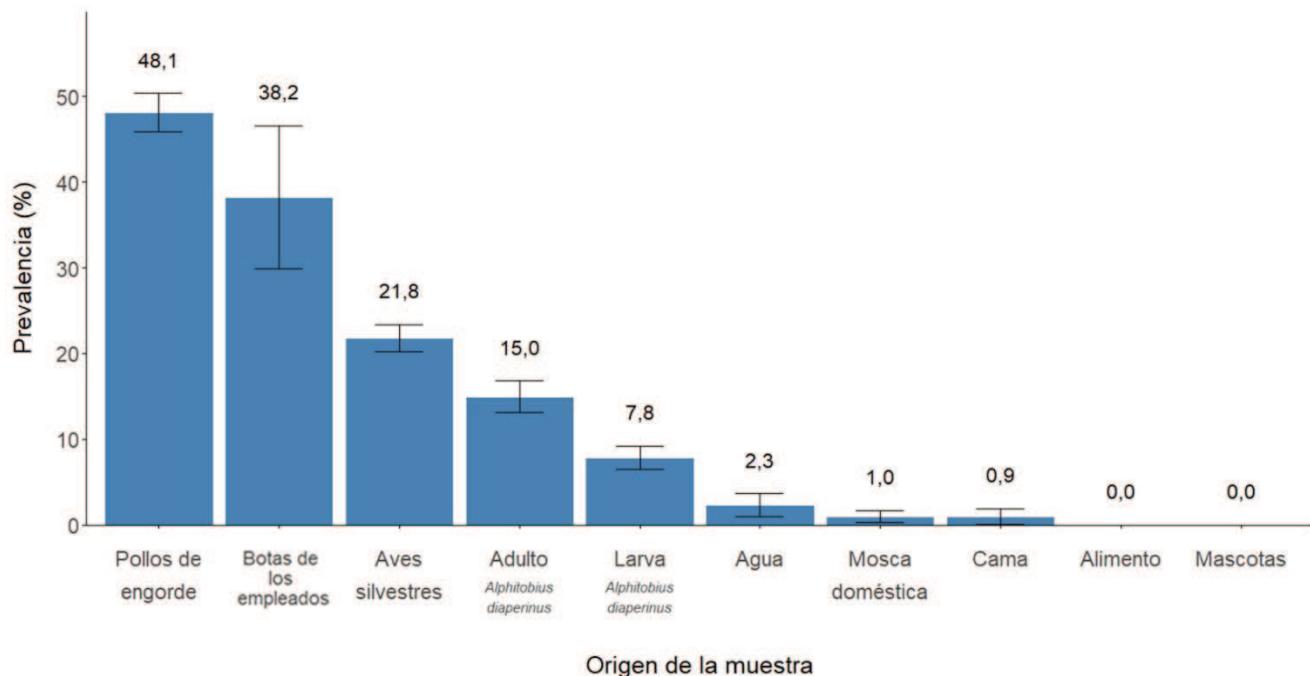


Figura 6: Prevalencia de CT en muestras recolectadas en establecimientos de pollos de engorde (las barras de error indican intervalos de 95% de confianza).

La distribución de las especies de CT no mostraron homogeneidad al comparar los pollos de engorde, aves silvestres y estadío larval y adulto de *A. diaperinus*. En pollos de engorde, tanto *C. jejuni* como *C. coli* se encontraron en mayor proporción que en las aves silvestres ( $\chi^2= 40,90$ ;  $p<0,001$ ) y que en estadío larval y adulto de *A. diaperinus* ( $\chi^2=11,55$ ;  $p=0,003$ ). En cambio, al compararse el conjunto de vectores y fómites (agua, alimento, cama, mosca doméstica, mascotas y botas de los empleados) con los pollos de engorde no mostraron diferencias ( $p= 0,232$ ); de igual manera ocurrió, al compararse con el estadío larval y adulto de *A. diaperinus* ( $\chi^2=1,06$ ;  $p=0,589$ ).

Las aves silvestres al compararse con el conjunto de vectores y fómites (agua, alimento, cama, mosca doméstica, mascotas y botas de los empleados:  $\chi^2= 7,85$ ;  $p=0,019$ ) y con estadíos larval y adulto de *A. diaperinus* mostraron diferencias ( $\chi^2=14,78$ ;  $p<0,003$ ). Esta diferencia fue debida a que *Campylobacter* spp. (no *jejuni* ni *coli*) estuvo representado en una alta proporción en las aves silvestres.

#### 4. 1. 3. Prevalencia y distribución de *Campylobacter* spp. termotolerante en establecimientos lecheros

El 8,1% (185/2275) (IC 95%: 7,1–9,3) de los animales domésticos, aves silvestres, vectores y fómites muestrados fueron positivos a CT. De las 185 muestras positivas 37,4% (70/185) (IC 95%: 2,8–47,5) correspondieron a infecciones simples por *C. jejuni*; 8,6% (16/185) (IC 95%: 3,9–15,9) a infecciones simples por *C. coli* y en un 53,5% (99/185) (IC 95%: 4,3–63,5) la especie no pudo ser determinada. Un aislamiento presentó co-infección de *C. jejuni* y *C. coli*, que correspondió al 0,5% (1/185) (IC 95%: >0–4,6) (Figura 7). Teniendo en cuenta esa distribución, la prevalencia general de *C. jejuni* fue del 3,1% (71/2275) (IC 95%: 0,7–8,7), 0,7% para *C. coli* (17/2275) (IC 95%: 0-5) y 4,3% para *Campylobacter* spp. (99/2275) (IC 95%: 1,3–10,3).

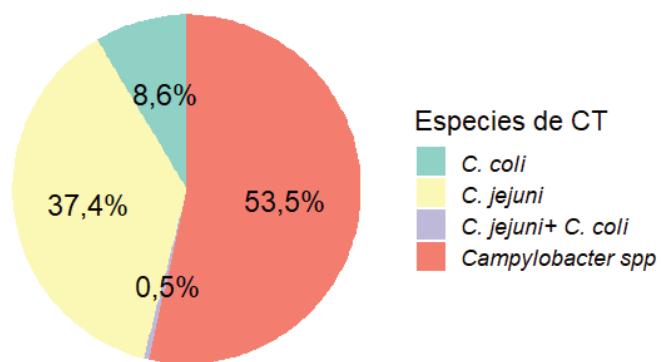


Figura 7: Proporción de aislamientos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. jejuni+C. coli* y *Campylobacter* spp. en establecimientos lecheros.

La mayor frecuencia de aislamientos de CT fue obtenido, con un 28,1%, de las aves de traspasio, un 16,1% en las aves silvestres y el 15,4% en terneros. En menor proporción, con un 4,2% se obtuvieron aislamientos de botas de los empleados, un 3,8% en leche, un 2,5% en vacas, un 1,5% moscas con desinfección, un 1,3% en el alimento y un 0,7% en moscas sin desinfección. Ninguna de las muestras de agua ( $n = 86$ ), rollo ( $n = 18$ ), silo ( $n = 29$ ), caninos ( $n = 52$ ) y felinos domésticos ( $n = 12$ ) fueron positivas a CT (Tabla 3).

Tabla 3: Frecuencia y distribución de *Campylobacter* termotolerantes en los diferentes compartimentos muestreados en establecimientos lecheros.

Origen de la muestra	Aislamientos de <i>Campylobacter</i> termotolerantes (CT)			
	N positivos / N Total (%)	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>Campylobacter. spp</i>
		N positivos / N Total (%)	N positivos / N Total (%)	N positivos / N Total (%)
Terneros	38/247 (15,4)	14/247 (5,7)	10/247 (4,0)	14/247 (5,7)
Vacas	18/712 (2,5)	11/712 (1,5)	0/712 (0,0)	7/712 (1,0)
Aves silvestres	95/591 (16,1)	25/591 (4,2)	1/591 (0,2)	69/591 (11,7)
Aves de traspaso (Gallinas y gansos)	26/89 (29,2)	17/89 (19,1)	4/89 (4,5)	5/89 (5,6)
Aqua	0/86 (0,0)	0/86 (0,0)	0/86 (0,0)	0/86 (0,0)
Alimento	1/75 (1,3)	1/75 (1,3)	0/75 (0,0)	0/75 (0,0)
Botas de empleados	2/47 (4,2)	1/47 (2,1)	1/47 (2,1)	0/47 (0,0)
Caninos	0/52 (0,0)	0/52 (0,0)	0/52 (0,0)	0/52 (0,0)
Felinos	0/12 (0,0)	0/12 (0,0)	0/12 (0,0)	0/12 (0,0)
Leche	2/53 (3,8)	1/53 (1,9)	0/53 (0,0)	1/53 (1,9)
Mosca doméstica c/desinfección	2/131 (1,5)	0/131 (0,0)	0/131 (0,0)	2/131 (1,5)
Mosca doméstica s/desinfección	1/133 (0,7)	0/133 (0,0)	0/133 (0,0)	1/133 (0,7)
Rollo	0/18 (0,0)	0/18 (0,0)	0/18 (0,0)	0/18 (0,0)
Silo	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)	0/29 (0,0)
<b>Total</b>	<b>185/2275 (8,1)</b>	<b>70/2275 (3,1)</b>	<b>16/2275 (0,7)</b>	<b>99/2275 (4,3)</b>

Por un lado, la prevalencia de las aves silvestres fue significativamente mayor que los bovinos (vacas y terneros) ( $p<0,001$ ) y con el conjunto de vectores y fomites ( $p<0,001$ ) (alimento, botas de los empleados, leche, caninos, felinos, rollo, silo y moscas con y sin desinfección). No obstante, la prevalencia de las aves domésticas de traspatio (gallinas y gansos) fue significativamente mayor que las aves silvestres ( $p=0,002$ ), los bovinos ( $p<0,001$ ) y el conjunto de vectores y fomites ( $p<0,001$ ). Además, la prevalencia de los bovinos fue significativamente mayor que el agua ( $p=0,021$ ) y las moscas con desinfección ( $p=0,037$ ). Sin embargo, al compararse con el resto de los compartimentos (alimento, botas de los empleados, leche, caninos, felinos, rollo, silo y moscas sin desinfección) no fueron halladas diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) (Figura 8).

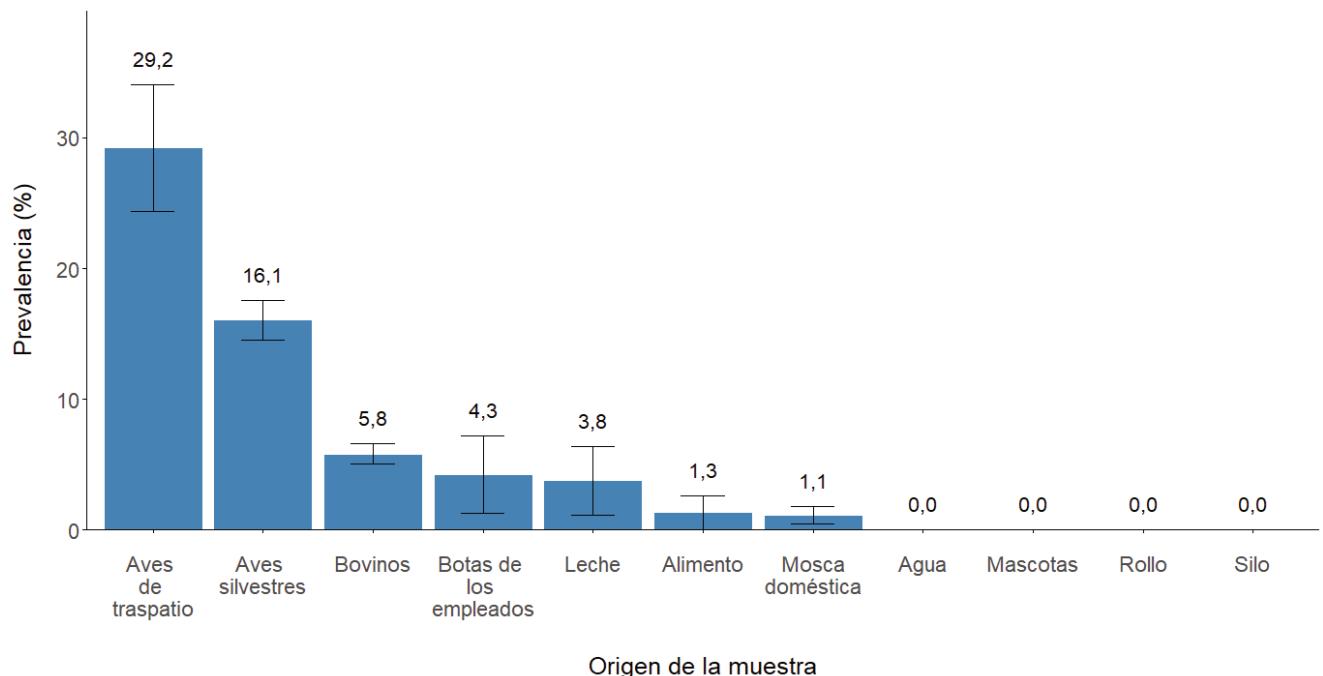


Figura 8: Prevalencia de CT en muestras recolectadas en establecimientos lecheros (las barras de error indican intervalos de 95% de confianza).

Por otro lado, al comparar la distribución de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp. de los bovinos con las aves silvestres, *Campylobacter* spp. predominó en las aves silvestres ( $\chi^2= 24,53$ ;  $p<0,001$ ). Asimismo, la composición de especies de CT no fue homogénea entre las aves silvestres y las de traspatio ( $\chi^2= 28,64$ ;  $p<0,001$ ), *Campylobacter* spp. estuvo más representado en los aislamientos de aves silvestres y *C. jejuni* en las aves de traspatio.

Sin embargo, no se observaron diferencias entre la distribución de especies de CT al comparar bovinos con las aves de traspatio ( $\chi^2= 3,42; p=0,180$ ) y con vectores y fómites ( $\chi^2= 0,48; p=0,787$ ). Tampoco hubo diferencias entre proporciones de especies de CT al comparar los vectores y fómites con las aves silvestres ( $\chi^2= 5, 85; p= 0, 053$ ) y con las aves de traspatio ( $\chi^2= 3,03; p= 0, 219$ ).

#### **4. 1. 4. Comparación de prevalencias generales entre los establecimientos pecuarios**

Las prevalencias generales de los bovinos, pollos de engorde y aves silvestres fueron significativamente diferentes ( $\chi^2=453,59; p<0,001$ ). Los pollos de engorde tuvieron prevalencias significativamente mayores que las aves silvestres (pertenecientes a ambos sistemas pecuarios) ( $\chi^2=158,80; p<0,001$ ) y que los bovinos ( $\chi^2=372,41; p<0,001$ ). Además, las prevalencias de aves silvestres fueron significativamente diferentes a las de los bovinos ( $\chi^2=82,69; p<0,001$ ). Se observaron diferencias significativas entre las botas de los empleados de cada tipo de establecimiento pecuario ( $\chi^2=15,09; p<0,001$ ), siendo 8 veces mayor en los establecimientos de pollos de engorde (38,2%) que en los lecheros (4,2%); de igual manera a lo ocurrido con los vectores y fómites restantes ( $\chi^2=20,89; p<0,001$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en moscas domésticas de ambos tipos de establecimientos ( $\chi^2=0,02; p=0,875$ ).

#### **4. 2. CT en aves silvestres de establecimientos pecuarios**

##### **4. 2. 1. Descripción general de los resultados**

Un total de 1256 aves silvestres fueron capturadas, las cuales pertenecieron a 19 familias y siete Órdenes. El Orden con mayor frecuencia de capturas fue Passeriformes, representando el 93,6% de las aves capturadas (Figura 9. A). Esto correspondió a 1176 individuos de 13 familias. La familia que presentó mayor proporción de individuos fue Passeridae, siendo la especie más capturada el gorrión doméstico. En menor número fueron capturadas Furnariidae, Troglodytidae e Icteridae (Tabla 4, Figura 9. B). El resto de los seis órdenes fueron representados por una sola familia cada uno y con bajo número de individuos, siendo la excepción los Columbiformes tanto en número de

individuos ( $n = 54$ ) como número de especies ( $n = 3$ ) (Tabla 6). De las 19 familias totales reportadas, 12 fueron capturadas en ambos sistemas pecuarios. De las siete familias restantes, seis fueron capturadas sólo en establecimientos lecheros (Passerellidae, Thraupidae, Polioptilidae, Sturnidae, Charadriidae y Pelecaridae) y Cuculidae se capturó sólo en establecimientos de pollos de engorde (Tabla 4).

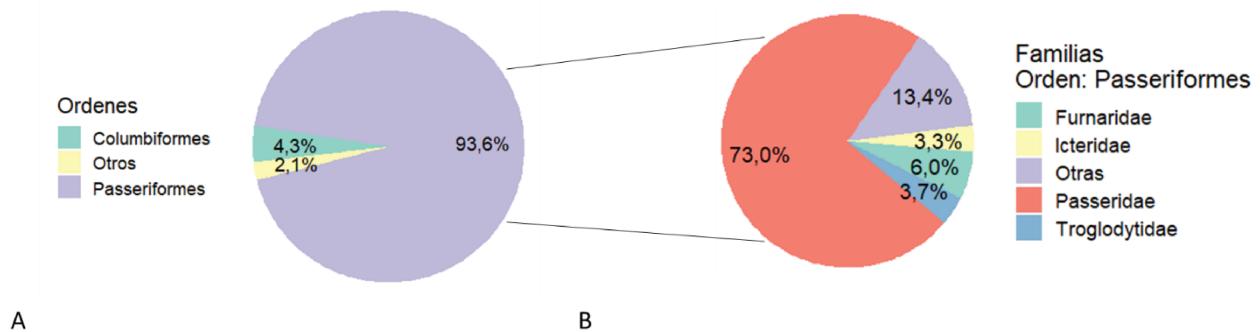


Figura 9 A. Proporción de los Órdenes de las aves silvestres. En “Otros” fueron incluidos aquellos que representaron una proporción menor del 1,5%. B. Proporción de familias de aves silvestres muestreadas en establecimientos pecuarios que pertenecen al Órden Passeriformes. En “otras” fueron incluidas aquellas familias que representaron a una proporción menor/ igual del 2,5%.

Tabla 4: Prevalencia y especies de CT de las aves silvestres en establecimientos pecuarios.

Familia de ave silvestre	Especie de ave silvestre	Nombre común de ave silvestre	N positivos/N total (%)	Aislamientos de <i>Campylobacter</i> termotolerantes (CT)			Establecimiento
				N positivos/N total (%) <i>C. jejuni</i>	N positivos/N total (%) <i>C. coli</i>	N positivos/N total (%) <i>Campylobacter spp</i>	
Charadriidae	<i>Vanellus chilensis</i>	Tero común	2/2 (100)	0/2 (0)	0/2 (0)	2/2 (100)	Lechero
Columbidae	<i>Columba livia</i>	Paloma bravía	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Avícola
			0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
	<i>Columbina picui</i>	Torcacita	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)	Avícola
			1/34 (2,9)	1/34 (2,9)	0/34 (0)	0/34 (0)	Lechero
Zenaididae	<i>Zenaida auriculata</i>	Torcaza	1/2 (50)	0/2 (0)	0/2 (0)	1/2 (50)	Avícola
Cuculidae	<i>Guira guira</i>	Pirincho	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Avícola
Emberizidae	<i>Paroaria coronata</i>	Cardenal	7/23 (30,4)	3/23 (13)	0/23 (0)	4/23 (17,4)	Lechero
			0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	Avícola
	<i>Zonotrichia capensis</i>	Chingolito	1/6 (16,7)	0/6 (0)	0/6 (0)	1/6 (16,7)	Lechero
Furnariidae	<i>Drymornis bridgesii</i>	Chinchero grande	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
	<i>Furnarius rufus</i>	Hornero	1/29 (3,4)	1/29 (3,4)	0/29 (0)	0/29 (0)	Lechero
			4/25 (16)	2/25 (8)	0/25 (0)	1/25 (4,0)	Avícola
	<i>Phacellodon ruber</i>	Espinero grande	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	Lechero
	<i>Pseudoseisura iophotes</i>	Cachalote	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	Lechero

	<i>Schoeniophylax phryganophilus</i>	Chotoy	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
			0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Avícola
	<i>Synallaxis spp.</i>	Synallaxis spp.	1/2 (50)	1/2 (50)	0/2 (0)	0/2 (0)	Lechero
	<i>Turdus rufibentris</i>		0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	Lechero
		Zorzal colorado	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Avícola
Icteridae	<i>Agelaioides badius</i>	Tordo músico	2/7 (28,6)	0/7 (0)	0/7 (0)	2/7 (28,6)	Lechero
			3/15 (20)	1/15 (6,7)	2/15 (13,3)	0/15 (0)	Avícola
	<i>Chrysomus ruficapillus</i>	Varillero congo	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Avícola
	<i>Molothrus bonariensis</i>	Negrucho	5/9 (55,5)	1/9 (11,1)	0/9 (0)	4/9 (44,4)	Lechero
			3/8 (37,5)	1/8 (12,5)	0/8 (0)	2/8 (25)	Avícola
	<i>Molothrus rufoaxillaris</i>	Tordo pico corto	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Avícola
	<i>Mimus saturninus</i>	Calandria grande	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	Lechero
			0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Avícola
Passeridae	<i>Passer domesticus</i>	Gorrión doméstico	64/372 (17,2)	14/372 (3,8)	0/372 (0)	50/372 (13,4)	Lechero
			128/545 (23,5)	61/545 (11,2)	7/545 (1,3)	60/545 (11)	Avícola
Passerellidae	<i>Ammodramus humeralis</i>	Cachilo cejas amarillas	1/7 (14,3)	0/7 (0)	0/7 (0)	1/7 (14,7)	Lechero
Picidae	<i>Colaptes campestris</i>	Carpintero	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	Lechero
			0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Avícola
Poliptilidae	<i>Polioptila dumicola</i>	Tacuarita azul	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	Lechero
Psittacidae	<i>Myiopsitta monachus</i>	Cotorra	0/14 (0)	0/14 (0)	0/14 (0)	0/14 (0)	Lechero
			0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Avícola
Sturnidae	<i>Sturnus vulgaris</i>	Estornino pinto	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
Thamnophilidae	<i>Taraba major</i>	Chororó	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
			0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Avícola
Threskiornithidae	<i>Plegadis chihi</i>	Cuervillo de cañada	1/1 (100)	0/1 (0)	0/1 (0)	1/1 (100)	Lechero

Thraupidae	<i>Saltator coerulescens</i>	Pepitero gris	1/2 (50)	0/2 (0)	0/2 (0)	1/2 (50)	Lechero
	<i>Sicalis flaveola</i>	Jilguero dorado	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	Lechero
	<i>Sporophila caerulescens</i>	Corbatita común	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	Lechero
Troglodytidae	<i>Troglodytes aedon</i>	Ratonera	5/33 (15,1)	3/33 (9,1)	0/33 (0)	2/33 (6,1)	Lechero
			1/13 (7,7)	1/13 (7,7)	0/13 (0)	0/13 (0)	Avícola
Tyrannidae	<i>Pitangus sulphuratus</i>	Benteveo	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)	Lechero
			1/12 (8,3)	0/12 (0)	0/12 (0)	1/12 (8,3)	Avícola
	<i>Machetornis rixosa</i>	Picabuey	1/3 (33,3)	0/3 (0)	1/3 (33,3)	0/3 (0)	Lechero
			3/4 (75)	1/4 (25)	2/4 (50)	0/4 (0)	Avícola
Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	Zorzal chalchalero	1/5 (20)	0/5 (0)	0/5 (0)	1/5 (20)	Lechero
			1/8 (12,5)	1/8 (12,5)	0/8 (0)	0/8 (0)	Avícola

Según el gremio trófico al que pertenecen las aves silvestres, la mayor proporción correspondió a los omnívoros (74,2%), seguido por los insectívoros (11,7%), los granívoros (8,8%) y por último, los frugívoros (5,2%) (Figura 10. A). De acuerdo a la alimentación a nivel del suelo, aquellas aves que mayormente se alimentan en el suelo representaron la mayor proporción (91,2%), continuando con las que lo hacen con poca frecuencia (7,9%) y por último, aquellas que no se alimentan del suelo (1,0%) (Figura 10. B).

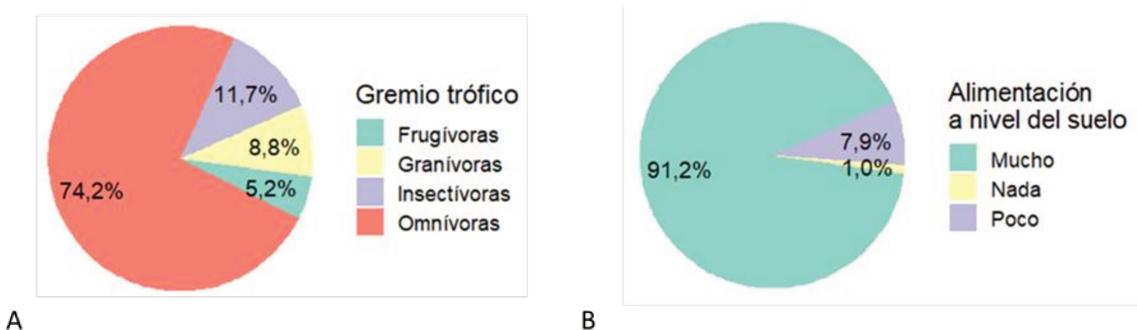


Figura 10: A. Proporción de aves silvestres halladas en establecimientos pecuarios que pertenecen a diversos gremios tróficos. B. Proporción de aves silvestres según su frecuencia de alimentación con respecto al suelo.

En general, el 19,1% (240/1256) (IC 95%: 16,7–21,7) de las aves silvestres fueron positivas a CT. De los 240 aislamientos obtenidos el 39,2% (94/240) (IC 95%: 29,6–49,5) correspondió a infecciones simples por *C. jejuni*; el 5,0% (12/240) (IC 95%: 1,6–11,3) a infecciones simples por *C. coli* y del 55,8% (134/240) (IC 95%: 45,5–65,7) de las muestras positivas restantes no pudo determinarse la especie de *Campylobacter*. Un total de tres aves fueron detectadas co-infecciones de *C. jejuni* y *C. coli*, que correspondieron al 1,2% (3/240) (IC 95%: 0,0–5,8) (Figura 11). Teniendo en cuenta esta distribución, la prevalencia general de *C. jejuni* fue 7,7% (97/1256) (IC 95%: 3,2–14,5), 1,2% para *C. coli* (15/1256) (IC 95%: 0–5,4) y 10,7% para *Campylobacter* spp. (134/1256) (IC 95%: 5,4–18,5).

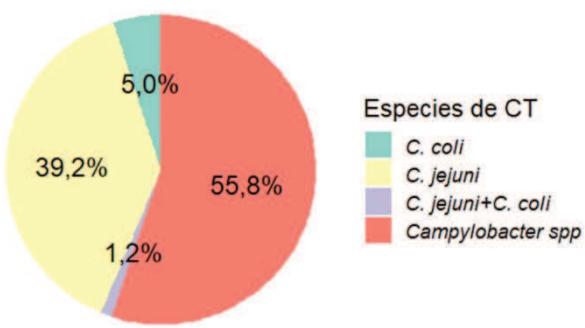


Figura 11: Proporción de aislamientos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. jejuni* + *C. coli* y *Campylobacter* spp. en aves silvestres capturadas en establecimientos pecuarios.

En los establecimientos de pollos de engorde el 21,8% de las aves silvestres capturadas fueron positivas a CT, mientras que en establecimientos lecheros la prevalencia fue 16,1%. Por otro lado, la distribución de la prevalencia fue con un 47,6% para *C. jejuni*, un 9,6% para *C. coli* y un 44,8% *Campylobacter* spp. en establecimientos de pollos de engorde. En cambio, en los establecimientos lecheros la prevalencia fue con un 26,3% para *C. jejuni*, un 1,1% para *C. coli* y un 72,6% para *Campylobacter* spp. Las co-infecciones de *C. jejuni* y *C. coli* sólo fueron observadas en establecimientos de pollos de engorde.

Tabla 5: Prevalencia y distribución de *Campylobacter* termotolerantes en aves silvestres en los establecimientos productivos.

Establecimiento	Especies de <i>Campylobacter</i> termotolerante			
	N positivos /N Total (%)	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>Campylobacter</i> spp.
		N positivos /N Total (%)	N positivos /N Total (%)	N positivos /N Total (%)
Pollos de engorde	145/665 (21,8%)	69/145 (47,6%)	14/145 (9,6%)	65/145 (44,8%)
Tambo	95/591 (16,1%)	25/95 (26,3%)	1/95 (1,1%)	69/95 (72,6%)

#### 4. 2. 2. Prevalencia de CT según grupo taxonómico

El Orden Passeriformes tuvo el registro de prevalencia más alto, siendo del 20,0%. Los únicos tres individuos capturados pertenecientes a los Ordenes Charadriiformes y Pelecaniformes resultaron positivos a CT (Tabla 6).

Tabla 6: Prevalencia de CT en las familias de aves silvestres en establecimientos pecuarios.

Orden	Familia de Aves silvestres	N positivos CT/N Total (%)	Establecimiento	
			Pollos de engorde	Lecheros
Passeriformes	Passeridae	192/917 (20,9)	128/545 (23,5)	64/372 (17,2)
	Furnariidae	6/76 (7,9)	4/28 (14,3)	2/48 (4,2)
	Troglodytidae	6/46 (13,0)	1/13 (7,7)	5/33 (15,1)
	Icteridae	13/41 (31,7)	6/25 (24,0)	7/16 (43,7)
	Emberizidae	8/32 (25,0)	0/3 (0,0)	8/29 (27,6)
	Tyrannidae	5/25 (20,0)	4/16 (25,0)	1/9 (11,1)
	Turdidae	2/13 (15,4)	1/8 (12,5)	1/5 (20,0)
	Mimidae	0/8 (0,0)	0/1 (0,0)	0/7 (0,0)
	Passerellidae	1/7 (14,3)	0/0 (0,0)	2/7 (14,3)
	Thraupidae	1/5 (20,0)	0/0 (0,0)	1/5 (20,0)
Charadriiformes	Polioptilidae	0/3 (0,0)	0/0 (0,0)	0/3 (0,0)
	Thamnophilidae	1/2 (50,0)	0/1 (0,0)	1/1 (100,0)

	Sturnidae	0/1 (0,0)	0/0 (0,0)	0/1 (0,0)
Columbiformes	Columbidae	2/54 (3,7)	1/19 (5,3)	1/35 (2,9)
Psittaciformes	Psittacidae	0/16 (0,0)	0/2 (0,0)	0/14 (0,0)
Piciformes	Picidae	0/5 (0,0)	0/2 (0,0)	0/3 (0,0)
Charadriiformes	Charadriidae	2/2 (100,0)	0/0 (0,0)	2/2 (100,0)
Cuculiformes	Cuculidae	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)	0/0 (0,0)
Pelecaniformes	Threskiornithidae	1/1 (100,0)	0/0 (0,0)	1/1 (100,0)

Los ordenes fueron incluidos en un MLMG, como variable independiente, ajustando por año y por estación, y considerando muestreo y departamento como factores aleatorios (Tabla 7). Como resultado, se observó que los Passeriformes presentaron prevalencias significativamente mayores de CT en comparación con los Columbiformes mientras que los restantes (otros) no presentaron diferencias significativas con ninguno de ellos (Figura 12).

Tabla 7: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia de CT en las aves silvestres en los establecimientos pecuarios. Las variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.

Modelo: presencia de CT ~ Año + Orden + Estación

Efectos aleatorios: Muestreo + Departamento

Variables de referencia: Orden: Columbiformes / Estación: invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0,05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-4,919</b>	<b>0,826</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>0,856</b>	<b>0,214</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Orden: otros	1,102	0,967	0,255
<b>Orden: Passeriformes</b>	<b>1,726</b>	<b>0,733</b>	<b>0,018</b>
Estación: otoño	0,609	0,300	0,042
Estación: primavera	0,486	0,304	0,110
Estación: verano	0,328	0,309	0,289

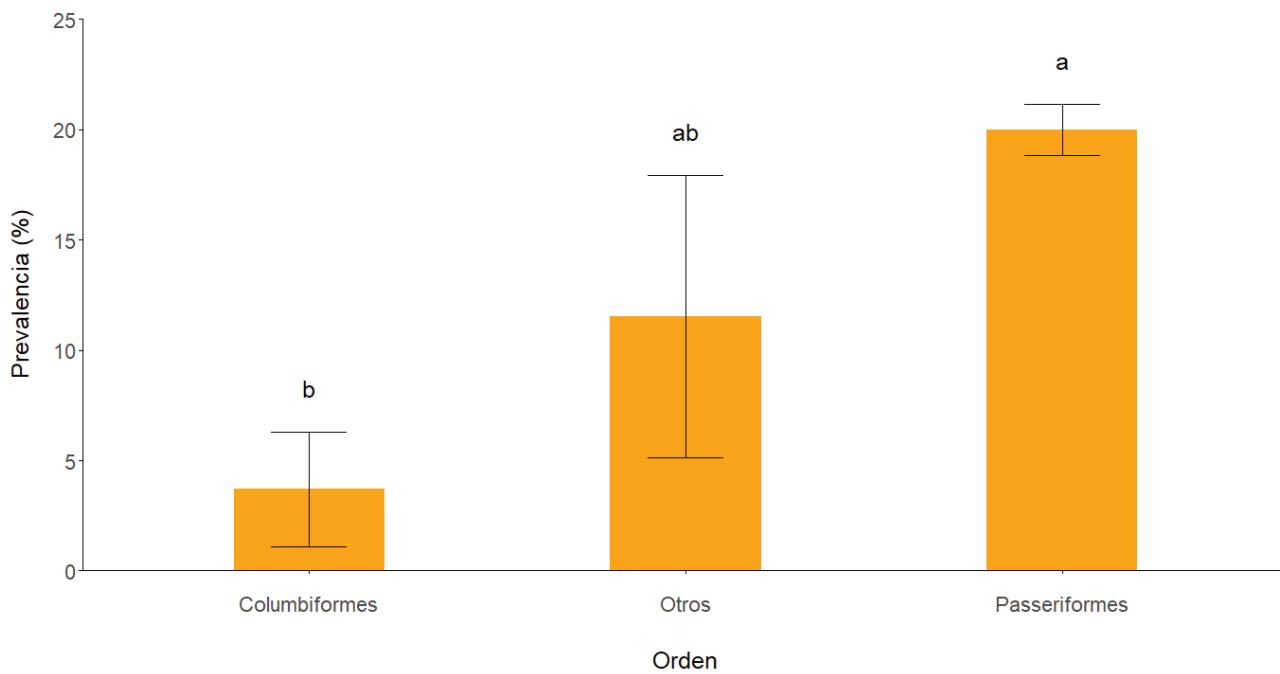


Figura 12: Prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes por Ordenes de aves silvestres. Las diferencias significativas fueron indicadas por distintas letras ( $p= 0,007$ ).

Las prevalencias en las familias de Passeriformes con un número mayor a 15 individuos en orden decreciente fueron: Icteridae (31,7%), Emberizidae (25,0%), Passeridae (20,9%), Tyrannidae (20,0%), Turdidae (15,4%), Troglodytidae (13,0%) y Furnariidae (7,9%). Por último, las familias

Polioptilidae, Sturnidae y Mimidae no fue detectada la presencia de CT (Tabla 6).

De todas las familias de Passeriformes mencionadas, fueron seleccionadas para el análisis estadístico aquellas que presentaron mayor número de individuos, siendo estas los Passeridae ( $n = 917$ ), Furnaridae ( $n = 76$ ), Troglodytidae ( $n = 46$ ), Icteridae ( $n = 41$ ), y las restantes fueron incluidas en “otras” ( $n = 96$ ). Estas familias fueron incluidas en un MLMG, como variable independiente, ajustando por año y por estación, y considerando muestreo y departamento como factores aleatorios, para comparar las prevalencias de CT entre las familias de Passeriformes (Tabla 8). Las familias Passeridae e Icteridae tuvieron prevalencias significativamente mayores que Furnaridae, sin embargo, con la familia Troglodytidae y las restantes (otras) no se encontraron diferencias significativas (Figura 13).

Tabla 8: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial asociado a la presencia de CT en las familias Passeridae, Furnaridae, Icteridae, Troglodytidae y otras familias de aves silvestres que pertenecen al Orden Passeriformes en los establecimientos pecuarios. Las variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.

---

Modelo: presencia de CT ~ Año + Familias + Estación

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variables de referencia: Familia: Furnaridae/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-4,518</b>	<b>0,607</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>0,965</b>	<b>0,217</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Familia: Icteridae</b>	<b>1,906</b>	<b>0,562</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Familia: Passeridae</b>	<b>1,204</b>	<b>0,446</b>	<b>0,007</b>
Familia: Troglodytidae	0,863	0,628	0,169
Familia: Otras	0,945	0,518	0,068
Estación: otoño	0,373	0,300	0,049
Estación: primavera	0,407	0,299	0,174
Estación: verano	0,298	0,302	0,324

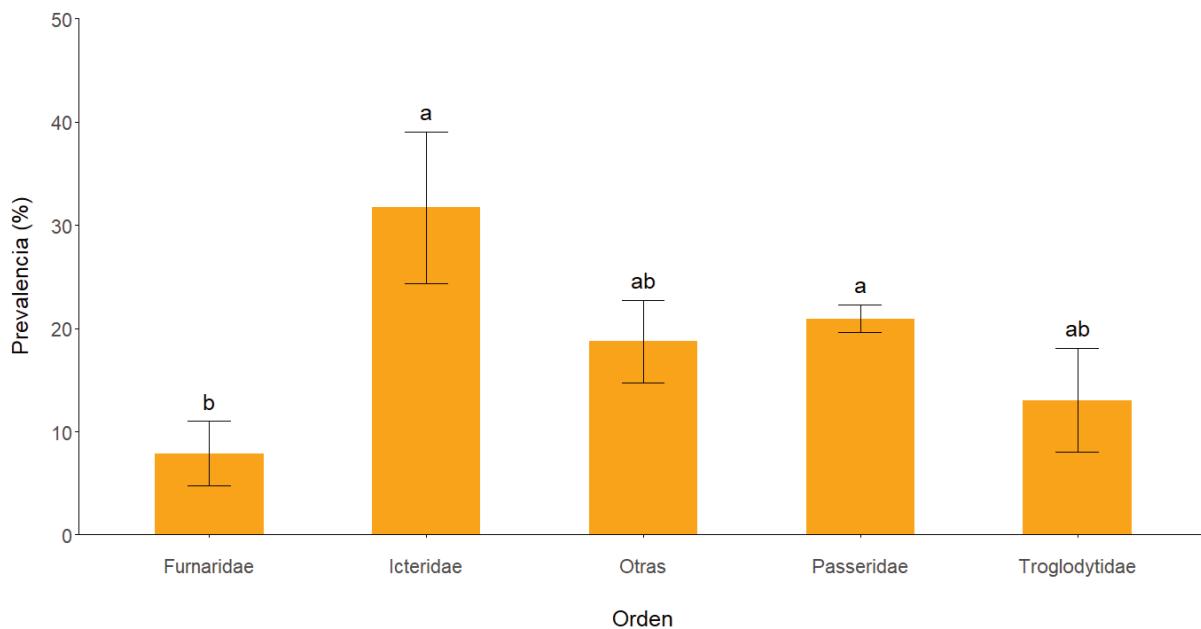


Figura 13: Prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes de las familias que pertenecen al Orden: Passeriformes. Las diferencias significativas entre las familias fueron indicadas por las diferentes letras ( $p = 0,014$ ).

#### 4. 2. 3. Asociaciones con aspectos ecológicos

Las aves silvestres fueron clasificadas de acuerdo a los gremios tróficos a los cuales pertenecían. Los gremios fueron variables en cuanto a la abundancia y riqueza de especies de aves. Los insectívoros fueron los que presentaron mayor riqueza de aves silvestres (15 especies), seguidos por los granívoros (9 especies) y con igual número de especies los omnívoros y los frugívoros (5 especies cada uno). Los omnívoros (932 individuos) fueron los que tuvieron mayor abundancia de aves silvestres, seguidos por los insectívoros (145 individuos), granívoros (111 individuos) y por último, los frugívoros (66 individuos) (Tabla 9). Con respecto a la prevalencia general de CT cada gremio trófico, los omnívoros tuvieron los registros más altos (20,7%), seguidos por los frugívoros (16,7%), insectívoros (14,5%) y por último, los granívoros (13,5%). Sin embargo, las prevalencias fueron diferentes según el tipo de establecimiento pecuario. Para los establecimientos de pollos de engorde los omnívoros presentaron mayor prevalencia (23,4%), seguidos por los insectívoros (17,4%), granívoros (15,9%) y los frugívoros (8,0%). Por el contrario, en los establecimientos lecheros, los frugívoros fueron los que tuvieron mayor prevalencia (21,9%),

continuando con los omnívoros (16,9%), insectívoros (13,1%) y granívoros (11,9%) (Tabla 9).

Tabla 9: Prevalencia general de CT de distintos gremios tróficos y alimentación a nivel del suelo a los que pertenecen las aves silvestres que habitan en establecimientos pecuarios.

Gremio trófico	Especies	N positivos total (%)	CT/N Establecimiento		Alimentación a nivel del suelo	Especies	N positivos CT/N total (%)	Establecimiento	
			Pollos de engorde	Tambo				Pollos de Tambo	engorde
Omnívoro	<i>Passer domesticus</i>				Mucho	<i>Agelaioides badius</i>			
	<i>Mimus saturninus</i>					<i>Ammodramus humeralis</i>			
	<i>Columba livia</i>	193/932 (20,7)	128/548 (23,4)	65/384 (16,9)		<i>Colaptes campestris</i>			
	<i>Plegadis chihi</i>					<i>Columba livia</i>			
	<i>Polioptila dumicola</i>					<i>Columbina picui</i>			
Insectívoro	<i>Ammodramus humeralis</i>				Mucho	<i>Drymornis bridgesii</i>			
	<i>Colaptes campestris</i>					<i>Furnarius rufus</i>			
	<i>Drymornis bridgesii</i>					<i>Guira guira</i>			
	<i>Furnarius rufus</i>					<i>Machetornis rixosa</i>			
	<i>Machetornis rixosa</i>					<i>Mimus saturninus</i>			
	<i>Phacellodonus ruber</i>					<i>Molothrus bonariensis</i>	228/1145 (19,9)	142/627 (22,6)	86/518 (16,6)
	<i>Pseudoseisura iophotes</i>	21/145 (14,5)	8/46 (17,4)	13/99 (13,1)		<i>Molothrus rufoaxillaris</i>			
	<i>Schoeniophylax phryganophilus</i>					<i>Paroaria coronata</i>			
	<i>Sturnus vulgaris</i>					<i>Passer domesticus</i>			
	<i>Synallaxis spp.</i>					<i>Plegadis chihi</i>			
	<i>Taraba major</i>					<i>Pseudoseisura iophotes</i>			
	<i>Troglodytes aedon</i>					<i>Sturnus vulgaris</i>			
	<i>Vanellus chilensis</i>					<i>Turdus rufibentrис</i>			
	<i>Zonotrichia capensis</i>					<i>Vanellus chilensis</i>			
	<i>Guira guira</i>					<i>Zenaida auriculata</i>			
Frugívoro	<i>Paroaria coronata</i>				Poco	<i>Zonotrichia capensis</i>			
	<i>Pitangus sulphuratus</i>					<i>Chrysomus ruficapillus</i>			
	<i>Saltator coerulescens</i>	11/66 (16,7)	2/25 (8,0)	9/41 (21,9)		<i>Myiopsitta monachus</i>	11/99 (11,1)	3/37 (8,1)	8/62 (12,9)
	<i>Turdus amaurochalinus</i>					<i>Pitangus sulphuratus</i>			
	<i>Turdus rufibentrис</i>					<i>Saltator coerulescens</i>			

	<i>Agelaioides badius</i>		<i>Sicalis flaveola</i>
	<i>Chrysomus ruficapillus</i>		<i>Taraba major</i>
	<i>Columbina picui</i>		<i>Troglodytes aedon</i>
	<i>Molothrus bonariensis</i>		<i>Turdus amaurochalinus</i>
Granívoro	<i>Molothrus rufoaxillaris</i>	15/111 (13,5)	<i>Phacellodonus ruber</i>
	<i>Myiopsitta monachus</i>	7/44 (15,9)	<i>Polioptila dumicola</i>
	<i>Sicalis flaveola</i>	8/67 (11,9)	<i>Schoeniophylax</i>
	<i>Sporophila caerulescens</i>		<i>phryganophilus</i>
	<i>Zenaida auriculata</i>		1/12 (8,3)
			<i>Synallaxis spp.</i>
			<i>Sporophila caerulescens</i>
			0/1 (0,0) 1/11 (9,1)

Los gremios tróficos fueron incluidos en un MLMG, como variable independiente, ajustando por año y por estación y considerando muestreo y departamento como factores aleatorios, para comparar las prevalencias de CT entre ellos. No hubo asociaciones significativas entre gremios con respecto a la presencia de CT (Tabla 10).

Tabla 10: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en aves silvestres que pertenecen a los diversos gremios tróficos en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables estadísticamente significativas están en negrita.

Modelo: presencia de CT ~ Año + Gremio trófico + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Departamento

Variable de referencia: Gremio trófico: Frugívoro/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-3,532</b>	<b>0,565</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2° Año</b>	<b>0,909</b>	<b>0,211</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Gremio: granívoro	0,079	0,462	0,864
Gremio: insectívoro	0,087	0,432	0,841
Gremio: omnívoro	0,448	0,375	0,232
Estación: otoño	0,575	0,296	0,052
Estación: primavera	0,487	0,301	0,106
Estación: verano	0,305	0,304	0,315
Establecimiento: tambo	-0,293	0,210	0,164

Además de clasificarse a las aves silvestres por el gremio trófico, se tuvo en cuenta la alimentación de acuerdo a nivel del suelo. Las aves silvestres que se alimentaban con frecuencia a nivel del suelo, presentaron tanto la mayor abundancia como riqueza de especies (1145 individuos, 21 especies), seguido por las que se alimentaron con poca frecuencia (99 individuos, 8 especies) y por último, las que no frecuentaron la alimentación en el suelo (12 individuos, 5 especies). Aquellas aves que se alimentaban frecuentemente en el suelo (Mucho), presentaron mayor prevalencia (19,9%), comparadas con las que frecuentaban poco (11,1%) o nada (8,3%) el suelo para alimentarse (Tabla 9).

Al compararse las prevalencias con un análisis sin ajuste se observó que las aves silvestres que se alimentan con frecuencia a nivel del suelo fueron significativamente mayores que aquellas que lo hacen con menor frecuencia o nunca ( $\chi^2 = 5,42$ ;  $p = 0,019$ ) (Figura 14). Las prevalencias fueron incluidas en un MLMG, como variable

independiente, ajustando por año, establecimiento y por estación y considerando muestreo y departamento como factores aleatorios para verificar su asociación a la presencia de CT (Tabla 11). A pesar de haber mostrado diferencias significativas entre ellas, al incluirlas en el modelo no estuvieron significativamente asociadas a la presencia de CT, sin embargo, se observó una tendencia ( $p=0,076$ ).

Tabla 11: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en aves silvestres según la alimentación a nivel del suelo en los establecimientos pecuarios. Las variables estadísticamente significativas están en negrita.

Modelo: presencia/ausencia de CT ~ Año + Alimentación a nivel del suelo + Estación +

Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Alimentación a nivel del suelo: Mucho/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-3,102</b>	<b>0,407</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2° Año</b>	<b>0,892</b>	<b>0,208</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Alimentación a nivel del suelo: poco+nada	-0,583	0,328	0,075
<b>Estación: otoño</b>	<b>0,598</b>	<b>0,291</b>	<b>0,040</b>
Estación: primavera	0,509	0,296	0,089
Estación: verano	0,324	0,299	0,280
Establecimiento: tambo	-0,329	0,205	0,107

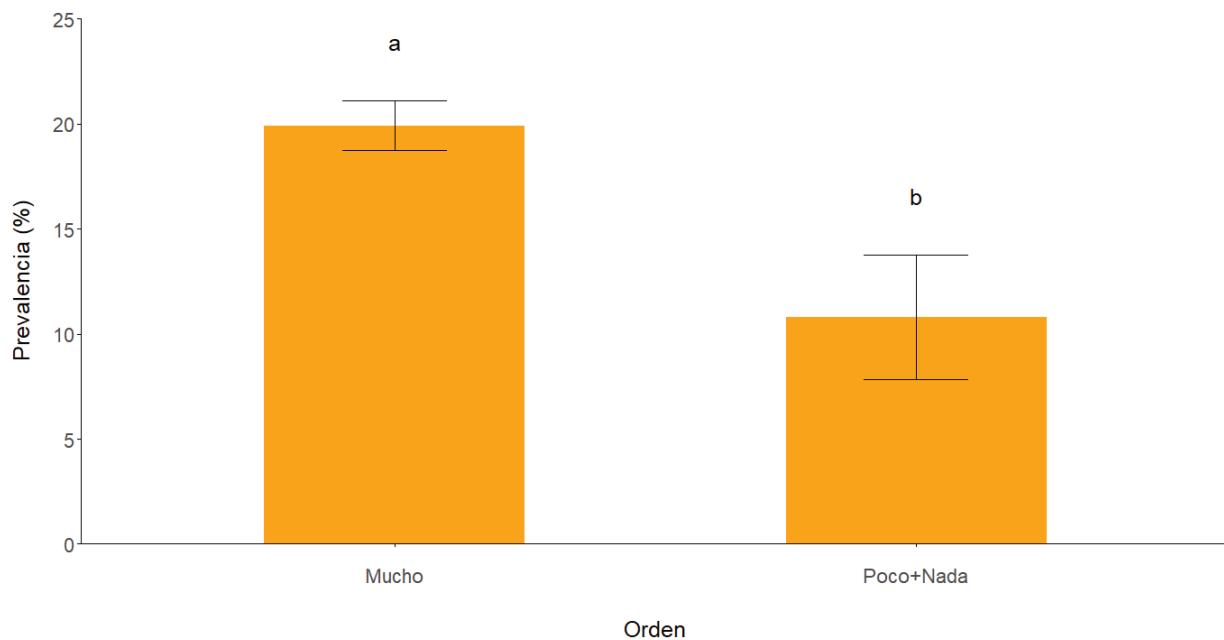


Figura 14: Prevalencia de *Campylobacter* termotolerante de las aves silvestres que se alimentan a nivel del suelo. La frecuencia de alimentación en relación al nivel del suelo están presentados con una diferencia significativa, indicadas por las diferentes letras ( $\text{Chi}^2 p = 0,019$ ).

#### 4. 2. 4. Comparación de prevalencia general y especies de *Campylobacter* termotolerantes de aves silvestres entre tipos de establecimientos pecuarios

Para analizar estadísticamente las diferencias en las prevalencias de CT en las aves silvestres de ambos sistemas productivos se construyó un MLMG ajustando por año y por estación, considerando muestreo y departamento como factores aleatorios, y a tipo de establecimiento como variable independiente. Los resultados indicaron que las prevalencias de CT en las aves silvestres no fueron significativamente diferentes ( $p=0,079$ ) entre ambos tipos de establecimiento, aunque se pudo ver una tendencia ya que en los establecimientos de pollos de engorde la prevalencia en aves silvestres fue 35% mayor que en los establecimientos lecheros (Tabla 12).

Tabla 12: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia de CT en aves silvestres de los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.

---

<u>Modelo:</u> presencia de CT ~ Año + Estación + Establecimiento			
<u>Efectos aleatorios:</u> Muestreo + Departamento			
<u>Variable de referencia:</u> Establecimientos de pollos de engorde			
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-3,129</b>	<b>0,412</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Estación: otoño	0,608	0,296	0,039
Estación: primavera	0,487	0,299	0,104
Estación: verano	0,306	0,302	0,313
Establecimiento: tambo	-0,364	0,208	0,079
<b>2º Año</b>	<b>0,895</b>	<b>0,210</b>	<b>&lt; 0,001</b>

---

*Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp. fueron incluidos por separado en MLMG como variables respuesta ajustando por año, estación y como variable independiente el tipo de establecimiento, considerando muestreo y departamento factores aleatorios (Tabla 13).

Tabla 13: Modelo lineal mixto con respuesta binomial asociados a la presencia de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp en aves silvestres de los establecimientos pecuarios. Las variables estadísticamente significativas están en negrita. Modelo A: *C. jejuni*; Modelo B: *C. coli*; Modelo C: *Campylobacter* spp.

Modelo A: presencia de *C. jejuni* ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento: pollos de engorde/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-3,171</b>	<b>0,443</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>0,567</b>	<b>0,230</b>	<b>0,014</b>
Estación: otoño	-0,390	0,354	0,271
Estación: primavera	0,546	0,300	0,069
Estación: verano	0,056	0,329	0,864
<b>Establecimiento: tambo</b>	<b>-0,917</b>	<b>0,246</b>	<b>&lt; 0,001</b>

Modelo B: presencia de *C. coli* ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento: pollos de engorde/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
(Intercepto)	-27,618	56,131	0,623
2º Año	2,488	1,341	0,063
Estación: otoño	19,365	56,102	0,730
Estación: primavera	18,361	56,104	0,743
Estación: verano	18,595	56,106	0,740
Establecimiento: tambo	-2,536	1,333	0,057

Modelo C: presencia de *Campylobacter* spp. ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento: pollos de engorde/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-4,292</b>	<b>0,558</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>0,910</b>	<b>0,268</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Estación: otoño</b>	<b>0,971</b>	<b>0,371</b>	<b>0,009</b>
Estación: primavera	0,362	0,394	0,357
Estación: verano	0,445	0,391	0,255
Establecimiento: tambo	0,244	0,258	0,346

Los resultados indicaron que la prevalencia de *C. jejuni* fue significativamente diferente entre ambos tipos de establecimiento. La prevalencia de *C. jejuni* en aves silvestres de

los tambos fue un 40% menor en comparación con las aves silvestres de los establecimientos de pollos de engorde (Tabla 13. Modelo A). *Campylobacter coli* y *Campylobacter* spp. no mostraron diferencias significativas entre los dos tipos de establecimientos (Tabla 13. Modelos B y C). Sin embargo, a pesar de no haber significancia estadística ( $p= 0,057$ ), la magnitud de la diferencia observada para *C. coli* fue mayor que para *C. jejuni*, ya que la prevalencia de *C. coli* en los tambos fue un 70% menor que en los establecimientos de pollos de engorde.

Para descartar que la asociación entre tipo de establecimiento y CT esté distorsionada por las diferencias en la composición de las comunidades de aves de establecimientos lecheros y pollos de engorde, se realizó la comparación utilizando solo a los gorriones domésticos, que fue la especie dominante en ambos tipos de establecimiento. En este análisis, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,155$ ) en la prevalencia de gorriones que habitan en los distintos tipos de establecimientos pecuarios (Tabla 14).

Tabla 14: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial asociados a la presencia de CT en gorriones domésticos (*Passer domesticus*) en los establecimientos pecuarios. Aquellas variables independientes estadísticamente significativas están en negrita.

---

Modelo: presencia de CT ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento de pollo de engorde/Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-2,998</b>	<b>0,427</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Estación: otoño	0,299	0,302	0,322
Estación: primavera	0,318	0,312	0,308
Estación: verano	0,219	0,314	0,485
Establecimiento: tambo	-0,311	0,219	0,155
<b>2º Año</b>	<b>0,966</b>	<b>0,218</b>	<b>&lt; 0,001</b>

La prevalencia de *C. jejuni* de los gorriones domésticos fue significativamente diferente entre ambos tipos de establecimientos pecuarios. La prevalencia de *C. jejuni* de los gorriones domésticos que habitaban en los tambos fue un 64% menor en comparación

con los gorriones domésticos de los establecimientos de pollos de engorde (Tabla 15. Modelo A). *Campylobacter* spp. no mostró diferencias significativas entre los dos tipos de establecimientos (Tabla 15. Modelo B). Un total de 9 aislamientos de *C. coli* que pertenecieron a los gorriones domésticos no fueron incluidos en los modelos, ya que representaron el 4,7% (9/192) del total de los aislamientos de los gorriones domésticos.

Tabla 15: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial asociados a la presencia de *C. jejuni* y *Campylobacter* spp. en gorriones domésticos (*Passer domesticus*) de los establecimientos pecuarios. Las variables estadísticamente significativas están en negrita. Modelo A: *C. jejuni*; Modelo B: *Campylobacter* spp.

Modelo A: presencia de *C. jejuni* ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento de pollo de engorde/Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-2,942</b>	<b>0,516</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Estación: otoño	-0,604	0,408	0,139
Estación: primavera	0,298	0,360	0,406
Estación: verano	-0,040	0,394	0,917
<b>Establecimiento: tambo</b>	<b>-1,088</b>	<b>0,319</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>0,556</b>	<b>0,273</b>	<b>0,043</b>

Modelo B: presencia de *Campylobacter* spp. ~ Año + Estación + Establecimiento

Efectos aleatorios: Muestreo + Establecimiento

Variable de referencia: Establecimiento de pollos de engorde/ Estación: Invierno

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>(Intercepto)</b>	<b>-4,352</b>	<b>0,596</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>2º Año</b>	<b>1,078</b>	<b>0,283</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Estación: otoño	0,756	0,383	0,048
Estación: primavera	0,294	0,416	0,481
Estación: verano	0,390	0,409	0,340
Establecimiento: tambo	0,351	0,271	0,196

#### 4. 3. Patrón temporal de *Campylobacter* termotolerantes

##### 4. 3. 1. Descripción de las variables climáticas en los dos años de estudio

Las variables climáticas mostraron variabilidad a lo largo de los dos años de estudio. La temperatura promedio más baja y más alta fue mayor durante el segundo año en comparación con el primer año (Invierno Año 1: 13,9°C; Año 2: 14,8°C; Verano Año 1: 23,7°C; Año 2: 24,4°C). En cuanto a la humedad relativa ambiente, en el primer año, el promedio más alto fue observado en el otoño (87,1%) y el más bajo fue en el verano (72,9%). En el segundo año, el otoño (82,5%) también presentó el promedio más alto. Sin embargo, la primavera (60,9%) obtuvo el promedio más bajo. La suma de las precipitaciones promedio estacionales mostró una marcada diferencia entre los dos años, en el primero fue más lluvioso con 516 mm comparados con los 108 mm del segundo año. En promedio, las precipitaciones más abundantes fueron registradas en primavera (250,4 mm) del primer año; mientras que el verano tuvo el promedio más bajo (51,5 mm). Por el contrario, en el segundo año el verano tuvo el promedio de precipitaciones más alta (46,0 mm) y la menor fue en el invierno (5,1 mm) (Tabla 16).

Tabla 16: Descripción de las variables climáticas por año y estación.

Año	Estación	Variables climáticas (promedio de cada estación)		
		Temperatura (°C)	Precipitaciones (mm)	Humedad relativa ambiente (HRA)
1	Otoño	16,9	108,7	87,1
	Invierno	13,9	105,7	77,4
	Primavera	17,6	250,4	76,5
	Verano	23,7	51,5	72,9
2	Otoño	15,3	21,6	82,5
	Invierno	14,8	5,1	73,9
	Primavera	23,6	35,1	60,9
	Verano	24,4	46,0	70,9

#### **4. 3. 2. Patrón temporal de *Campylobacter* termotolerantes en ambos tipos de establecimientos pecuarios**

Al comparar las prevalencias generales anuales de la totalidad de los compartimentos, se observó que fue mayor en el segundo año que en el primero ( $X^2= 9,21; p= 0,002$ ). La prevalencia anual del segundo año representó un aumento del 26,1% en relación al primero (prevalencia del año 1: 11,5%; año 2: 14,5%), al tener en cuenta los resultados de la Tabla 7. Con respecto a la comparación de CT en diferentes estaciones, no se observó un patrón estacional consistente en ambos años. En el primer año, se observó que la prevalencia general del otoño fue mayor que la del invierno ( $X^2= 6,17; p= 0,013$ ), primavera ( $X^2= 19,30; p< 0,001$ ) y verano ( $X^2= 6,31; p= 0,012$ ). Además, el invierno ( $X^2= 4,59; p= 0,032$ ) y el verano ( $X^2= 4,76; p= 0,029$ ) presentaron mayores prevalencias que la primavera. En cambio, durante el segundo año, las prevalencias de otoño ( $X^2= 56,42; p< 0,001$ ), primavera ( $X^2= 40,81; p< 0,001$ ) y verano ( $X^2= 27,34; p< 0,001$ ) fueron superiores a las de invierno. No obstante, el otoño presentó mayor prevalencia en relación al invierno ( $X^2= 1,99; p= 0,004$ ), mientras que entre el otoño y la primavera, las prevalencias no fueron diferentes ( $X^2= 8,05; p= 0,158$ ).

*Campylobacter jejuni* fue hallado consistentemente en los dos años, al igual que *C. coli* siendo la excepción en primavera del primer año. Durante el primer año las prevalencias estacionales de *C. jejuni* no mostraron variación intra-anual ( $X^2= 2,74; p= 0,433$ ). Sin embargo, en el segundo año, la prevalencia de la primavera diferente al resto de las estaciones ( $p= 0,007$  y menores), mientras que entre ellas no fueron diferentes entre sí.

Para *C. coli* se detectaron variaciones intra-anuales, aunque sin un patrón estacional consistente. En el primer año, la prevalencia de otoño fue mayor que en la primavera ( $X^2= 10,94; p< 0,001$ ) y el verano ( $X^2= 5,98; p= 0,014$ ). En cambio, para el segundo año la prevalencia del verano fue mayor a la del invierno ( $X^2= 6,88; p= 0,009$ ) y primavera ( $X^2= 18,16; p< 0,001$ ); y esta última, menor a la del otoño ( $X^2= 10,06; p= 0,001$ ).

Por último, *Campylobacter* spp., al igual que *C. coli*, en ambos años se encontraron variaciones intra-anuales, sin patrón estacional consistente. Tanto para el primero como en el segundo año, la prevalencia del otoño fue mayor que la primavera (Año 1:  $X^2= 30,78; p< 0,001$ ; Año 2:  $X^2= 11,83; p< 0,001$ ) y el verano (Año 1:  $X^2= 8,18; p= 0,004$ ; Año 2:  $X^2= 15,17; p< 0,001$ ). Sin embargo, en el primer año la prevalencia del otoño fue mayor al invierno ( $X^2= 21,31; p< 0,001$ ) y en el segundo año el verano fue mayor al invierno ( $X^2= 4,58; p= 0,032$ ).

En síntesis, tanto las prevalencias generales como de las especies de CT en particular mostraron variaciones inter e intra-anuales, pero sin patrón estacional consistente para los dos años de estudio (Figura 15).

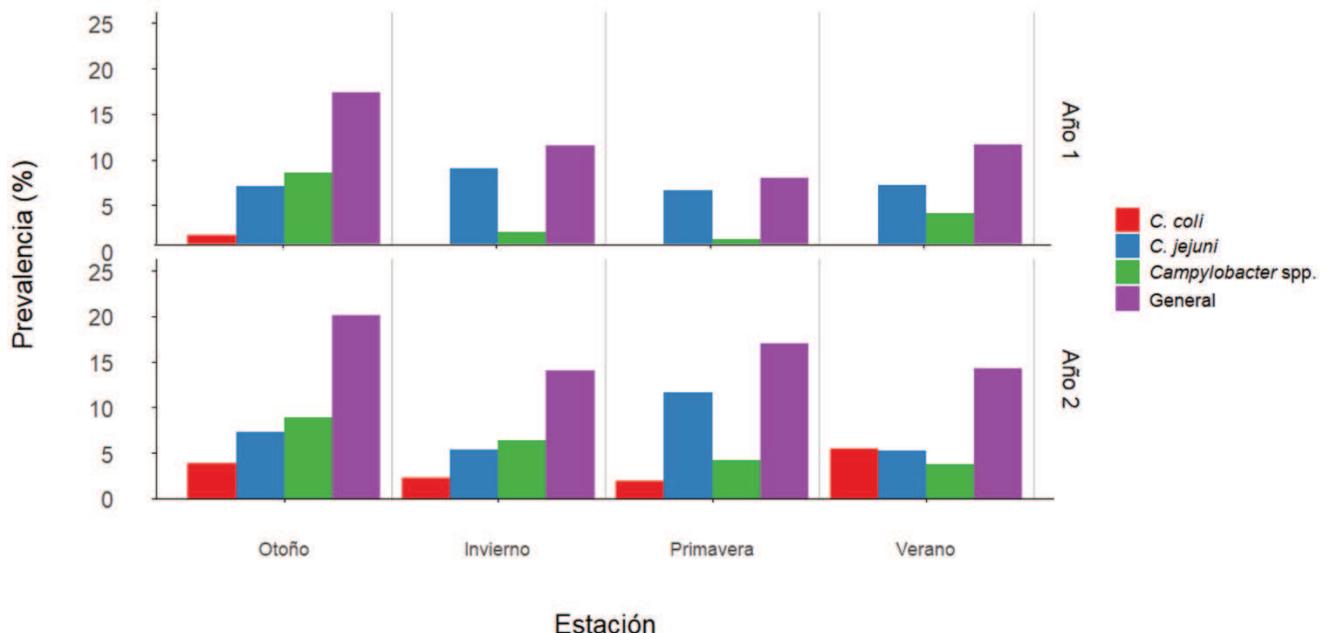


Figura 15: Prevalencia general y distribución de las especies de CT por estación y año de la totalidad de compartimentos que pertenecieron a los establecimientos pecuarios.

Con respecto a los establecimientos lecheros, en el primer año se observaron diferencias en las prevalencias estacionales. La prevalencia del otoño fue mayor que al resto de las estaciones ( $p \leq 0,008$ ), mientras que entre las restantes no fueron diferentes entre sí. Esta diferencia entre estaciones fue reportada en los establecimientos de pollos de engorde, observándose también que el invierno y el verano tuvieron mayor prevalencia que la primavera. En el segundo año, para los establecimientos lecheros, la prevalencia general del otoño fue mayor que en invierno ( $\chi^2 = 5,67$ ;  $p = 0,017$ ) y el verano ( $\chi^2 = 8,40$ ;  $p = 0,004$ ). Sin embargo, en el segundo año de los establecimientos de pollos de engorde las prevalencias estacionales no difirieron entre sí ( $\chi^2 = 3,02$ ;  $p = 0,388$ ).

En los establecimientos lecheros, en el segundo año, se encontraron diferencias en la prevalencia para *C. jejuni*. La prevalencia de la primavera fue mayor que la del verano ( $\chi^2 = 6,77$ ;  $p = 0,009$ ). En los establecimientos de pollos de engorde, además de esta diferencia, se observó que la prevalencia de la primavera fue mayor a la del otoño ( $\chi^2 =$

6,72;  $p= 0,009$ ) y en invierno ( $X^2= 8,96$ ;  $p= 0,003$ ), mientras que entre ellos no fueron diferentes entre sí.

En los establecimientos lecheros, *C. coli* en ambos años, no mostró diferencias intra-anuales (Año 1:  $X^2= 4,96$ ;  $p= 0,175$ ; Año 2:  $X^2= 5,86$ ;  $p= 0,119$ ). Sin embargo, para los establecimientos de pollos de engorde, se observaron diferencias en ambos años. En el primer año, la prevalencia del otoño fue mayor que la del invierno ( $X^2= 8,46$ ;  $p= 0,004$ ). En cambio para el segundo año, la prevalencia de la primavera fue mayor a la del otoño ( $X^2= 6,72$ ;  $p= 0,009$ ) y verano ( $X^2= 11,34$ ;  $p< 0,001$ ) (Figura 17). Por último, en los establecimientos lecheros, *Campylobacter* spp. en el primer año, solo la prevalencia del otoño fue mayor al resto de las estaciones ( $p \leq 0,008$ ), ya que entre ellas no hubo diferencias (Figura 17). Además, de estas diferencias, en establecimientos de pollos de engorde se observó que la prevalencia del verano fue mayor que la del invierno ( $X^2= 6,66$ ;  $p= 0,009$ ) y primavera ( $X^2= 19,19$ ;  $p< 0,001$ ). El segundo año, en los establecimientos lecheros la prevalencia del otoño fue mayor que la de la primavera ( $X^2= 6,89$ ;  $p= 0,009$ ) y verano ( $X^2= 6,21$ ;  $p= 0,013$ ). En los establecimientos de pollos de engorde, el invierno tuvo mayor prevalencia que la primavera ( $X^2= 5,43$ ;  $p= 0,019$ ) (Figura 16).

En resumen, si bien entre ambos establecimientos pecuarios se encontraron diferencias intra-anuales, se observó una falta de patrón temporal consistente y coincidió en que el segundo año tuvo la mayor prevalencia general para ambos sistemas.

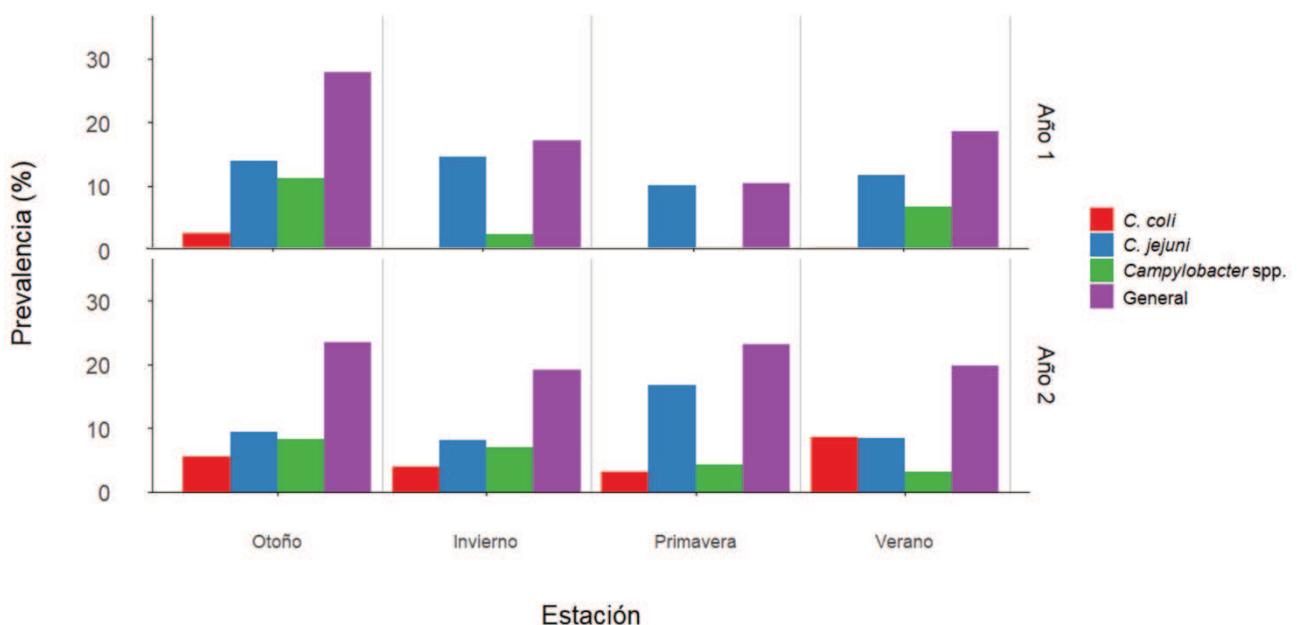


Figura 16: Prevalencia general y distribución de las especies de CT por estación y año en establecimientos de pollos de engorde.

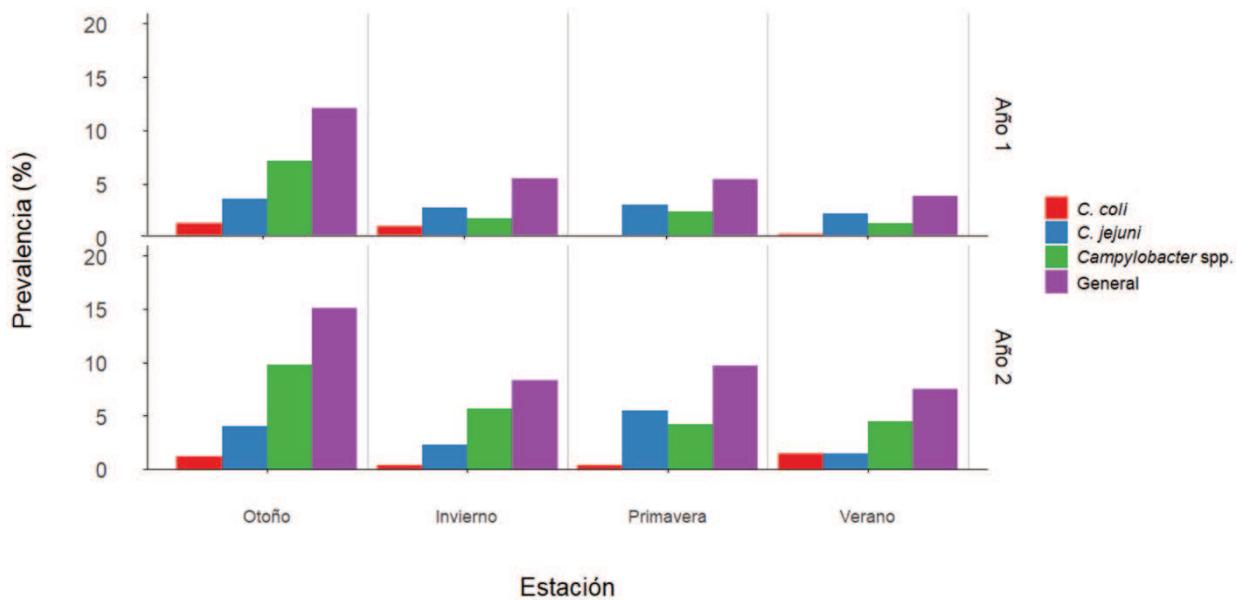


Figura 17: Prevalencia y distribución de las especies de CT por estación y año en establecimientos lecheros.

#### 4. 3. 3. Patrón temporal de *Campylobacter* termotolerantes en aves silvestres que habitan establecimientos pecuarios

Las prevalencias generales anuales, estacionales y de las especies de CT fueron comparadas en las aves silvestres que habitan en los establecimientos pecuarios. Al igual que la sección 4. 3. 2 se encontró una variación inter-anual donde la prevalencia del segundo año fue mayor que en el primero. En relación a la comparación de CT y prevalencias generales de las diferentes estaciones, no se observó un patrón estacional consistente en ambos años, pero sí una variación intra-anual (Figura 18). Los MLMG correspondientes (tablas 7 y 8), no se encontraron diferencias significativas entre estaciones.

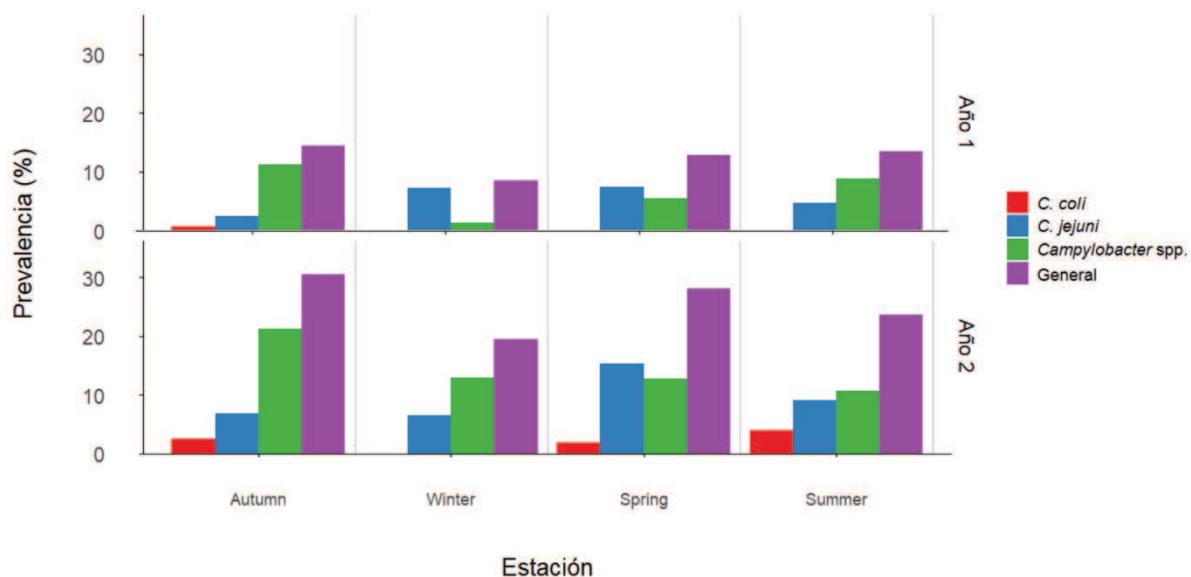


Figura 18: Prevalencia general y especies de CT en las aves silvestres en establecimientos pecuarios.

#### 4.3.4. Comparación del patrón temporal de *Campylobacter* termotolerantes de las aves silvestres con los pollos de engorde y con los bovinos

A través de una exploración gráfica, se observó una ausencia en la coincidencia de los patrones temporales entre las aves silvestres con los animales de producción (Figura 19 y 20).

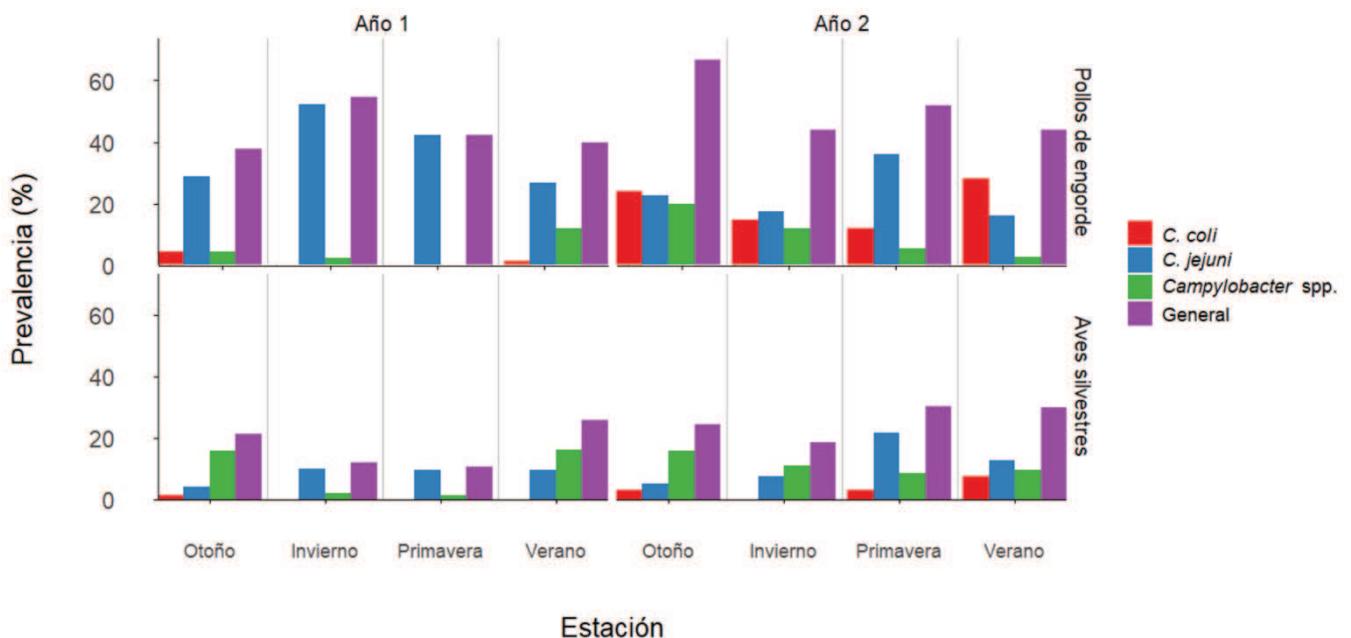


Figura 19: Prevalencia general y distribución de las especies de CT de los pollos de engorde y las aves silvestres en establecimientos de pollos de engorde.

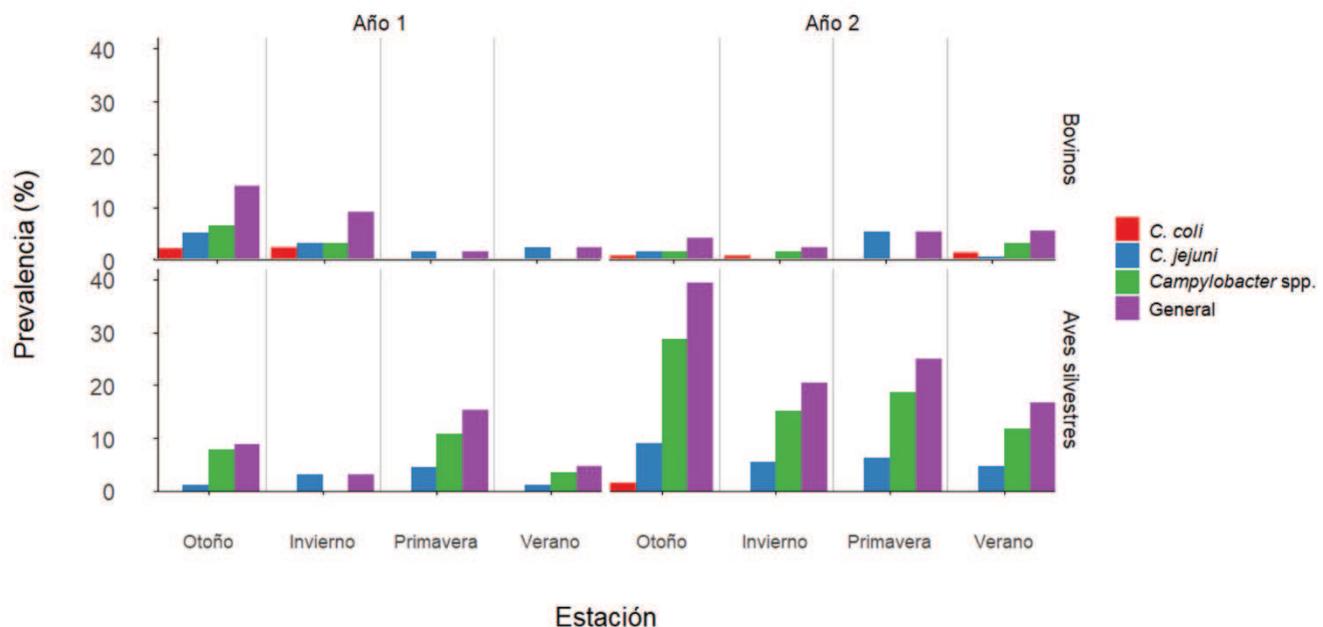


Figura 20: Prevalencia general y distribución de las especies de CT en los bovinos y las aves silvestres en establecimientos lecheros.

La prevalencia estacional general como las especies de CT no se observaron correlaciones significativas entre las dinámicas temporales de los pollos de engorde y las aves silvestres (Tabla 18), así como entre bovinos y aves silvestres (Tabla 19), y entre aves silvestres que habitan en establecimientos de pollos de engorde y las aves de los establecimientos lecheros (Tabla 20). De igual manera, los gráficos mostraron una ausencia de correlación entre las variables de cada modelo (Figura 21, 22 y 23). En síntesis, las dinámicas de CT indicaron una independencia de patrones temporales tanto entre las aves silvestres y los animales de producción como entre las poblaciones de aves silvestres de ambos sistemas pecuarios.

Tabla 17: Distribución de las prevalencias por especie de *Campylobacter* termotolerantes según año, comportamiento y estación.

Año	Comportamiento (tipo de establecimiento)	Estaciones											
		Otoño			Invierno			Primavera			Verano		
		<i>C. jejuni</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. coli</i> N positivos /N Total (%)	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. jejuni</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. coli</i> N positivos /N Total (%)	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. jejuni</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. coli</i> N positivos /N Total (%)	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. jejuni</i> N positivos /N Total (%)	<i>C. coli</i> N positivos /N Total (%)	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i> N positivos /N Total (%)
1	Bovinos	7/134 (2,2-9,7)	3/134 (0,0-6,8)	9/134 (2,4-9,1)	4/119 (2,3-4,9)	3/119 (0,0-7,3)	4/119 (2,4-4,6)	2/116 (0,0-4,4)	0/116 (0,0-0,0)	0/116 (0,0-0,0)	3/118 (0,0-4,5)	0/118 (0,0-0,0)	0/118 (0,0-0,0)
	Aves silvestres (tambo)	1/90 (0,0-3,7)	0/90 (0,0-0,0)	7/90 (0,0-16,7)	2/63 (0,0-9,1)	0/63 (0,0-0,0)	0/63 (0,0-0,0)	3/65 (0,0-7,4)	0/65 (0,0-0,0)	7/65 (7,4-23,1)	1/86 (0,0-5,6)	0/86 (0,0-0,0)	3/86 (0,0-6,4)
2	Bovinos	2/117 (0,0-6,1)	1/117 (0,0-2,5)	2/117 (0,0-2,5)	0/119 (0,0-0,0)	1/119 (0,0-2,7)	2/119 (0,0-5,4)	6/111 (0,0-13,1)	0/111 (0,0-0,0)	0/111 (0,0-0,0)	1/125 (0,0-2,2)	2/125 (0,0-2,2)	4/125 (0,0-6,7)
	Aves silvestres (tambo)	6/66 (0,0-13,6)	1/66 (0,0-4,5)	19/66 (18,5-45,5)	4/73 (0,0-7,4)	0/73 (0,0-0,0)	11/73 (22,2-7,4)	4/64 (0,0-11,1)	0/64 (0,0-0,0)	12/64 (16,6-20,0)	4/84 (3,7-6,7)	0/84 (0,0-0,0)	10/84 (11,0-13,0)
1	Pollos de engorde	13/45 (21,4 - 86,7)	2/45 (0,0 – 13,0)	2/45 (0,0-6,7)	23/44 (0,0 - 28,0)	13/44 (0,0 – 32,0)	1/44 (4,0-28,0)	19/45 (0,0 - 46,7)	0/45 (0,0 – 0,0)	0/45 (0,0-0,0)	20/75 (4,0 – 32,0)	1/75 (0,0-12,0)	9/75 (4,0-16,0)
	Aves silvestres (Pollos de engorde)	3/70 (0,0-6,7)	1/70 (0,0-5,2)	11/70 (0,0-23,3)	9/90 (6,5-11,8)	0/90 (0,0-0,0)	2/90 (0,0-3,8)	8/83 (0,0-11,5)	0/83 (0,0-0,0)	1/83 (0,0-3,1)	6/62 (0,0-11,4)	0/62 (0,0-0,0)	10/62 (8,6-21,7)
2	Pollos de engorde	17/75 (13,0 – 86,7)	0/75 (0,0-0,0)	15/75 (0,0-24,0)	13/75 (12,0 – 64,0)	11/75 (4,0-16,0)	9/75 (4,0-28,0)	27/75 (4,0 – 60,0)	9/75 (4,0-16,0)	4/75 (0,0-5,3)	12/75 (4,0 - 24,0)	21/75 (12,0-56,0)	2/75 (0,0-4,0)
	Aves silvestres (Pollos de engorde)	5/94 (2,8-7,4)	3/94 (0,0-11,1)	15/94 (0,0-36,0)	6/81 (0,0-19,0)	0/81 (0,0-0,0)	9/81 (9,3-12,9)	20/92 (19,4-25,0)	3/92 (0,0-5,6)	8/92 (6,2-12,5)	12/93 (2,9-22,7)	7/93 (0,0-15,9)	9/93 (0,0-13,6)

Tabla 18: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos de pollos de engorde.

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de CT de aves silvestres</b>			
Intercepto	-1,681	1,351	0,213
Prevalencia de pollos de engorde	0,578	2,133	0,786
Departamento:	-0,004	1,261	0,997
Castellanos			
Departamento: Las	0,299	1,212	0,805
Colonias			
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres</b>			
Intercepto	-2,616	1,632	0,109
C. jejuni de pollos de engorde	0,914	2,792	0,743
Departamento:	-0,098	1,782	0,956
Castellanos			
Departamento: Las	0,241	1,694	0,887
Colonias			
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>C. coli</i> de aves silvestres</b>			
Intercepto	-5,894	5,702	0,301
C. coli de pollos de engorde	6,212	7,944	0,434
Departamento:	0,044	7,183	0,995
Castellanos			
Departamento: Las	0,582	6,671	0,930
Colonias			
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres</b>			
Intercepto	-2,648	1,421	0,062
<i>Campylobacter</i> spp. de pollos de engorde	5,076	7,063	0,472
Departamento:	0,007	1,699	0,968
Castellanos			
Departamento: Las	0,228	1,602	0,887
Colonias			

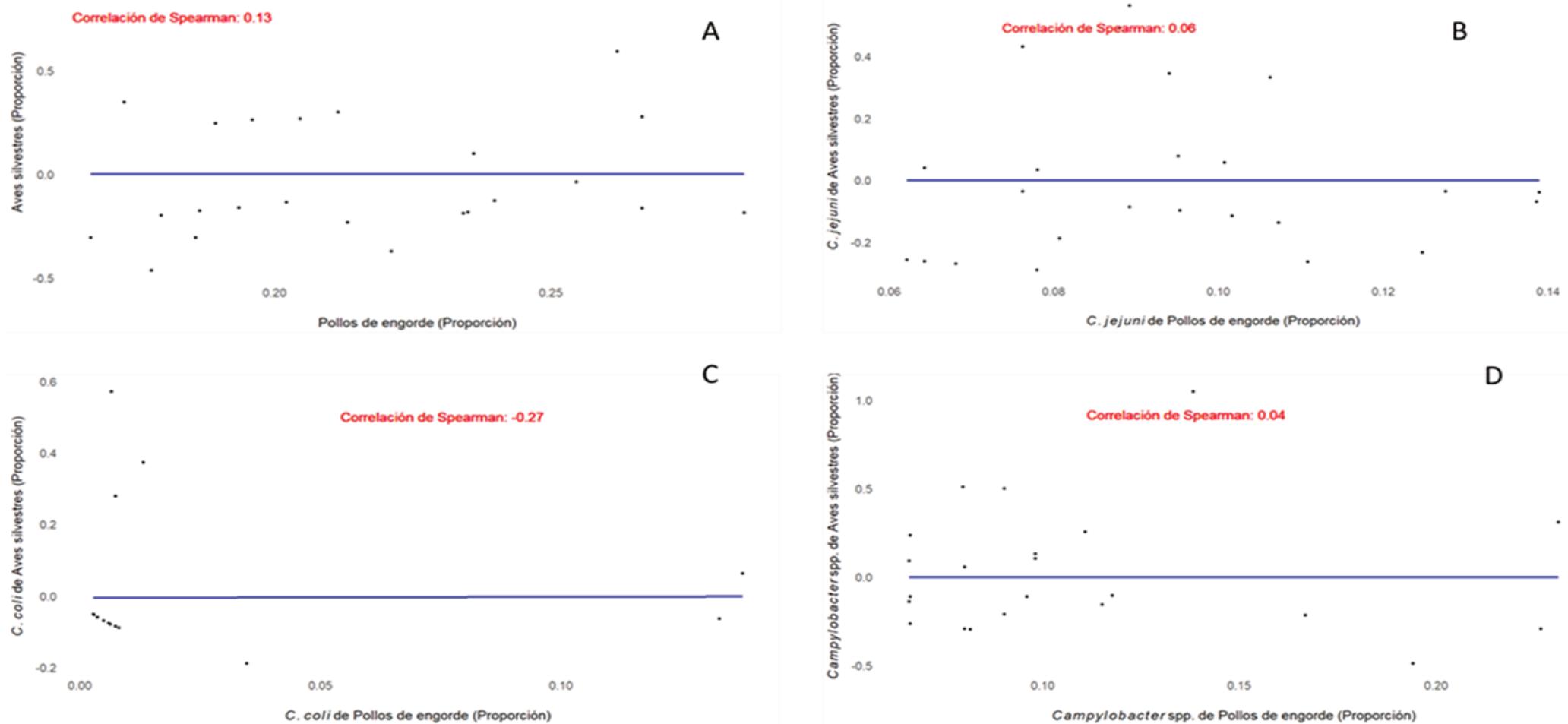


Figura 21: Relación de correlación entre: A: proporciones de pollos de engorde con proporciones de aves silvestres; B: proporciones de *C. jejuni* de pollos de engorde con proporciones de *C. jejuni* de aves silvestres; C: proporciones de *C. coli* de aves silvestres con proporciones de *C. coli* de pollos de engorde; D: proporciones de *Campylobacter* spp. de aves silvestres con proporciones de *Campylobacter* spp. pollos de engorde.

Tabla 19: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos lecheros.

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de aves silvestres</b>			
Intercepto	-1,376	1,106	0,213
Prevalencia de bovinos	-5,240	12,280	0,670
Departamento: Castellanos	-0,094	1,370	0,945
Departamento: Las Colonias	0,283	1,372	0,837
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres</b>			
Intercepto	-3,828	2,731	0,161
<i>C. jejuni</i> de bovinos	-5,810	32,266	0,857
Departamento: Castellanos	0,991	3,095	0,749
Departamento: Las Colonias	1,256	3,006	0,676
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres</b>			
Intercepto	-1,584	1,101	0,150
<i>Campylobacter</i> spp. de bovinos	-9,512	26,852	0,723
Departamento: Castellanos	-0,404	1,528	0,792
Departamento: Las Colonias	-0,194	1,522	0,898

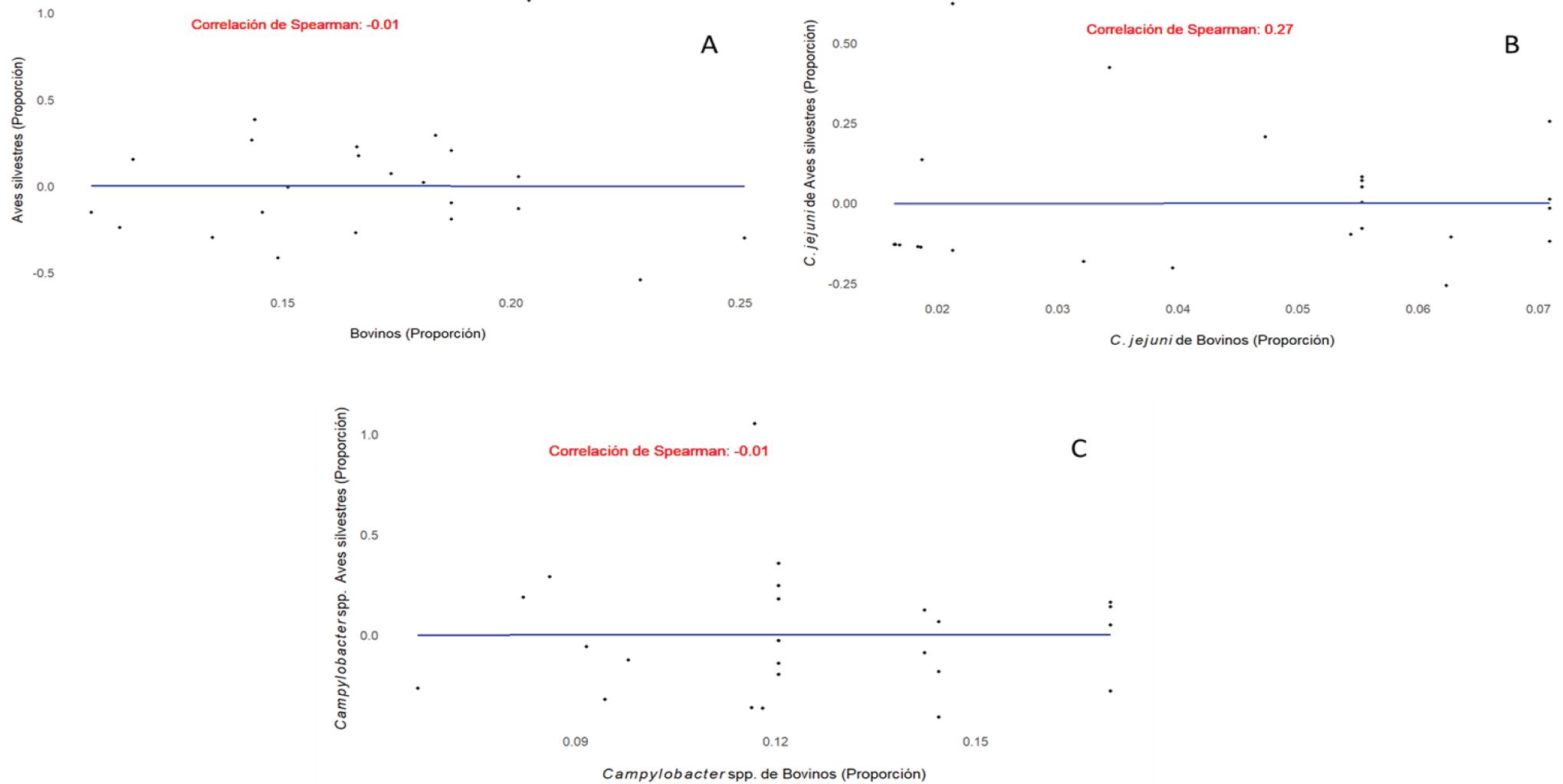


Figura 22: Relación de correlación entre: A: proporciones de bovinos con proporciones de aves silvestres; B: proporciones de *C. jejuni* de bovinos con proporciones de *C. jejuni* de aves silvestres; C: proporciones de *Campylobacter* spp. de bovinos con proporciones de *Campylobacter* spp. de aves silvestres.

Tabla 20: Modelo lineal mixto generalizado con respuesta binomial que describe las variables asociadas a la presencia y especies de CT en aves silvestres de los establecimientos lecheros.

Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de aves silvestres en establecimientos de lecheros</b>			
Intercepto	-2,033	1,325	0,125
Prevalencia de aves silvestres de establecimientos pollos de engorde	1,181	2,405	0,623
Departamento: Castellanos	0,159	1,413	0,911
Departamento: Colonias	0,222	1,359	0,870
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>C. jejuni</i> de aves silvestres en establecimientos lecheros</b>			
Intercepto	-4,026	2,936	0,170
<i>C. jejuni</i> de aves silvestres en establecimientos de pollos de engorde	0,590	13,817	0,966
Departamento: Castellanos	1,021	3,091	0,741
Departamento: Colonias	1,248	3,010	0,678
Variables	Estimador	Error estándar	p- valor (<0.05)
<b>Variable respuesta: Presencia de <i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres en establecimientos lecheros</b>			
Intercepto	-1,956	1,129	0,083
<i>Campylobacter</i> spp. de aves silvestres en establecimientos de pollos de engorde	1,769	4,685	0,706
Departamento: Castellanos	-0,291	1,505	0,846
Departamento: Colonias	-0,331	1,507	0,826

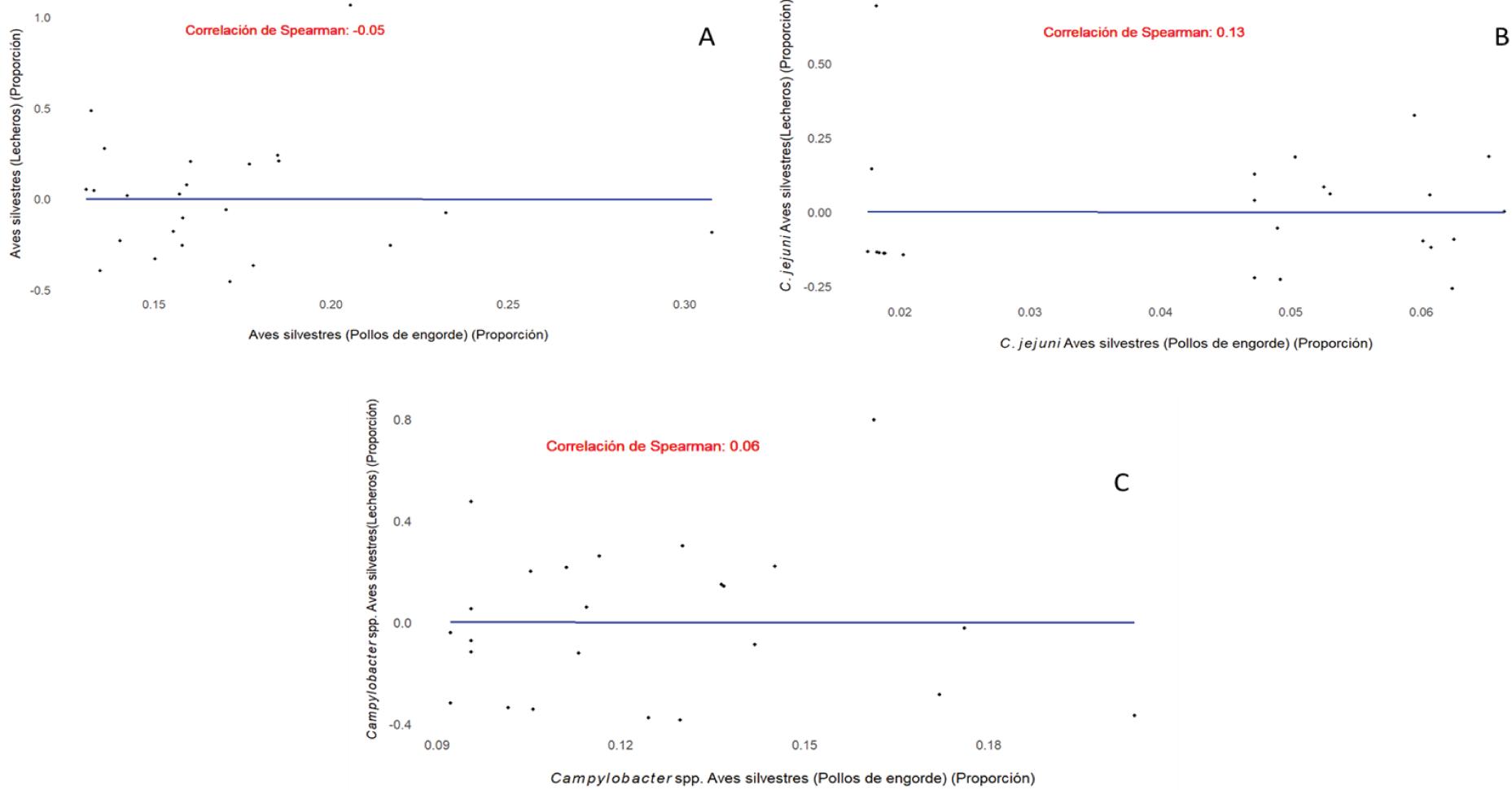


Figura 23: Relación de correlación entre: A: proporciones de aves silvestres que habitan establecimientos de pollos de engorde con proporciones de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros; B: proporciones de *C. jejuni* de aves silvestres que habitan establecimientos de pollos de engorde con proporciones de *C. jejuni* de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros; C: proporciones de *Campylobacter* spp. de aves silvestres habitán establecimientos de pollos de engorde con proporciones de *Campylobacter* spp. de aves silvestres que habitan establecimientos lecheros.

#### **4. 4. Diversidad genotípica de *Campylobacter* termotolerantes en establecimientos pecuarios.**

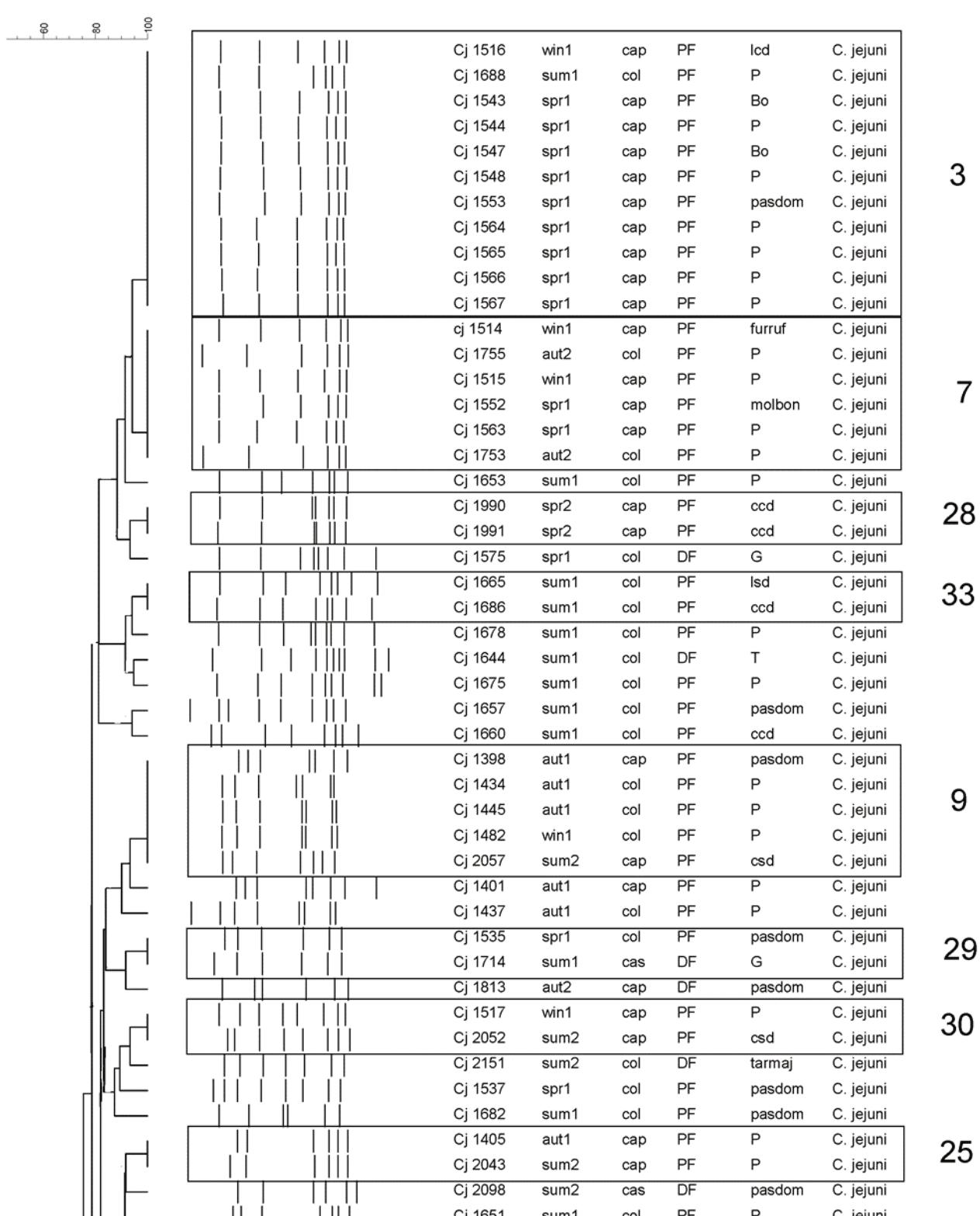
##### **4. 4. 1. Diversidad genotípica de *Campylobacter jejuni* en establecimientos lecheros y pollos de engorde**

De los 361 aislamientos de *C. jejuni*, 28 no lograron reactivarse desde su estado conservado a -80°C, 18 no alcanzaron el crecimiento apropiado requerido para la técnica de PFGE ( $DO610 = 0,680$ ) y 75 no mostraron patrones de restricción por PFGE luego de repetir 2 veces el ensayo. De los 240 aislamientos restantes, 165 fueron agrupados en 36 perfiles y 75 aislamientos presentaron patrones únicos de restricción. El perfil 1 fue el que presentó mayor número de aislamientos ( $n = 22$ ) mientras que del 2 al 5 presentaron un número menor (entre 9-11). Algunos perfiles estuvieron formados por aislamientos presentes en ambos tipos de establecimientos productivos (Figura 23. Perfiles 1, 4, 5, 13, 14, 17, 18, 19, 29). La mayoría de los otros perfiles presentaron pulsotipos correspondientes sólo a los establecimientos de pollos de engorde. Algunos, corresponden a un departamento (Figura 23. Perfiles 2, 8, 10, 11, 12, 15, 16, 20, 22, 25, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36) y otros comparten perfiles entre establecimientos aviares de los tres departamentos (Figura 24. Perfiles 1, 3, 4, 6, 7, 9, 23, 24). Por último, los restantes perfiles pertenecen a establecimientos lecheros; entre ellos, se destaca que la mayoría de los perfiles se encuentran dentro de cada establecimiento (Figura 24. perfiles 1, 4, 5, 13, 14, 19, 26, 27, 29) y un solo perfil fue encontrado en establecimientos lecheros de dos departamentos (Figura 24. Perfil 21).

Ambos sistemas productivos compartieron perfiles de aislamientos obtenidos en pollos de engorde, estadíos de larva y adulto de *A. diaperinus*, aves silvestres y de traspatio. Además, estos aislamientos fueron hallados en todas las estaciones climáticas y durante los dos años de muestreo (Figura 24. Perfiles 1, 4, 5). Otros perfiles fueron compartidos únicamente entre animales de producción de ambos sistemas pecuarios (Figura 24. Perfiles 13, 17), entre animales de producción con aves domésticas de traspatio (Figura 24. Perfil 14) y entre animales de producción con ave silvestre y ave doméstica de traspatio (Figura 24. Perfil 18). Por otro lado, dos perfiles fueron compartidos entre un ave silvestre de un establecimiento de pollos de engorde con un ave doméstica de traspatio procedente de un establecimiento lechero (Figura 24. Perfiles 19 y 29).

En los establecimientos de pollos de engorde, la relación clonal fue encontrada entre aislamientos obtenidos dentro de la misma granja tanto en un año (Figura 24. Perfiles 8, 10, 11, 12, 15, 16, 22, 28, 31, 32, 33, 35, 36) como en los dos años (Figura 24. Perfiles 2, 20, 25, 30, 34). Esta relación estuvo dada entre diversos compartimentos como pollos

de engorde, aves silvestres, vectores y fomites. En el mismo sentido, esta relación clonal estuvo dada también entre los tres departamentos durante los dos años de muestreo (Figura 24. Perfiles 4 y 7) como en dos de ellos (Figura 24. Perfiles 9, 23 y 24) entre pollos de engorde, pollos de engorde y aves silvestres, y entre pollos de engorde con aves silvestres y vectores. Perfiles similares fueron compartidos dentro de un mismo año (Figura 24. Perfiles 3 y 6) entre pollos de engorde, aves silvestres, vectores y fómites. Por otro lado, en los establecimientos lecheros, la relación clonal fue hallada en aislamientos obtenidos de cada departamento y durante un año de muestreo entre aves domésticas de traspatio y entre vacas en lactancia (Figura 24. Perfiles 26 y 27). En forma similar, también se observó una relación entre los aislamientos de varios departamentos durante los dos años de muestreo (Figura 24. Perfil 21) entre ave silvestre y terneros.

PFGE      *Campylobacter jejuni*

		Cj 2098	sum2	cas	DF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1651	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2140	sum2	col	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1658	sum1	col	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1661	sum1	col	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1664	sum1	col	PF	lsd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1683	sum1	col	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1716	sum1	cas	DF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2001	spr2	cap	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2055	sum2	cap	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2124	sum2	col	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1670	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1677	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1530	spr1	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1531	spr1	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1534	spr1	cas	PF	lcd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1540	spr1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1541	spr1	col	PF	lcd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1542	spr1	col	PF	lsd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1659	sum1	col	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1671	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1770	aut2	col	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1771	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1775	aut2	cap	PF	turama	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1803	aut2	col	DF	G	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1983	spr2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1985	spr2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1995	spr2	cap	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2021	spr2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2025	spr2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2027	spr2	cas	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2053	sum2	cap	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2054	sum2	cap	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2071	sum2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2077	sum2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1973	spr2	col	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1976	spr2	col	PF	furruf	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1977	spr2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1560	spr1	cap	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1998	spr2	cap	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2039	spr2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1462	win1	cas	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2045	sum2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2048	sum2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1980	spr2	col	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1685	sum1	col	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1730	aut2	col	PF	Bo	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1747	aut2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1654	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1751	aut2	col	PF	Ca	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1655	sum1	col	PF	troaed	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1669	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1732	aut2	col	PF	csd	<i>C. jejuni</i>

4

1

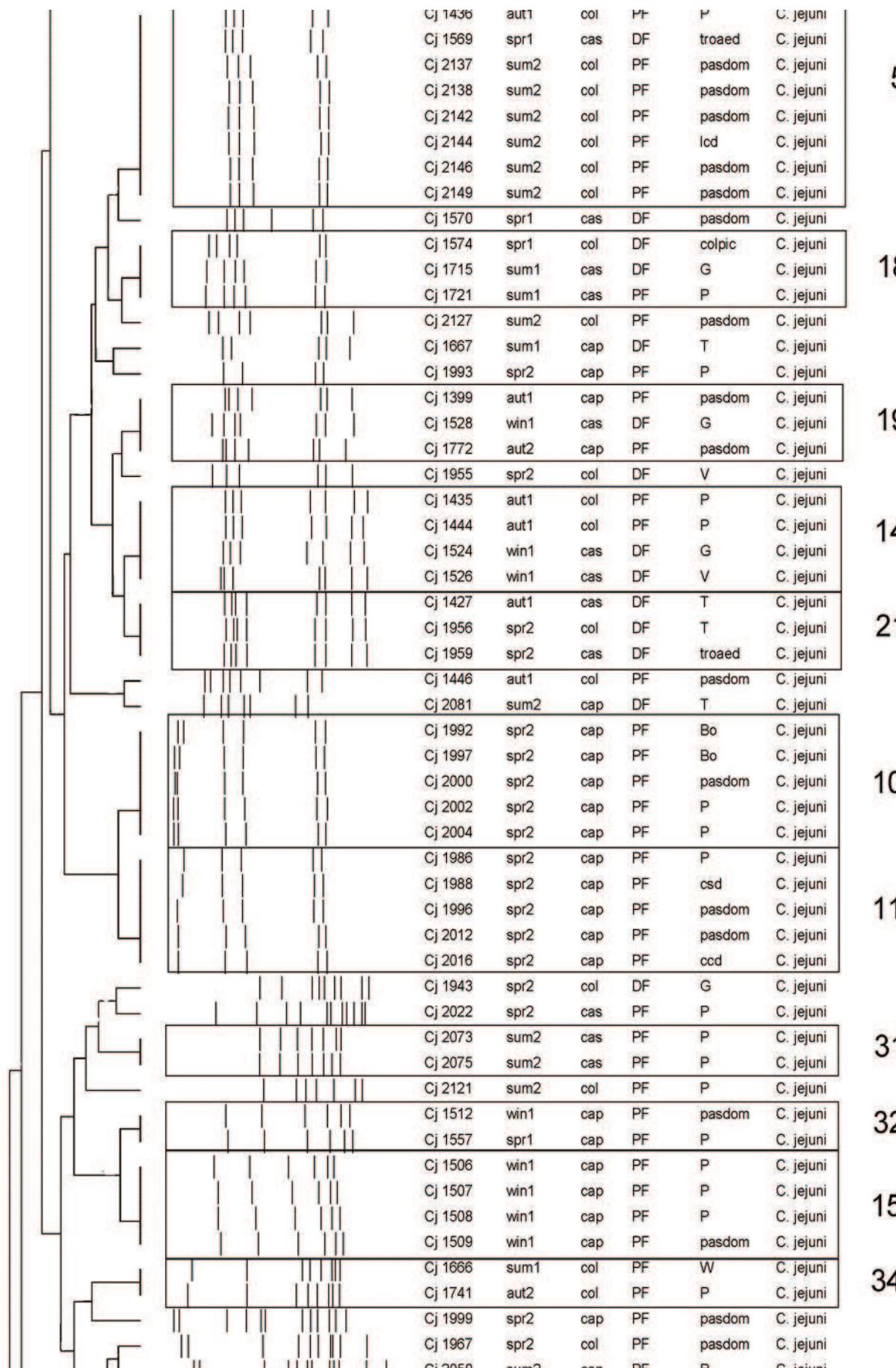
16

23

20

2

		Cj 1669	sum1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1732	aut2	col	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1733	aut2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1734	aut2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1735	aut2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1738	aut2	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1745	aut2	col	PF	lcd	<i>C. jejuni</i>
	17	Cj 1412	aut1	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1420	aut1	cap	DF	T	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1455	aut1	col	DF	T	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1456	aut1	col	DF	troaed	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1473	win1	cas	PF	W	<i>C. jejuni</i>
	13	Cj 1519	win1	cap	DF	T	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1693	sum1	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1694	sum1	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1695	sum1	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1767	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2086	sum2	cap	DF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
	35	Cj 2063	sum2	cas	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2064	sum2	cas	PF	lcd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2019	spr2	cas	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2032	spr2	cas	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2033	spr2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
	8	Cj 2041	spr2	cas	PF	lsd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2074	sum2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2018	spr2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
	26	Cj 1576	spr1	col	DF	G	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1577	spr1	col	DF	G	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1684	sum1	col	PF	Bo	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2065	sum2	cas	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1989	spr2	cap	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1429	aut1	cas	DF	V	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1422	aut1	cap	DF	T	<i>C. jejuni</i>
	6	Cj 1765	aut2	cap	PF	W	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1766	aut2	cap	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1769	aut2	cap	PF	lcd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1774	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1784	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1788	aut2	cap	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1791	aut2	cap	PF	ccd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2034	spr2	cas	PF	csd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2030	spr2	cas	PF	Bo	<i>C. jejuni</i>
	22	Cj 1779	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1780	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1783	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1731	aut2	col	PF	mcd	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1768	aut2	cap	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1947	spr2	col	DF	T	<i>C. jejuni</i>
		Cj 2079	sum2	cas	PF	pasdom	<i>C. jejuni</i>
	27	Cj 1578	spr1	cap	DF	V	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1581	spr1	cap	DF	V	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1436	aut1	col	PF	P	<i>C. jejuni</i>
		Cj 1569	spr1	cas	DF	troaed	<i>C. jejuni</i>



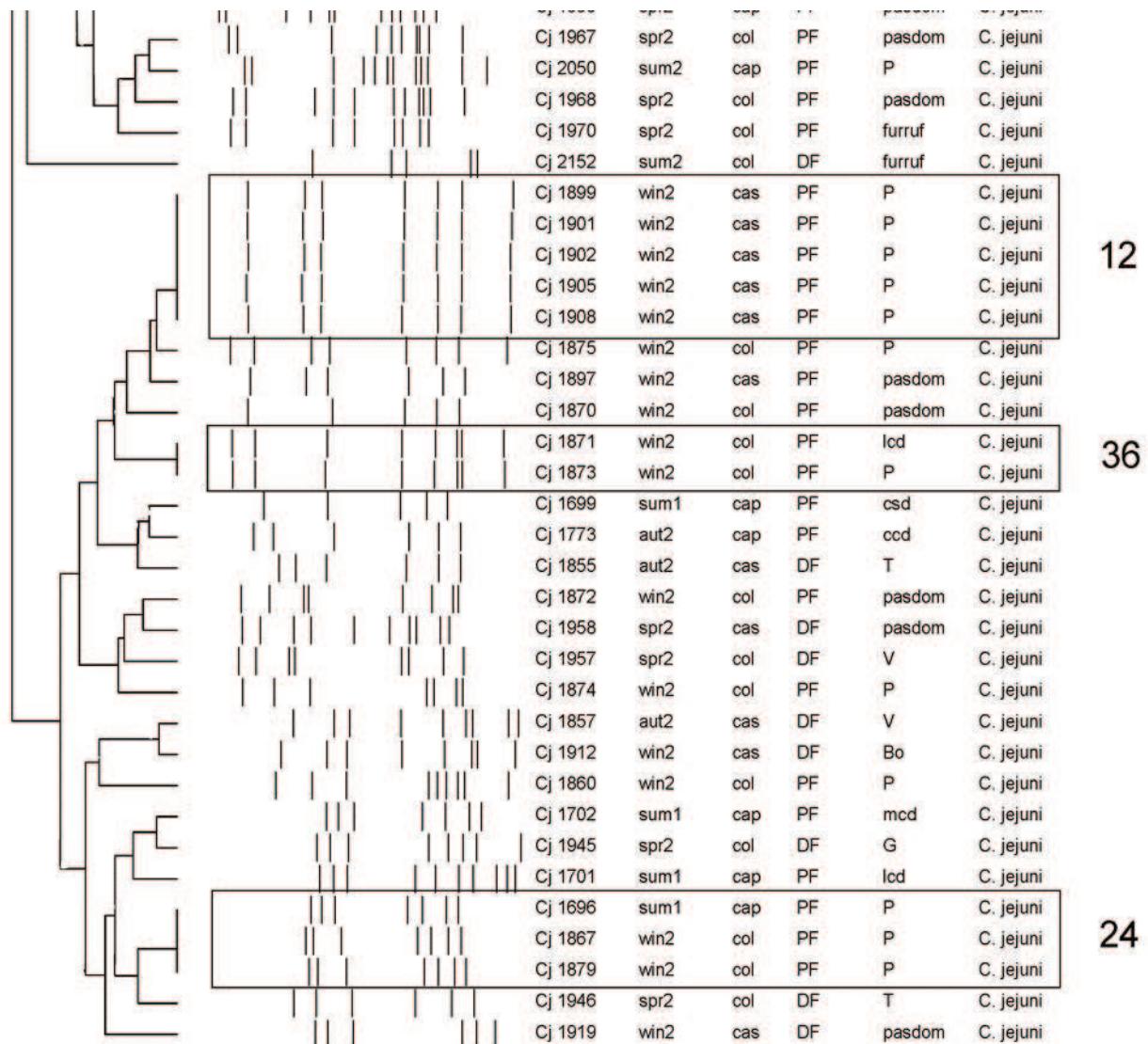
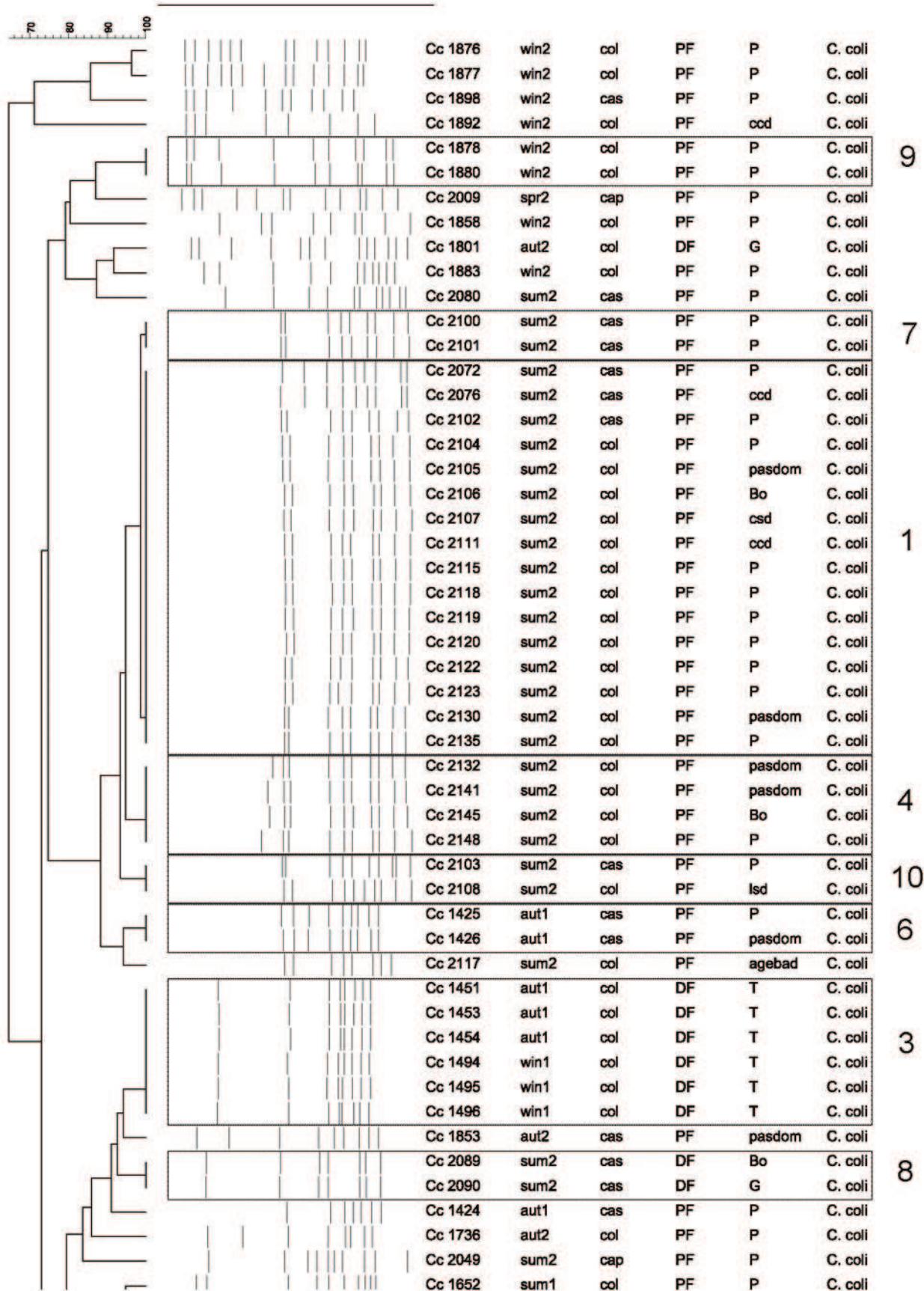


Figura 24: Dendrograma elaborado con perfiles de PFGE en aislamientos de *Campylobacter jejuni* de los establecimientos pecuarios. Abreviaturas: aut1: otoño del primer año de muestreo; aut2: otoño del segundo año de muestreo; win1: invierno del primer año de muestreo; win2: invierno del segundo año de muestreo; spr1: primavera del primer año de muestreo; spr2: primavera del segundo año de muestreo; sum1: verano del primer año de muestreo; sum2: verano del segundo año de muestreo; cap: departamento La Capital; col: departamento Las Colonias; cas: departamento Castellanos; PF: establecimiento pollo de engorde; DF: establecimiento lechero; pasdom: gorrión doméstico; furruf: hornero; troaed: tacuarita; colpic: torcacita; P: pollo de engorde; ccd: *A. diaperinus* adulto c/ desinfección; csd: *A. diaperinus* adulto s/ desinfección; lcd: *A. diaperinus* larva c/ desinfección; lsd: *A. diaperinus* larva s/ desinfección; msd: Mosca domestica s/ desinfección; mcd: Mosca domestica c/ desinfección; T: ternero; V: vaca en lactancia; Bo: botas de los empleados; G: gallina de traspatio; W: agua de bebida dentro del galpón.

#### **4. 4. 2. Diversidad genotípica de *Campylobacter coli* en establecimientos lecheros y pollos de engorde**

De los 101 aislamientos de *C. coli*, 8 no lograron reactivarse desde su estado conservado a -80°C, 1 no alcanzó el crecimiento apropiado requerido para la técnica de PFGE (DO610 = 0,680) y 18 aislamientos no mostraron patrones de restricción por PFGE luego de repetir 2 veces el ensayo. De los 74 aislamientos restantes, 47 fueron agrupados en 11 perfiles y 27 aislamientos presentaron patrones únicos. El perfil 1 fue el que presentó mayor número de aislamientos ( $n = 16$ ) mientras que del 2 al 11 presentaron un número menor (entre 6 y 2). Un perfil estuvo formado por aislamientos presentes en ambos tipos de establecimientos pecuarios (Figura 25. Perfil 5). Por otro lado, la mayoría de los perfiles presentaron pulsotipos correspondientes solo a los establecimientos de pollos de engorde. Algunos, correspondieron a un departamento (Figura 25. Perfiles 2, 4, 5, 6, 7, 9, 11) y otros, comparten perfiles entre establecimientos aviares de los tres departamentos (Figura 25. Perfiles 1, 10). Por último, los perfiles restantes pertenecieron a establecimientos lecheros encontrándose dentro de un establecimiento lechero (Figura 25. Perfiles 3 y 8).

Ambos sistemas productivos compartieron perfiles de aislamientos obtenidos de pollos de engorde y un ternero. Además, estos aislamientos fueron hallados en dos de las estaciones climáticas durante el segundo año de muestreo (Figura 25. Perfil 5). En los establecimientos de pollos de engorde, la relación clonal fue encontrada entre aislamientos obtenidos dentro de la misma granja (Figura 25. Perfiles 2, 4, 6, 7, 9 y 11) y entre dos departamentos, dentro de la misma estación y año de muestreo (Figura 25. Perfiles 1 y 10). Esta relación estuvo dada entre diversos compartimentos como pollos de engorde, aves silvestres, vectores y fomites. Por otro lado, en los establecimientos lecheros, la relación clonal fue hallada en aislamientos obtenidos de cada departamento y durante la misma estación climática de muestreo (Figura 25. Perfiles 3 y 8) entre terneros y entre ave doméstica de traspatio y botas de empleado.

PFGE *Campylobacter coli*

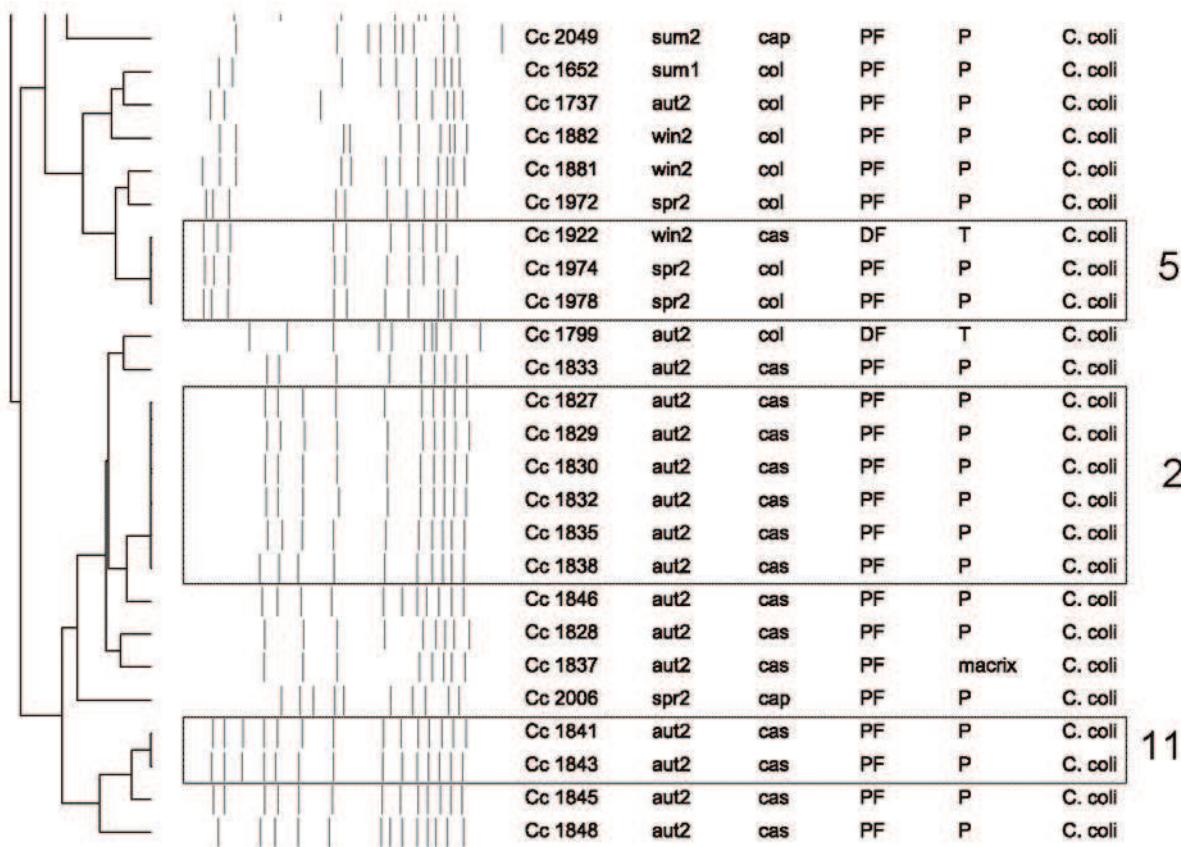


Figura 25: Dendrograma elaborado con perfiles de PFGE en aislamientos de *Campylobacter coli* de los establecimientos pecuarios. Abreviaturas: aut1: otoño del primer año de muestreo; aut2: otoño del segundo año de muestreo; win1: invierno del primer año de muestreo; win2: invierno del segundo año de muestreo; spr1: primavera del primer año de muestreo; spr2: primavera del segundo año de muestreo; sum1: verano del primer año de muestreo; sum2: verano del segundo año de muestreo; cap: departamento La Capital; col: departamento Las Colonias; cas: departamento Castellanos; PF: establecimiento pollo de engorde; DF: establecimiento lechero; pasdom: gorrión doméstico; agebad: tordo músico; macrix: picabuey; P: pollo de engorde; ccd: *A. diaperinus* adulto c/ desinfección; csd: *A. diaperinus* adulto s/ desinfección; T: ternero; Bo: botas de los empleados; G: gallina de traspasio; lsd: *A. diaperinus* larva s/ desinfección.

# **5. Discusión**

## 5. 1. Especies y prevalencia de CT en diferentes compartimentos de establecimientos pecuarios

En ambos establecimientos productivos fueron reportados tanto *C. jejuni* como *C. coli*, aunque con diferencias en cuanto a la prevalencia. En los establecimientos avícolas, la prevalencia de *C. jejuni* y de *C. coli* fue entre 4 y 5 veces superior a la hallada en los establecimientos lecheros. *Campylobacter jejuni* se encontró en prevalencias superiores a *C. coli* en ambos tipos de establecimiento. A diferencia de nuestro hallazgo, algunos trabajos realizados en establecimientos lecheros, *C. jejuni* fue la única especie detectada (Adhikari et al., 2002; Adhikari et al., 2004; Kazemeini et al., 2011; Rapp et al., 2013; Modi et al., 2015; Rapp et al., 2020; An et al., 2018). Entre otros trabajos realizados en establecimientos lecheros y pollos de engorde en los cuales se detectaron ambas especies, la prevalencia de *C. jejuni* fue mayor a *C. coli* (Klein et al., 2013; Ellis-Iversen et al., 2009; Hansson et al., 2019, Skov et al., 2004; Templeton et al., 2006; Zbrun et al., 2013; Rossler, 2022), lo cual, también es consistente con nuestro estudio. La presencia de otras especies de CT y la co-infección de *C. jejuni* y *C. coli* fueron reportados muy escasamente (Torralbo et al., 2014; Rossler, 2022).

En establecimientos de pollos de engorde, la mayor frecuencia de aislamientos de CT fue detectada en los pollos (48,1%). Los antecedentes a nivel mundial son variables, siendo superiores a lo reportado por (Argelia) Baali et al., (2020); (Italia) Iannetti et al., (2020), (EE.UU) Thakur et al., (2013) (entre 65% y 80%) e inferiores a los resultados de (Bélgica) Messens et al., (2009); (España) Torralbo et al., (2014) y (Egipto) Abushahba et al., (2018) (entre 20% y 35%) con respecto a lo detectado en el presente estudio. Trabajos similares en cuanto a la metodología y zona geográfica fueron realizados por Zbrun et al. (2013) y Rossler (2022) quienes reportaron prevalencias del 29% y 33% respectivamente. Ambos valores son similares e inferiores a lo registrado en este trabajo. Estas diferencias en relación a nuestro estudio, podrían estar dadas por las condiciones climáticas particulares de cada año y/o el manejo del sistema, ya que la metodología de muestreo y aislamiento fue igual a nuestro estudio. En países europeos, las prevalencias de CT en pollos de engorde suelen ser ampliamente variables, entre 2% y 100%, siendo más bajas en los países del norte de Europa que los países del sur (EFSA, 2010). El hallazgo de una amplia variedad de prevalencias podría estar condicionado por el manejo dentro de cada establecimiento, así también como por el clima y geografía de cada región. La totalidad de estos trabajos concuerdan que los pollos son el principal reservorio de CT al igual que lo reportado en este estudio.

En los establecimientos lecheros, la prevalencia de los terneros (15,4%) fue 6 veces superior a la prevalencia de las vacas en lactancia (2,5%). La mayor prevalencia en los terneros podría estar relacionada con el hecho de que la infección del ternero con CT podría deberse a la permanencia del ternero (horas hasta varios días) con su madre o en el predio de parición donde las vacas, por la situación de estrés en el parto, eliminan *Campylobacter* con mayor frecuencia y en mayores cantidades (Stanley et al., 1998; Klein et al., 2013). Esta infección inicial se ve favorecida por la presencia de un rumen poco desarrollado y el consumo de leche o sustituto de leche, lo cual permite una mayor supervivencia y el paso de *Campylobacter* al tracto intestinal inferior (Grau, 1988). En cambio, en el bovino adulto, el ambiente ruminal y su microbiota son menos favorables para el crecimiento de *Campylobacter*; sin embargo, dichas condiciones no implican una ausencia de susceptibilidad en este grupo (Krueger et al., 2008).

En cuanto a la prevalencia a nivel mundial de CT en establecimientos lecheros, se observó que en los terneros puede variar desde 11% hasta 85%. Estos hallazgos corresponden, principalmente, a trabajos desarrollados en países europeos (Nielsen, 2002; Ramonaitè et al., 2013; Klein et al., 2013; Merialdi et al., 2015). Las mayores prevalencias fueron en el norte de Europa, coincidente con los países en los que predominan la producción lechera bovina (Nielsen, 2002; Ramonaitè et al., 2013). Se ha observado que la prevalencia es mayor cuando los terneros son criados en sistemas de alojamiento grupal (10-20 terneros), debido a que un ternero infectado puede contaminar el medio ambiente, lo que conduce a una rápida transmisión de CT entre animales del mismo grupo (Rapp et al., 2012).

En estudios en bovinos adultos realizados en Oceanía las prevalencias reportadas (entre el 53,8% y 54%) fueron muy similares entre sí (Adhikari et al., 2002; Rapp et al., 2014; Rapp et al., 2020), pero superiores a las reportadas en trabajos realizados en América del Norte (entre el 4,2% y 8,3%) (Harvey et al., 2004; Guévremont et al., 2014). Estas similitudes de prevalencias de los trabajos en el mismo continente se podrían atribuir al tipo de manejo que realizan con los rodeos. En América del Norte el ganado está estabulado; en cambio, en Oceanía el manejo es pastoril. Sin embargo, en dos trabajos realizados en el continente Asiático, las prevalencias presentaron grandes diferencias, siendo el estudio con mayor prevalencia realizado en Tailandia (Padungtod y Kaneene, 2005) y el de menor prevalencia en Japón (An et al., 2018). La literatura no hace referencia a las posibles causas de estas diferencias, no obstante, podríamos atribuirlas a las condiciones ambientales, densidad de individuos o prácticas de manejo de los rodeos lecheros, que aunque estén en el mismo continente pueden variar en gran medida entre ambos países.

En los establecimientos de pollos de engorde, la presencia de CT en las botas de los empleados ha demostrado que el desplazamiento del personal puede ser un vehículo significativo para la introducción y diseminación de este microorganismo desde el ambiente externo hacia el interior de los galpones. Esto se debe a que CT esté ampliamente distribuido alrededor de estos establecimientos (Hansson et al., 2007; Ridley et al., 2011). En este contexto, el riesgo de contaminación está directamente relacionado con el número de empleados, el número de galpones y la frecuencia de sus visitas diarias (Refregier-Petton et al., 2001). La prevalencia de CT en las botas de los empleados de los establecimientos de pollos de engorde fue del 38,2%. En contraste, en los establecimientos lecheros la prevalencia reportada fue del 4,2%, casi 10 veces menor a la reportada en los establecimientos de pollos de engorde. Otros estudios en Nueva Zelanda reportaron que aunque las prevalencias halladas en los tambos muestreados fueron bajas, la presencia de CT fue del 100% en las botas de los empleados (Adhikari et al., 2002; Adhikari et al., 2004). Sin embargo, en Alemania (29,2%) (Knipper et al., 2023) y en Suecia (62%) (Hansson et al., 2020) reportaron prevalencias menores a Nueva Zelanda. Estas diferencias con otros trabajos, podrían estar dadas por la carga animal/ha, suelo y condiciones climáticas. Por lo descripto anteriormente, las botas desempeñarían un papel clave en la diseminación de CT en los establecimientos, aunque, existen diferencias notables entre los sistemas de producción de pollos de engorde y el tambo. En los pollos de engorde, el sistema intensivo implica que los animales permanecen dentro de los galpones durante todo el ciclo de producción, por lo que las botas del personal serían vectores críticos en la diseminación de CT. En cambio, en los sistemas de tambo las vacas permanecen en pastoreo y visitan el área de ordeñe al menos dos veces al día. En este caso, las pezuñas de los animales pueden actuar como un vector similar a las botas de los empleados, lo que exige estrategias de control diferenciadas. En los establecimientos de pollos de engorde, es más factible implementar medidas estrictas de higiene como el lavado de manos, el uso de desinfectantes en pediluvios, acceso limitado solo al personal clave y capacitación del personal (Gibbens et al., 2001; Pattison, 2001; Shreeve et.al, 2002; Bull et.al, 2006; Sahin et al., 2015). En cambio, en los establecimientos lecheros, si el personal utiliza la misma indumentaria tanto para las tareas de ordeñe como de la crianza artificial de los terneros, se debería implementar medidas de cambio y/o desinfección de las botas para realizar las diferentes tareas.

El estadio de larva/ adulto de *A. diaperinus* y las moscas domésticas se consideran vectores de *Campylobacter* termotolerantes y actúan como fuentes potenciales de contaminación diseminando este microorganismo. En el sistema de crianza de pollos,

las larvas y adultos de *A. diaperinus* se detectan en el ambiente del galpón (Hazeleger et al., 2008; Hansson et al., 2010; Vandeplas et al., 2010; Royden et al., 2016; Sibanda et al., 2018). La supervivencia de CT en los estadios de adulto y larva es poco duradera (<72 h) por lo tanto, no desempeñarían un rol importante en el ciclo de transmisión de un lote de pollos al siguiente (Skov et al., 2004; Templeton et al., 2006). Las moscas son estivales, y es en ese período durante el cual se han registrado prevalencias de CT superiores a las de otras estaciones (Hald et al., 2008). Aunque en nuestro estudio se detectó una baja prevalencia de *Campylobacter* en las moscas, el riesgo de transmisión por esta vía puede ser alto cuando las poblaciones de moscas son abundantes (Hald et al., 2007; Royden et al., 2016). Un estudio determinó que la colocación de mosquitera en el verano, impidió la entrada de moscas a los galpones, como consecuencia, la incidencia de CT en los pollos disminuyó considerablemente (Hald et al., 2007). Los aislamientos obtenidos de CT en los insectos fueron tanto del exterior como interior de los mismos a pesar que la temperatura corporal de los insectos no es favorable para el desarrollo de este microorganismo (Newell et al., 2011). Este hallazgo, no solo indica que se pueden considerar como vectores mecánicos, sino que también posibles vectores biológicos (Shane et al., 1985; Choo et al., 2011).

El agua de bebida puede actuar como un vehículo eficaz de propagación de *Campylobacter* (Newell et al., 2011; Jonsson et al., 2012). La baja prevalencia de CT en agua (2,3%) reportada en este trabajo coincide con los resultados de Ellis-Iversen et al. (2012), Thakur et al. (2013) y Zbrun et al. (2013). El estudio realizado por Rossler (2022) en los mismos establecimientos de pollos de engorde que fueron muestreados en el presente trabajo, no detectó la presencia del agente tanto en el tanque de agua principal que abastece a los galpones como en los bebederos dentro de los mismos. En contraste, en este trabajo se detectó CT en los bebederos. La contaminación de los bebederos suma a estos como potencial fuente de diseminación en el galpón, incrementando el riesgo en los pollos (Ellis-Iversen et al., 2012; Agunos et al., 2014). En el agua se detectó una amplia variedad de protozoos capaces de mantener viable a *C. jejuni* en su interior. Este hallazgo sugiere que al momento de aplicar desinfectantes en el agua de bebida se debe tener en cuenta que CT es más resistente al encontrarse dentro de estos protozoos (Snelling et al., 2005). Otro estudio afirma que también se puede encontrar viables no cultivables (VBNC) en el agua durante al menos 63 días (Reichelt et al., 2023). En cambio, en los establecimientos lecheros estudiados, no se detectó CT en el agua, a pesar que el sistema de provisión del agua a los animales no estaba clorinada. Otros trabajos reportaron la presencia del agente en tambos (Adhikari et al., 2004; Rapp et al., 2020), en los que el agua de provisión a los bebederos fue

clorada (Hänninen et al., 1998; Adhikari et al., 2004). Sin embargo, no habría que descartar que el agua de bebida es una posible fuente de CT en los establecimientos lecheros, ya que las aves silvestres tienen acceso y podrían estar contaminándola (Adhikari et al., 2004).

La cama nueva utilizada durante el período de crianza de los pollos de engorde no se considera una fuente de contaminación debido a su bajo contenido de humedad (Newell et al., 2011). Sin embargo, al ser utilizada durante esta etapa, la cama se humedece con las deposiciones de los pollos. De esta manera, la cama reutilizada puede predisponer potencialmente a los pollos a la contaminación; en cambio, el mantener la renovación de la cama limpia de un ciclo productivo a otro, podría reducir las incidencias (Kassem et al., 2010; Sahin et al., 2015). Algunos estudios indican la ausencia de detección de *Campylobacter* en la cama de los pollos (Zweifel et al., 2008; Thakur et al., 2013; Zbrun et al., 2013; Rossler, 2022), lo que sustenta el resultado en nuestro estudio. No obstante, la ausencia de detección de CT puede ser debido al uso de técnicas de cultivo tradicionales (Kassem et al., 2010; Smith et al., 2016). Esto se debe a que la forma VBNC no se puede cultivar y permite prolongar su supervivencia en condiciones adversas (Gangaiah et al., 2009; Kassem et al., 2013). Vale mencionar que en el período de estudio la cama fue reutilizada en varios ciclos productivos.

El alimento no se considera un contaminante de alto riesgo de CT. Esto se debe a que la baja actividad del agua del alimento seco no permite la supervivencia de *Campylobacter*. Sin embargo, el alimento puede ser un vehículo para la transmisión horizontal en establecimientos de pollos de engorde (Silva et al., 2011). En nuestro estudio no se detectó la presencia de CT en el alimento, al igual que Rossler (2022) y Thakur et al. (2013). No obstante, Zbrun et al., 2013 reportaron un 4,3% en las granjas de pollos en la misma región que el presente estudio. La presencia de CT en el alimento puede originarse por la deposición de los pollos con *Campylobacter* y puede actuar como propagador de la infección dentro del galpón (Silva et al., 2011; Cox et al., 2012). En los establecimientos lecheros, el rollo y el silo son dos reservas forrajeras muy utilizadas para la alimentación de las vacas en lactancia, se encuentran al aire libre donde las aves suelen posarse y alimentarse. Adhikari et al. (2004) detectaron la presencia de CT en la capa superior de ellos y sugieren que pueda ser a los excrementos de las aves silvestres, siendo un vehículo potencial en la transmisión de *Campylobacter* desde las aves silvestres al ganado lechero. Según nuestros resultados, tanto el rollo como el silo fueron negativos a la presencia de CT, y por esto lo consideramos de bajo riesgo.

La detección de CT en la leche se debe a la falta de higiene de las ubres en la rutina de ordeñe, considerado uno de los principales factores de riesgo en los tambos. El uso de agua tibia y desinfectante en los pezones previo al ordeñe son la principal herramienta de prevención de CT en la leche (Skrypek et al., 2003; Admasie et al., 2023). La pasteurización es uno de los métodos eficaces de reducción de CT, ya que el mal calibrado del equipo se asoció con un mayor riesgo de detección (Modi et al., 2015; Admasie et al., 2023). Los hallazgos de CT en la leche, en el presente estudio (3,8%) fueron similares con Modi et al. (2015), Kazemeini et al. (2011), Wysok et al. (2011) y Rahimi et al. (2017); otros trabajos no detectaron la presencia de CT (Singh et al., 2009; Italian Republic, 2007). Por lo anterior, es de suma relevancia que no se consuma leche cruda, debido al potencial de transmisión de CT a los humanos.

En los establecimientos de pollos de engorde, los caninos y felinos pueden ingresar dentro de los galpones y comportarse como una fuente directa de contaminación o contaminar fecalmente el ambiente circundante, considerándose una potencial fuente de *Campylobacter* (Messens et al., 2009; Newell et al., 2011). En ambos tipos de establecimientos tanto caninos como felinos no presentaron aislamientos, al igual que en los trabajos de Bull et.al, (2006), Messens et al. (2009) y Rossler (2022). Es de destacar que existen trabajos que reportaron prevalencias con más del 40% (Workman et al., 2005; Andrzejewska et al., 2013). Los resultados negativos, no necesariamente reflejan la ausencia de CT, sino que indican que este microorganismo podría encontrarse en un número por debajo de la sensibilidad de la técnica de aislamiento en dichas muestras (Silva et al., 2011; Schets et al., 2017).

Tanto las aves silvestres como de traspasio presentan la misma temperatura corporal de 41 °C, al igual que los pollos de engorde (Giloh et al., 2012; Wang et al., 2020; Peebles et al., 2021). Esta característica que comparten, puede facilitar la persistencia de CT (Levin, 2007). Las aves domésticas de traspasio pueden servir como reservorios de patógenos para la industria avícola comercial (Oluwayelu et al., 2008; Blakey et al 2019). En nuestro estudio, en dos de los establecimientos lecheros estaban presentes aves domésticas de traspasio. Los estudios que investigaron la presencia de CT en aves de traspasio son muy escasos. No obstante, en esos pocos trabajos se reportan prevalencias del 13% al 86% (Anderson et al., 2012; El-Tras et al., 2015; Pohjola et al., 2016), ya que dentro de ese rango se encuentra nuestro resultado. El hábitat de las aves de traspasio se superpone con el hábitat de aves silvestres, y en esa interfaz se facilita la transmisión de patógenos, a través de la exposición a material infeccioso (Daszak et al. 2000; Gilchrist, 2005; Soos et al., 2008; Cardenas-Garcia et al., 2013; Ferreira-Junior et al., 2018).

Las aves silvestres causan contaminación del ambiente (Abulreesh et al., 2004, 2005) y dispersión de patógenos a corta y larga distancia (Hubálek 2004). Si bien existe amplia evidencia de que la infección por CT en aves silvestres es común, aún no está clara la importancia de las mismas en las dinámicas de infección (Waldenström y Griekspoor, 2014). Las prácticas de bioseguridad en los establecimientos pueden influir en la frecuencia de las visitas de las aves silvestres. Algunas de esas prácticas incluyen la limpieza del alimento disperso alrededor de los galpones, así como el control del pasto y las malezas. De todos ellos, el factor que influye en el tipo de especie de ave silvestre que visita los establecimientos es la disponibilidad de alimento (DAFF, 2009). Un estudio reportó que las probabilidades de las aves en adquirir una infección por CT son mayores en aquellas que consumen alimentos de origen animal o mezcla de alimentos de origen animal y vegetal, y que además, se alimenten desde el suelo y en la vegetación cerca de las estructuras de producción (Hald et al., 2015). La transmisión de CT entre las aves silvestres y los pollos es por lo general por ruta indirecta, siendo la exposición a patógenos por contaminación fecal-oral de alimentos, agua o fómites (Cortez et al., 2013; Scott et al., 2018). El tejido romboidal que se encuentra conteniendo el perímetro de los galpones tiene un tamaño que permite la entrada de algunas especies de aves silvestres, principalmente, el gorrión doméstico. La colocación de un tejido de menor tamaño, podría disminuir el flujo de visitas de las aves silvestres al interior de los galpones.

En cambio, en los establecimientos lecheros el control de las aves silvestres es menor debido a que es un sistema al aire libre y cuentan con gran disponibilidad de alimento. En este contexto, la crianza artificial de terneros en estaca representa un entorno propicio para la persistencia de CT. El contacto físico entre los terneros y la contaminación fecal en los baldes de alimentación, facilitan la transmisión de CT. En nuestras observaciones a campo, tanto las aves silvestres como de traspaso frecuentaban los baldes de los terneros, lo que sugiere que el alimento podría actuar como un vehículo indirecto de infección entre las aves y los terneros. En algunos de los baldes el alimento presentó humedad, lo que proporciona el ambiente propicio para la sobrevida de CT. Por lo tanto, la limpieza diaria de los baldes sería lo más adecuado para la prevención de reinfección (Maunsell y Donovan, 2008; Heinemann et al., 2021).

Como resultado del análisis de la distribución de las especies de CT entre los diversos compartimentos en los sistemas productivos se observó que en algunos casos, la composición fue homogénea, mientras que en otros presentó una marcada heterogeneidad. Cuando la composición de especies de CT fue homogénea, se podría inferir que esta similitud podría reflejar una alta frecuencia de intercambio de especies

de CT entre los compartimentos y en aquellos casos en los que la composición de CT fue heterogénea, se hipotetiza que el intercambio de especies de CT sería reducido. En este contexto, aquellos compartimentos que tuvieron diferencias en la composición de CT podrían actuar como "nichos particulares" (Hepworth et al., 2011), donde los patógenos experimentan un menor intercambio con el resto de los compartimentos dentro de cada sistema productivo. Sería conveniente que para afianzar estas conjeturas se adicionen estudios que incluyan factores como la ecología de cada especie y las características del hábitat, entre otros, los cuales ayudarían a explicar estos hallazgos.

De acuerdo a lo descripto anteriormente, en los establecimientos de pollos de engorde aquellos compartimentos con mayor prevalencia de CT, en orden de importancia, fueron los pollos de engorde, las botas de los empleados, las aves silvestres y vectores y fómites (Figura 26). De acuerdo a la composición de especies de CT, el intercambio de agentes fue marcado entre el conjunto de vectores y fómites (agua, alimento, cama, mosca doméstica, mascotas y botas de los empleados) con los pollos de engorde y con los estadíos de larva y adulto de *A. diaperinus*. Sin embargo, en las aves silvestres se observó una menor homogeneidad de especies de CT en comparación con todos los compartimentos (pollos de engorde, conjunto de los vectores y fómites y con los estadíos de larva y adulto de *A. diaperinus*), lo que sugiere un menor intercambio. En general, la especie dominante en este sistema fue *C. jejuni*, encontrándose en todos los compartimentos, excepto en las aves silvestres donde predominaron especies de *Campylobacter* distintas a *C. jejuni* y *C. coli* (Figura 26).

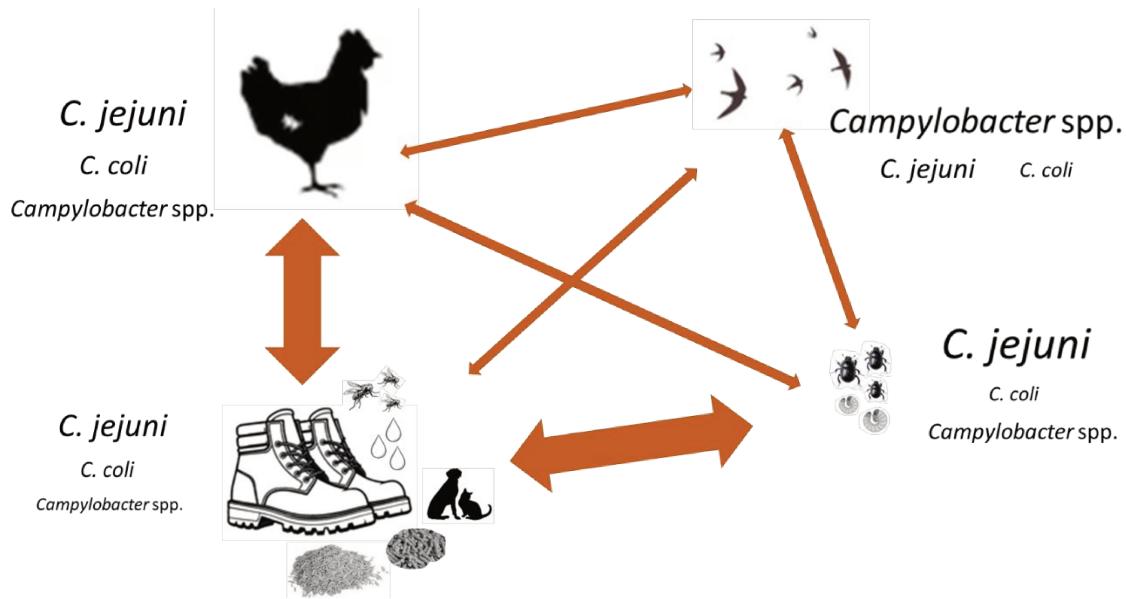


Figura 26: Interambio hipotético entre compartimentos en establecimientos de pollos de engorde. El tamaño de las imágenes es proporcional a la prevalencia en cada compartimento. Las flechas indican el flujo de CT (flechas delgadas indican menor intercambio y las flechas gruesas mayor intercambio de especies de CT). El tamaño de fuente de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter spp.* indica la proporción en que se encontró cada especie. Cuanto mayor es el tamaño de fuente, mayor fue el número de aislamientos detectados en el/los compartimentos correspondientes.

En los establecimientos lecheros, aquellos compartimentos de mayor relevancia, en orden de importancia, fueron las aves de traspatio, las aves silvestres, los bovinos, los vectores y fómites. La composición de especies de CT sugiere que el intercambio fue marcado entre los bovinos, aves de traspatio, vectores y fomites. Sin embargo, las aves silvestres parecen haber tenido mayor intercambio de CT con el conjunto de los vectores y fomites, mientras que con el resto de los compartimentos fue escaso. Al igual que en los establecimientos de pollos de engorde, la especie dominante fue *C. jejuni* en todos los compartimentos, con excepción de las aves silvestres, donde predominaron especies de *Campylobacter* distintos a *C. jejuni* y *C. coli* (Figura 27).

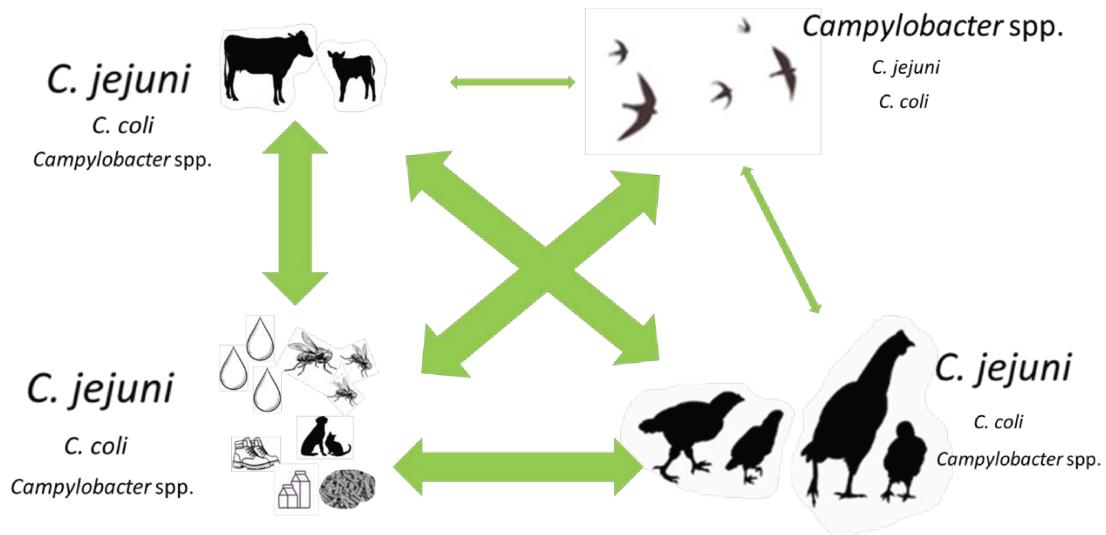


Figura 27: Intercambio hipotético entre compartimentos en establecimientos lecheros. El tamaño de las imágenes es proporcional a la prevalencia de cada compartimento. Las flechas indican el intercambio de CT (flechas delgadas indican menor intercambio y las flechas gruesas mayor intercambio de especies de CT). El tamaño de fuente de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter spp.* indica la proporción en que se encontró cada especie. Cuanto mayor es el tamaño de fuente, mayor fue el número de aislamientos detectados en el/los compartimentos correspondientes.

## 5. 2. Aspectos ecológicos de las aves silvestres en establecimientos pecuarios asociados a la presencia de *Campylobacter* termotolerante

La composición y dinámica de la microbiota intestinal de las aves silvestres están determinadas por una variedad de factores extrínsecos e intrínsecos que influyen en las comunidades microbianas intestinales. Los factores extrínsecos incluyen la dieta del hospedador, las interacciones sociales y los inóculos microbianos ambientales, mientras que los factores intrínsecos son innatos e incluyen la composición genética, la edad y el sexo (Grond et al., 2018).

La distancia geográfica puede correlacionarse negativamente con la similitud de la microbiota (Dominguez-Bello y Blaser, 2011), pero la flora y fauna locales, el fotoperíodo, el alimento disponible, las condiciones climáticas, entre otros factores, pueden afectar a la microbiota y diferir según la localidad, más allá de la genética, ecología o historia evolutiva de las aves silvestres (Hird et al., 2014). Aunque en el

presente estudio no se encontró una asociación significativa entre la prevalencia de CT con el tipo de establecimiento, si se observaron diferencias considerables entre los sistemas de producción a nivel de especie. La prevalencia de *C. jejuni* en aves silvestres, de los establecimientos de pollos de engorde fue un 40% mayor en comparación con las aves silvestres de los tambos. Esta diferencia fue aún mayor al tener en cuenta sólo a los gorriones domésticos de ambos sistemas pecuarios. La prevalencia de *C. jejuni* de los gorriones que habitaban en los establecimientos de pollos de engorde fue un 64% mayor a diferencia de los gorriones que habitaban en los tambos. Esta diferencia podría sugerir que la fuente predominante de *C. jejuni* en los sistemas avícolas son los pollos de engorde, lo que explicaría la mayor prevalencia de esta especie de CT en las aves silvestres que habitan en este tipo de establecimiento. En cambio, en los establecimientos lecheros, la menor prevalencia de *C. jejuni* está asociada a la ausencia de pollos de engorde y una menor prevalencia en los bovinos (vacas y terneros). Por el contrario, *C. coli* y *Campylobacter* spp. no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos tipos de establecimientos. Aunque no se hayan encontrado diferencias significativas, cabe destacar que la prevalencia de *Campylobacter* spp. observada en las aves silvestres que habitan en los tambos (72,6%) fue superior a la observada en aves silvestres en los establecimientos de pollos de engorde (44,8%). El elevado número de aislamientos de CT que no fueron *C. jejuni* o *C. coli* en las aves silvestres de los tambos, posiblemente refleja mayor diversidad de este grupo de bacterias en las especies de aves que habitan en este tipo de establecimiento.

La evolución del hospedador tiene un rol clave en la composición de la microbiota intestinal de los mamíferos (Ley et al., 2008) y de las aves silvestres (De la Torre et al., 2022). En general, las especies estrechamente relacionadas presentan comunidades microbianas intestinales similares (Waite y Taylor, 2014; Hird et al., 2015). Según, los resultados obtenidos en el presente estudio, la taxonomía tuvo una gran influencia en la presencia de CT, ya que los Passeriformes fue el orden de mayor relevancia en este estudio. La familia Passeridae representó el mayor número de individuos en ambos sistemas pecuarios. Además, a nivel de familia, Icteridae y Passeridae, y en menor medida Furnariidae se destacaron con alta prevalencia de CT, teniendo el resto de las familias del orden Passeriformes prevalencias menores o nulas. Probablemente estas variaciones en la prevalencia de CT enten reflejando diferencias co-evolutivas entre el agente y el hospedador, como se observó en algunas aves de Suecia que tienen drásticas diferencias en la prevalencia de CT entre especies que pertenecen a la familia Turdidae (Waldeström et al., 2002). En ese estudio, los autores detectaron que la

infección por CT se encontró solo en individuos del género *Turdus* (subfamilia Turdinae), mientras que el resto de los géneros muestreados, incluidos *Erithacus*, *Oenanthe*, *Luscinia*, *Phoenicurus*, *Ficedula* y *Muscicapa*, todos pertenecientes a la subfamilia Muscicapinae, estuvieron libres de *Campylobacter*. Ambas subfamilias se alimentan en el suelo en busca de invertebrados. Estos resultados muestran una susceptibilidad diferencial entre subfamilias a pesar de ambas compartir el gremio trófico. Teniendo en cuenta ese hallazgo, es plausible que adaptaciones evolutivas en las aves de la subfamilia Muscicapinae hayan resultado en que ese linaje sea más resistente o menos competente para *Campylobacter* que Turdinae. La existencia de diferencias ecológicas sutiles en el uso del microhábitat que hagan que todas las especies de *Turdus* estén expuestas a CT con más frecuencia que especies de Muscicapinae (Waldeström et. al; 2002). Sin embargo, se sabe aún poco sobre el rango de hospedadores que es capaz de ser usado por los CT y la competencia de hospedador de cada grupo.

A nivel de especie, el gorrión doméstico podría considerarse la especie de mayor susceptibilidad a CT entre las evaluadas en este trabajo, y por ende tienen el potencial de actuar como nexo entre los animales de producción y otras familias de aves. A campo, se ha observado que dentro de los galpones de pollos de engorde la especie dominante es el gorrión doméstico, mientras que otras especies comunes como el hornero, el benteveo, el tordo músico y el chingolo se han visto en muy bajo número. En los establecimientos lecheros, se observaron gorriones dentro de los baldes donde se alimentan los terneros y en los rollos con los cuales se alimenta la recría. Un estudio realizado en España, mediante foto-trampeo, detectó que las especies que interactuaban con mayor frecuencia con el gorrión común pertenecían al orden Passeriformes, siendo su presencia dos veces mayor que la de Columbiformes. Por el contrario, las aves del orden Charadriiformes tuvieron menos contacto con el gorrión común (Sánchez-Cano et al., 2024). Los contactos de otras aves con gorriones domésticos se observaron en asociación con la comida y/o el agua. Además, se demostró que los contactos directos e indirectos de gorriones con otras especies de aves en las granjas ocurren más frecuentemente con especies residentes que con especies parcial o totalmente migratorias (Sánchez-Cano et al., 2024). Por lo tanto, se puede considerar que el gorrión doméstico tiene el potencial de ser una especie clave para la diseminación de CT en los ambientes de sistemas productivos de nuestra región.

La ingestión de microorganismos con los alimentos es probablemente una vía principal de infección microbiana del tracto gastrointestinal de las aves (Grond et al. 2017). Las diferentes ubicaciones geográficas proporcionan diferentes entornos microbianos, lo que lleva a que las aves ingieran microorganismos específicos según el lugar (Grond et

al., 2018). Los gremios tróficos y el comportamiento alimenticio de las aves silvestres se consideran factores que pueden influir y afectar la prevalencia y exposición a CT. Hird et al. (2014, 2015) determinaron que tanto el gremio al que pertenecían las aves como el comportamiento alimenticio constituyeron factores influyentes, aunque en menor proporción que el taxón al cual pertenecen las aves silvestres. Otros trabajos observaron que de especies de aves silvestres que se alimentan a cierta altura por encima del suelo no se aisló CT (Waldeström et al., 2002; Sensale et al., 2006), mientras que en otras que se alimentan cerca o al ras del suelo la prevalencia fue alta (Sensale et al., 2006; Waldeström et. al; 2002; Hald et al., 2015). Si bien esta nula prevalencia en el primer grupo podría reflejar una incapacidad del patógeno para mantener una infección en esas especies (por incompetencia o resistencia del hospedador), es más probable que estén operando factores comportamentales que influencien la exposición al patógeno (Waldeström et. al; 2002). Nuestros resultados coincidieron con estos hallazgos previos, en los cuales se demostró que en aquellas aves que se alimentan a nivel del suelo la prevalencia a CT fue significativamente mayor en comparación con aquellas que lo frecuentaban poco o nada. Los hallazgos sugieren que la cercanía al suelo constituiría un factor de exposición de CT en las aves.

En investigaciones de Waldeström et. al., (2002) y Sensale et al., (2006), en aves silvestres granívoras e insectívoras no se aisló CT, mientras que si fue detectado en aves rapaces y oportunistas. En contraste, en el presente estudio no se encontró evidencia de que los gremios tróficos estén asociados a la presencia de CT. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las aves que pertenecieron al gremio de los omnívoros en los establecimientos de pollos de engorde y los frugívoros en los establecimientos lecheros fueron los de mayor prevalencia. Sería conveniente promover el hábitat de especies de aves (por ejemplo, a través de cajas nido, plantación de determinadas especies de árboles) que presenten menor prevalencia de CT en los establecimientos pecuarios, como una estrategia útil para reducir la incidencia en estos sistemas (Smith et al., 2022).

### **5. 3. Patrones temporales de CT en establecimientos pecuarios, comparación entre aves silvestres con animales de producción y entre aves silvestres de ambos sistemas**

El otoño fue la estación en que se encontró la mayor prevalencia de CT, tanto en el primer año como en el segundo; no obstante, al analizar las prevencias de las especies y las generales no se encontró un patrón estacional consistente. Según la literatura, el

patrón estacional característico en los establecimientos de pollos de engorde es un pico de prevalencia de CT en el verano (Messens et al., 2009; EFSA, 2011; Baali et al., 2020; Shimaa et al., 2015; Sommer et al., 2016; Zendehbad et al., 2015). Se hipotetiza que la mayor prevalencia en verano es debida a la abundancia de moscas que actúan como vectores mecánicos (Hald et al., 2008), mayor consumo de agua y ventilación en los galpones, entre otros factores (EFSA, 2011). En coincidencia con nuestros resultados, otros autores no observaron evidencia de variación estacional (Gregory et al., 1997; Nadeau et al., 2002; Evans y Sayers, 2000; Urdaneta et al., 2023), aunque se haya observado variación inter e intra-anual, pero sin consistencia entre los dos años. Esta dinámica podría estar influenciada por variables climáticas de cada año en particular o con dinámicas relacionadas al tipo de producción. Algunos estudios afirman que las variables climáticas como la temperatura, precipitaciones, horas de luz y otras, como la región y el año, condicionan la prevalencia de CT en los establecimientos de pollos de engorde (Hansson et al., 2007; Jonsson et al., 2010; Jonsson et al., 2012; Vereen et al., 2013; Kalupahana et al., 2018).

En un estudio en rebaños lecheros realizado en el Reino Unido, se observó un patrón estacional con picos en primavera y otoño. Los picos estacionales coinciden con la transición de invierno al pastoreo de primavera y del pastoreo de otoño retornando a la estabulación de invierno. Esta dinámica estacional, puede reflejar un cambio en la dieta o la fuente de agua durante los períodos de pastoreo (Stanley et al., 1998; Stanley et al., 2003). Sin embargo, otros autores encontraron que la prevalencia de CT fue mayor en verano y otoño; y más baja en invierno (Meanger y Marshall 1988; Elango et al., 2012; Rahimi et al., 2017; Barata et al., 2022). Meanger y Marshall (1988) sugirieron que las condiciones climáticas estaban directamente relacionadas con la presencia de CT. Al igual que lo observado en los establecimientos de pollos de engorde, estos hallazgos no fueron coincidentes con los resultados del presente estudio. Si bien podemos sugerir que en ambos sistemas pecuarios están involucradas las variables climáticas en estas dinámicas, serán necesarios estudios adicionales para poner a prueba esta hipótesis.

Con respecto a la dinámica de infección de cada especie de CT, si bien los resultados demostraron variaciones inter e intraanuales sin un patrón temporal consistente. Un estudio evidenció que las dinámicas de *C. jejuni* y *C. coli* difieren entre sí observando tendencias opuestas (Iannetti et al., 2020). *Campylobacter jejuni* mostró un nivel de prevalencia más bajo en primavera que en el resto de las estaciones, mientras que *C. coli* mostró una prevalencia mayor en primavera que en las otras estaciones. Otro estudio (Colles et al., 2015), sugiere que existe un control natural de la dinámica de *Campylobacter* dentro del galpón, y que las dos especies deberían considerarse por

separado, debido a sus deferencias en su comportamiento ecológico y dinámicas de población dentro del sistema. No obstante, esta dinámica puede estar comandada por el hospedador (pollos de engorde), determinando el patrón de infección de CT, ya que múltiples cepas pueden colonizar al hospedador y aquellas que son dominantes son reemplazadas como consecuencia de una respuesta inmune específica a cada cepa (Skanseng et al., 2007).

En un estudio realizado en Dinamarca, se encontró una fuerte correlación entre la prevalencia de *C. jejuni* de aves silvestres y de los bovinos ( $R^2 = 0,92$ ), y una correlación moderada con los pollos de engorde ( $R^2 = 0,54$ ). En cambio, no se observó correlación entre *C. coli* en aves silvestres con los bovinos y con los pollos de engorde (Hald et al., 2015). En el presente estudio, los aislamientos de *C. coli* fueron muy escasos, de esta manera, no se pudo realizar las correlaciones. Sin embargo, contrariamente al estudio anterior, no existieron correlaciones temporales entre las prevalencias de las aves silvestres con los animales de producción y entre las aves silvestres de ambos sistemas productivos. Los resultados del presente estudio sugieren que las dinámicas temporales de CT de las aves silvestres son independientes a las de los animales de producción, lo que sugiere que esas dinámicas no están dadas por una fuente común o un intercambio entre los animales de producción y las aves silvestres.

#### **5. 4. Diversidad genotípica en establecimientos pecuarios**

La variabilidad genética encontrada en los aislamientos de CT mostró una heterogeneidad considerable, especialmente entre los aislamientos de *C. jejuni*, que exhibieron una mayor diversidad en comparación con los de *C. coli*. Este hallazgo es consistente con reportes previos (Gruntar et al., 2010; Denis et al., 2011; Wieczorek et al., 2015; da Silva et al., 2016). La amplia heterogeneidad de genotipos de *C. jejuni* puede estar influenciada por la captación e incorporación de ADN cromosómico, mutaciones de cadena deslizante en tractos homopoliméricos y reordenamientos genómicos detectables por PFGE (Wassenaar et al. 2002). Estos mecanismos permiten la generación de múltiples variantes fenotípicas capaces de mostrar una amplia gama de aptitudes para sobrevivir y superar los cuellos de botella evolutivos inducidos por el medio ambiente. Este mecanismo de supervivencia hipotético tiene como finalidad generar una amplia diversidad fenotípica durante las condiciones que permiten el crecimiento bacteriano. De esta manera, se asegura que al menos una subpoblación tenga probabilidades de sobrevivir (Ridle et al., 2008). En contraste, *C. coli* tiene menor

heterogeneidad genómica, siendo genéticamente más estable en el tiempo (Colles et al., 2015), por lo tanto, con menores probabilidades de supervivencia.

Según los resultados obtenidos a partir de PFGE, algunos genotipos que fueron aislados en pollos de engorde, aves silvestres, vectores y fomites fueron persistentes durante los dos años de muestreo y en todas las estaciones climáticas, detectándose en los tres departamentos con establecimientos de pollos de engorde. Este resultado, sugiere una fuente de contaminación cruzada entre galpones de pollos de engorde de los tres departamentos. Además, se ha demostrado que los clones pueden persistir durante sucesivas rotaciones de diferentes lotes de aves y que probablemente provengan de diferentes fuentes ambientales (Nadeau et al., 2002; Rivoal et al., 2005). Esta relación clonal entre los aislamientos obtenidos a partir de la diversidad de muestras, podría estar asociada al hecho de que los diferentes establecimientos de pollos pertenecen a la misma empresa y la conexión puede estar dada por el profesional veterinario que las atiende y los vehículos que suministran el alimento y hacen la carga de los pollos de engorde una vez finalizada la etapa. Contrariamente a estos hallazgos, en otro estudio no evidenciaron conexiones, lo que sugiere una relativa estabilidad genética en cada establecimiento de pollos de engorde, lo cual podría ser el resultado de la adaptación a la presión ambiental (Manning et al., 2001). En contraste, en los establecimientos lecheros solo un perfil fue compartido entre terneros de diferentes establecimientos, por lo que se puede sugerir que factores ambientales y de manejo sean los causales del escaso intercambio de genotipos.

Según el tipo de sistema, podríamos hipotetizar que las aves silvestres que habitan en los establecimientos de pollos de engorde tienen un menor contacto con los pollos de engorde que con los bovinos. Sin embargo, los resultados de PFGE demostraron lo contrario, solo un genotipo (3%) fue compartido entre los terneros y aves silvestres. Este hallazgo se condice con un estudio realizado en el Reino Unido en el cual se determinó que solo algunas cepas de *C. jejuni* presentes en las aves silvestres estaban asociadas con los bovinos, mientras que otras eran exclusivas de cada especie de ave. Asimismo, en dicho estudio (Hugues et al., 2009) no se hallaron cepas de *C. jejuni* propias de aves silvestres en los bovinos, lo que sugiere que la dirección de la transmisión es predominantemente del ganado a las aves silvestres. En coincidencia con el hallazgo de los escasos genotipos compartidos entre bovinos y aves silvestres, Rapp et al. (2020) compararon genotipos de *C. jejuni* entre vacas en lactancia y aves silvestres y encontraron que un genotipo era abundante y estable en la población de aves silvestres estudiada, pero se detectó con poca frecuencia en vacas.

Asimismo, en los establecimientos de pollos de engorde, el 41,6% de los genotipos de *C. jejuni* y el 27,3% de los genotipos de *C. coli* fueron aislados tanto en los pollos de engorde como en las aves silvestres. Un estudio realizado por Petersen et al., (2001) mostraron que los genotipos aislados de aves silvestres y de pollos de engorde rara vez son los mismos. Este estudio sugiere que la importancia de las aves silvestres como reservorio de infección es limitada. Sin embargo, en el presente estudio fue detectado lo contrario.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente en relación a los escasos genotipos compartidos de animales de producción con las aves silvestres, algunos estudios obtuvieron aislamientos de *C. jejuni* con alta similitud dentro de la misma especie de ave/grupos filogenéticos o gremio trófico. Esto indicaría que existe una fuente de transmisión común para los individuos de esa especie (Broman et al., 2004; Griekspoor et al., 2013), mientras que el origen geográfico tendría poca importancia (Griekspoor et al., 2013).

Los genotipos compartidos entre los sistemas de pollos de engorde y tambo representan el 25% de los genotipos de *C. jejuni* y el 9% de los genotipos de *C. coli*. Como ejemplo, un perfil estuvo conformado por aislamientos procedentes de gorrones que habitaban en establecimientos de pollos de engorde y otro aislamiento de una gallina procedente de un establecimiento lechero (*C. jejuni* Perfil 19; Figura 23). Así también, se observaron genotipos en pollos de engorde compartidos con una gallina de traspatio y una vaca en lactancia, los cuales pertenecieron al establecimiento lechero (*C. jejuni*. Perfil 14; Figura 23). Anteriormente, se mencionó que en los establecimientos estudiados de cada sistema productivo, no se halló cohabitación con animales de producción de otra especie (ej., en los tambos no cohabitaban los pollos de engorde). Por lo tanto, se podría hipotetizar que el transporte de genotipos entre ambos sistemas podría ser por aquellas especies con posibilidad de libre movimiento, como las aves silvestres. Estas aves migratorias, podrían tener interacción con los gorrones y con las aves de traspatio al compartir espacios de consumo de alimento y agua. Estos sitios de uso común, las aves migratorias se infectan y podrían comportarse como “especie puente” de genotipos entre establecimientos, tal como se describió para el caso del Virus de la Influenza Aviar (Beldoménico y Uhart, 2008).

# **6. Conclusiones**

1. Los establecimientos de pollos de engorde constituyen el principal foco de infección por CT, mientras que los establecimientos lecheros juegan un papel menos importante en la epidemiología de este agente.
2. La detección de CT en diversos vectores y fomites sugiere una amplia circulación del agente en estos sistemas productivos. Identificar aquellos compartimentos de mayor relevancia permite optimizar las estrategias de prevención y control.
3. El orden Passeriformes fue el grupo de mayor abundancia en ambos sistemas productivos, identificándose el gorrión doméstico como la especie dominante. La abundancia y alta prevalencia de CT en esta especie sugiere fuertemente un rol significativo en la epidemiología de CT en establecimientos productivos de la región.
4. La ocurrencia de CT en aves silvestres estuvo influenciada por el comportamiento alimenticio, siendo mayor la prevalencia en las aves silvestres que se alimentan a nivel del suelo.
5. La ausencia de un patrón estacional tanto en la totalidad de los compartimentos como en cada sistema productivo, nos indica que la dinámica temporal podría estar influenciada por variaciones climatológicas intraanuales o por factores relacionados al tipo de producción.
6. Los patrones temporales de CT de las aves silvestres fueron independientes de los animales en producción, como así también fueron independientes entre las aves silvestres de distintos tipos de sistemas productivos. Las dinámicas temporales no estarían dadas por una fuente común o un intercambio directo inmediato entre los animales de producción y las aves silvestres.
7. Las aves silvestres en general, y particularmente el gorrión doméstico, presentaron una prevalencia de *C. jejuni* superior en los establecimientos de pollos de engorde que en los lecheros. Esto podría atribuirse al predominio de esta especie de CT en los pollos, lo que favorecería un mayor intercambio entre estos y las aves silvestres, incrementando así la probabilidad de transmisión.
8. Los genotipos de *C. jejuni* y *C. coli* compartidos entre animales de producción y aves silvestres fueron aislados con mayor frecuencia en los establecimientos de pollos de engorde que en los tambos. Claramente, este hallazgo indica que el tipo de sistema productivo condiciona el intercambio de CT o infección por fuente común entre animales de producción y aves silvestres.

9. La ausencia de un patrón temporal y una alta similitud de genotipos entre aves silvestres y pollos, sugieren que el intercambio de CT no ocurre de manera continua sino que se da en ciertos momentos, circunstancias o bajo condiciones específicas.

10. Las aves silvestres, especialmente el gorrión doméstico, es transmisor de CT y podrían ser reservorios cumpliendo un papel más relevante en los sistemas avícolas donde las condiciones favorecen un mayor intercambio del patógeno con los pollos de engorde. Estos hallazgos subrayan la importancia de implementar estrategias de control y bioseguridad más efectivas, para minimizar el riesgo de transmisión del agente en estos sistemas productivos.

11. Finalmente, valorando los resultados de manera integral, existe evidencia de que las aves silvestres, y en particular el gorrión doméstico, cumplen un rol de consideración a nivel de la interfaz doméstico-silvestre en el centro de la provincia de Santa Fe principalmente, en establecimientos de pollos de engorde.

# 7. Bibliografía

- Abdollahpour N, Zendehbad B, Alipour A, Khayatzadeh J. 2015. Wild-bird feces as a source of *Campylobacter jejuni* infection in children's playgrounds in Iran. *Food Control.* 50: 378-381.
- Abulreesh HH, Paget TA, Goulder R. 2004. Water owl and the bacteriological quality of amenity ponds. *Journal of Water and Health* 2: 183-189.
- Abulreesh HH. 2005. Waterfowl, faecal indicators and pathogenic bacteria in amenity ponds. PhD thesis, University of Hull.
- Abushahba MF, Ahmed SO, Ibrahim AA, Mosa HA. 2018. Prevalence of zoonotic species of *Campylobacter* in broiler chicken and humans in Assiut governorate, Egypt. *Approaches Poult. Dairy Vet. Sci.*, 3(4), 260-268.
- Achen M, Morishita TY, Ley EC. 1998. Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* in broilers from day of hatch to slaughter age. *Avian Dis.* 42: 732-737.
- Acosta MI, Cañizá MJ, Romano MF, Araujo EM. 2007. Síndrome de Guillain-Barré. *Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina. Appl. Environ. Microbiol.* 48:1254-1255.
- Adhikari B, Connolly JH, Madie P, Davies PR. 2004. Prevalence and clonal diversity of *Campylobacter jejuni* from dairy farms and urban sources. *N. Z. Vet. J.*, 52: 378–383.
- Adhikari B, Madie P, Connolly J, Davies P, Layland M, Rogers L. 2002. Wild birds, flies, and rodents as reservoirs of *Campylobacter* spp. on dairy farm. New Zealand Ministry of Agriculture and Forestry Technical Paper, (2002/18).
- Admasie A, Eshetu A, Tessema TS, Vipham J, Kovac J, Zewdu A. 2023. Prevalence of *Campylobacter* species and associated risk factors for contamination of dairy products collected in a dry season from major milk sheds in Ethiopia. *Food Microbiol.* 109, 104145.
- Agunos A, Waddell L, Léger D, Taboada E. 2014. A systematic review characterizing on-farm sources of *Campylobacter* spp. for broiler chickens. *PloS one*, 9(8), e104905.
- Allen VM, Ridley AM, Harris JA, Newell DG, Powell L. 2011. Influence of production system on the rate of onset of *Campylobacter* colonization in chicken flocks reared extensively in the United Kingdom. *Br. Poult. Sci.* 52: 30-39.
- Allos BM. 2001. *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clin. Inf. Dis.* 32:1201-1206.
- An JU, Ho H, Kim J, Kim WH, Kim J, Lee S, Mun S, Guk JH, Hong S, Cho S. 2018. Dairy cattle, a potential reservoir of human campylobacteriosis:

- epidemiological and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* from cattle farms. *Front. Microbiol.*, 9: 3136.
- Anderson J, Horn BJ, Gilpin BJ. 2012. The prevalence and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in domestic 'backyard' poultry in Canterbury, New Zealand. *Zoonoses and Public Health* 59: 52-60.
  - Andrzejewska M, Szczepanska B, Klawe JJ, Spica D, Chudzinska M. 2013. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* species in cats and dogs from Bydgoszcz (Poland) region. *Pol. J. Vet. Sci.*, 16(1).
  - Anuario avícola 2022. Ministerio de Economía. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca.  
[https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos/000001\\_Anuario%20Avicola%202022.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos/000001_Anuario%20Avicola%202022.pdf) Último acceso 09-08-2024.
  - Baali M, Lounis M, Al Amir HL, Ayachi A, Hakem A, Kassah-Laouar A. 2020. Prevalence, seasonality, and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* isolated from broiler farms and slaughterhouses in East Algeria. *Veterinary World*, 13(6), 1221.
  - Barata AR, Nunes B, Oliveira R, Guedes H, Almeida C, Saavedra MJ, Almeida G. 2022. Occurrence and seasonality of *Campylobacter* spp. in Portuguese dairy farms. *Int. J. Food Microbiol.* 383, 109961.
  - Bates DM, Bolker B. 2011. Lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-38.
  - Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67:1–48
  - Bartoń, K. MuMln: inferencia multimodelo (2020). Paquete R versión 1.43.17
  - Beldomenico P, Uhart M. 2008. Ecoepidemiología de los virus de influenza aviar. FAVE Sección Ciencias Veterinarias 7: 23-40.
  - Berrang ME, Meinersmann RJ, Cox NA. 2017. Passage of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* subtypes through 0.45-and 0.65-micrometer-pore-size nitrocellulose filters. *J. Food Prot.* 80: 2029–2032.
  - Bianchini V, Borella L, Benedetti V, Parisi A, Miccolupo A, Santoro E, Recordati C, Luini M. 2014. Prevalence in bulk tank milk and epidemiology of *Campylobacter jejuni* in dairy herds in northern Italy. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 1832–1837.
  - Blakey J, Stoute S, Crossley B, Mete A. 2019. Retrospective analysis of infectious laryngotracheitis in backyard chicken flocks in California, 2007-2017,

- and determination of strain origin by partial ICP4 sequencing. *J. Vet. Diagn. Invest.* 31:350-358.
- Blaser MJ, Engberg J. 2008. Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections. In *Campylobacter*, 3rd ed.; Nachamkin I, Blaser JM, Eds.; American Society for Microbiology (ASM) Press: Washington DC, USA, pp. 99–121.
  - Blaser MJ, Smith PF, Wang WL, Hoff JC. 1986. Inactivation of *Campylobacter jejuni* by chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 307-311.
  - Blaser MJ. 1997. Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *J. Infect. Dis.* 176:S103–S105.
  - Bolton FJ, Coates D. 1983. Development of a blood-free *Campylobacter* medium: screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance. *J. Appl. Bacteriol.* 54: 115-125.
  - Broman T, Palmgren H, Bergstrom S, Sellin M, Waldenstrom J, Danielsson-Tham ML, Olsen B. 2002. *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 40: 4594-4602.
  - Broman T, Waldenström J, Dahlgren D, Carlsson I, Eliasson I, Olsen B. 2004. Diversities and similarities in PFGE profiles of *Campylobacter jejuni* isolated from migrating birds and humans. *J. Appl. Microbiol.* 96: 834-843.
  - Bronowski C, James CE, Winstanley C. 2014. Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*. *FEMS Microbiol. Lett.* 356: 8-19.
  - Bull SA, Allen VM, Domingue G, Jorgensen F, Frost JA, Ure R, Whyte R, Tinker D, Corry JEL, Gillard-King J, Humphrey TJ. 2006. Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 645-652.
  - Burnham KP, Anderson DR. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach (2nd edition). Springer, New York.
  - Butzler JP. 2004. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* 10: 868–876.
  - Cardenas-Garcia S, Lopez RN, Morales R, Olvera MA, Marquez MA, Merino R. 2013. Molecular epidemiology of Newcastle disease in Mexico and the potential spillover of viruses from poultry into wild bird species. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:4985-4992.
  - Castignani H. 2011. Zonas Agroeconómicas Homogéneas Santa Fe. Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción y recursos

naturales. Áreas Estratégica de Economía y Sociología (AEES-INTA). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. [https://www.produccion-animal.com.ar/regiones\\_ganaderas/30-SANTA\\_FE.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/regiones_ganaderas/30-SANTA_FE.pdf) Último acceso 09-08-2024.

- Cawthraw S, Ayling R, Nuijten P, Wassenaar T, Newell DG. 1994. Isotype, specificity, and kinetics of systemic and mucosal antibodies to *Campylobacter jejuni* antigens, including flagellin, during experimental oral infections of chickens. Avian Dis. 38: 341-349.
- Cawthraw SA, Lind L, Kaijser B, Newell DG. 2000. Antibodies directed towards *Campylobacter jejuni* antigens, in sera from poultry abattoir workers. Clin. Exp. Immunol. 122: 55–60.
- Cawthraw SA, Newell DG. 2010. Investigation of the presence and protective effects of maternal antibodies against *Campylobacter jejuni* in chickens. Avian Dis. 54: 86-93.
- Censo 2022. Instituto provincial de Estadísticas y Censos (IPEC). [https://censo.gob.ar/index.php/datos\\_definitivos\\_santafe/](https://censo.gob.ar/index.php/datos_definitivos_santafe/) Último acceso 09-08-2024.
- Cerdà-Cuéllar M, Moré E, Ayats T, Aguilera M, Muñoz-González S, Antilles N, Ryan P, González-Solís J. 2019. Do humans spread zoonotic enteric bacteria in Antarctica?. Sci. Total Environ. 654: 190-196.
- Chagneau S, Gaucher ML, Fravalo P, Thériault WP, Thibodeau A. 2023. Intestinal colonization of *Campylobacter jejuni* and its hepatic dissemination are associated with local and systemic immune responses in broiler chickens. Microorganisms. 11: 1677.
- Choo, L. C., Saleha, A. A., Wai, S. S., Fauziah, N. (2011). Isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from houseflies (*Musca domestica*) in a university campus and a poultry farm in Selangor, Malaysia. Trop. Biomed. 28(1), 16-20.
- Chuma T, Hashimoto S, Okamoto K. 2000. Detection of thermophilic *Campylobacter* from sparrows by multiplex PCR: the role of sparrows as a source of contamination of broilers with *Campylobacter*. J. Vet. Med. Sci. 62: 1291-1295.
- Clark AG, Bueschkins DH. 1986. Survival and growth of *Campylobacter jejuni* in egg yolk and albumen. J. Food Prot. 49: 135-141.
- Cody A, McCarthy N, Bray J, Wimalaratna H, Colles F, Rensburg MJ, Dingle K, Waldenström J, Maiden M. 2015. Wild bird-associated *Campylobacter jejuni* isolates are a consistent source of human disease, in Oxfordshire, United Kingdom. Environ. Microbiol. Rep. 7: 782-788.

- Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. 2002. Human Campylobacteriosis in developing countries. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 237-243.
- Colles FM, Dingle KE, Cody AJ, Maiden MCJ. 2008. Comparison of *Campylobacter* populations in wild geese with those in starlings and free-range poultry on the same farm. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 3583-3590.
- Colles FM, McCarthy ND, Bliss CM, Layton R, Maiden MC. 2015. The long-term dynamics of *Campylobacter* colonizing a free-range broiler breeder flock: an observational study. *Environ. Microbiol.* 17(4), 938-946.
- Colles FM, McCarthy ND, Howe JC, Devereux CL, Gosler AG, Maiden MCJ. 2009. Dynamics of *Campylobacter* colonization of a natural host, *Sturnus vulgaris* (European starling). *Environ. Microbiol.* 11: 258-267.
- Cortez MH, and Weitz JS. Distinguishing between indirect and direct modes of transmission using epidemiological time series. *Am. Nat.* 181:43–52. 2013.
- Cox NA, Richardson LJ, Maurer JJ, Berrang ME, Fedorka-Cray PJ, Buhr RJ, Lammerding AM. 2012. Evidence for horizontal and vertical transmission in *Campylobacter* passage from hen to her progeny. *J Food Protect.* 75(10), 1896-1902
- Craven SE, Stern NJ, Line E, Bailey JS, Cox NA, Fedorka-Cray P. 2000. Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in wild birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian Dis.* 44: 715-720.
- Cross PC, Prosser DJ, Ramey AM, Hanks EM, Pepin KM. 2019. Confronting models with data: The challenges of estimating disease spillover. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 374: 20180435.
- da Silva DT, Tejada TS, Blum-Menezes D, Dias PA, Timm CD. 2016. *Campylobacter* species isolated from poultry and humans, and their analysis using PFGE in southern Brazil. *Int. J Food Microbiol.* 217: 189-194.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife—Threats to biodiversity and human health. *Science* 287: 443–449.
- De La Peña MR. 2011. Observaciones de campo en la alimentación de las aves. *Revista de Conservación biológica.* 13: 1-88.
- De la Torre GM, Fecchio A, Bell JA, Campião KM. 2022. Host evolutionary history rather than avian functional traits drives the Plasmodium regional assembly in the Atlantic Forest. *Funct. Ecol.* 36: 1873-1886.

- Debruyne L, Gevers D, Vandamme P. 2005. "Taxonomy of the family *Campylobacteraceae*". (pp 1–25) En: Na-chamkin I, Blaser MJ, Szymanski CM (eds.). *Campylobacter*, 3rd. Ed. ASM, Washington, DC.
- Denis M, Henrique E, Chidaine B, Tircot A, Bougeard S, Fravalo P. 2011. *Campylobacter* from sows in farrow to finish pig farms: risk indicators and genetic diversity. *Vet Microbiol.* 154(1-2), 163-170.
- Department of Agriculture, Fisheries and Forestry (DAFF). National farm biosecurity manual: poultry production. Commonwealth of Australia, Canberra, Australian Capital Territory, Australia. 2009. <http://www.farmbiosecurity.com.au/wp-content/uploads/2013/01/National-Farm-Biosecurity-Manual-Poultry-Production.pdf>
- Dingle KE, Colles FM, Wareing DRA, Ure R, Fox AJ, Bolton FE, Maiden MCJ. 2001. Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 39: 14-23.
- Du J, Luo J, Huang J, Wang C, Li M, Wang B, He H. 2019. Emergence of genetic diversity and multi-drug resistant *Campylobacter jejuni* from wild birds in Beijing, China. *Front. Microbiol.* 10: 2433.
- Eberhart-Phillips J, Walker N, Garrett N, Bell D, Sinclair D, Rainger W, Bates M. 1997. Campylobacteriosis in New Zealand: results of a case-control study. *J. Epidemiol. Health.* 51: 686-691.
- EFSA. 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA J.* 8: 1503-1602.
- EFSA. 2011. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ): Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J.* 9: 2105.
- Elango A, Dhanalakshmi B, Pugazhenthi TR, Jayalalitha V, Rajarajan G, Kumaresan G, Doraisamy KA. 2012. Seasonality of *Campylobacter jejuni* isolated from raw milk. *J. Dairying Foods Home Sci.* 31(1), 20-24.
- Ellis-Iversen J, Jorgensen F, Bull S, Powell L, Cook AJ, Humphrey TJ. 2009. Risk factors for *Campylobacter* colonization during rearing of broiler flocks in Great Britain. *Prev. Vet. Med.* 89(3-4), 178-184.
- Ellis-Iversen J, Ridley A, Morris V, Sowa A, Harris J, Atterbury R, Allen V. 2012. Persistent environmental reservoirs on farms as risk factors for *Campylobacter* in commercial poultry. *Epidemiol. Infect.* 140(5), 916-924.

- El-Tras WF, Holt HR, Tayel AA, El-Kady NN. 2015. *Campylobacter* infections in children exposed to infected backyard poultry in Egypt. *Epidemiol. Infect.* 143: 308-315.
- Engvall EO, Brändström B, Gunnarsson A, Mörner T, Wahlström H, Fermer C. 2002. Validation of a polymerase chain reaction/restriction enzyme analysis method for species identification of thermophilic *Campylobacters* isolated from domestic and wild animals. *J Appl. Microbiol.* 92: 47-54.
- Estrategia provincial para el sector agroalimentario (EFSA) Santa Fe. 2021. Resolución del Ministerio de Producción, Ciencia y Tecnología. [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2022/08/04\\_epsa\\_santa\\_fe.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2022/08/04_epsa_santa_fe.pdf)
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA J.* 16: e05500.
- Evans MR. 1996. A milk-borne *Campylobacter* outbreak following an educational farm visit. *Epidemiol. Infect.* 117: 457-462.
- Evans SJ, Sayers AR. 2000. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. *Prev. Vet. Med.* 46(3), 209-223.
- Facciolà A, Riso R, Avventuroso E, Visalli G, Delia SA, Laganà P. 2017. *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J. Prev. Med. Hyg.* 58: E79-E92.
- FAO. 2004. Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos. Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. Ed. FAO, Roma (Italia) pp. 93.
- Fernandez H, Gesche W, Montefusco A, Schlatter R. 1996. Wild birds as reservoir of thermophilic enteropathogenic *Campylobacter* species in southern Chile. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 91: 699-700.
- Fernandez H. 1988. Species and biotype distribution of thermotolerant *Campylobacter* in animal reservoirs in Southern Chile. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 30: 357-360.
- Fernandez H. 2011. *Campylobacter* y campylobacteriosis: una mirada desde América del Sur. *Rev. perú. med. exp. Salud publica.* 28: 121-127.
- Ferreira-Junior FC, de Angeli Dutra D, Silveira P, Pacheco RC, Witter R, de Souza Ramos DG. 2018. A new pathogen spillover from domestic to wild animals: *Plasmodium juxtanucleare* infects free-living passerines in Brazil. *Parasitology* 145:1949-1958.

- French NP, Midwinter A, Holland B, Collins-Emerson J, Pattison R, Colles F, Carter P. 2009. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolates from wild-bird fecal material in children's playgrounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 779-783.
- Fuentes LS, Bottiglieri M, Amieva C, Barril S. 2010. Determinan la prevalencia y el perfil de resistencia de campilobacteriosis. *Salud (i) ciencia (Impresa)*. 17: 550-553.
- Gabriele-Rivet V, Fairbrother JH, Tremblay D, Harel J, Côté N, Arsenault J. 2016. Prevalence and risk factors for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Coxiella burnetii* and Newcastle disease virus in feral pigeons (*Columba livia*) in public areas of Montreal, Canada. *Can. J. Vet. Res.* 80: 81-85.
- García-Peña FJ, Llorente MT, Serrano T, Ruano MJ, Belluire J, Benzal J. 2017. Isolation of *Campylobacter* spp. from three species of Antarctic penguins in different geographic locations. *EcoHealth* 14: 78–87.
- Gharst G, Oyarzabal OA, Hussain SK. 2013. Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. *J. Microbiol. Methods.* 95: 84-92.
- Ghosh R, Uppal B, Aggarwal P, Chakravarti A, Jha AK, Dubey AP. 2014. A comparative study of conventional and molecular techniques in diagnosis of *Campylobacter* gastroenteritis in children. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 44: 42-48.
- Gibbens JC, Pascoe SJS, Evans SJ, Davies RH, Sayers AR. 2001. A trial of biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. *Prev. Vet. Med.* 48:85–99.
- Gilchrist P. 2005. Involvement of free-flying wild birds in the spread of the viruses of avian influenza, Newcastle disease and infectious bursal disease from poultry products to commercial poultry. *World's Poult. Sci. J.* 61:198–214.
- Giloh M, Shinder D, Yahav S. 2012. Skin surface temperature of broiler chickens is correlated to body core temperature and is indicative of their thermoregulatory status. *Poult. Sci.* 91 (1), 175–188.
- Giugno S, Oderiz S. 2010. Etiología bacteriana de la diarrea aguda en pacientes pediátricos. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 44: 63-69.
- Goering RV. 2010. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infect. Genet. Evol.* 10: 866-875.

- Grados O, Bravo N, Black RE, Butzler JP. 1988. Paediatric Campylobacter diarrhoea from household exposure to live chickens in Lima, Peru. Bull WHO. 66: 369-374.
- Grau FH. 1988. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter hyoilealis* in the intestinal tract and on the carcasses of calves and cattle. J. Food Prot. 51: 857-861.
- Grau FH. 1991. *Campylobacter jejuni/coli*. In Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. Ed. Buckle, K.A. AIFST (NSW Branch) Food Microbiology Group. pp. 136–151.
- Gregory E, Barnhart H, Dreesen DW, Stern N, Corn JL. 1997. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. Avian Dis. 41:890– 898.
- Griekspoor P, Colles FM, McCarthy ND, Hansbro PM, Ashurst-Smith C, Olsen B, Waldenström J. 2013. Marked host specificity and lack of phylogeographic population structure of *Campylobacter jejuni* in wild birds. Mol. Ecol. 22(5), 1463-1472.
- Griekspoor P, Hansbro PM, Waldenström J, Olsen B. 2015. *Campylobacter jejuni* sequence types show remarkable spatial and temporal stability in Blackbirds. Infect. Ecol. Epidemiol. 5: 28383.
- Grimaldi WW, Seddon PJ, Lyver POB, Nakagawa S, Tompkins DM. 2015. Infectious diseases of Antarctic penguins: current status and future threats. Polar Biology. 38(5), 591-606.
- Grond K, Lanctot RB, Jumpponen A, Sandercock BK. 2017. Recruitment and establishment of the gut microbiome in arctic shorebirds. FEMS Microbiol. Ecol. 93(12), 1-9.
- Grond K, Sandercock BK, Jumpponen A, Zeglin LH. 2018. The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. J. Avian Biol. 49(11), e01788.
- Gruntar I, Ocepek M, Avberšek J, Mićunović J, Pate M. 2010. A pulsed-field gel electrophoresis study of the genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in poultry flocks in Slovenia. Acta Vet. Hung. 58(1), 19-28.
- Guévremont E, Lamoureux L, Loubier CB, Villeneuve S, Dubuc J. 2014. Detection and characterization of *Campylobacter* spp. from 40 dairy cattle herds in Quebec, Canada. Foodborne Pathog. Dis. 11(5), 388-394.

- Gylfe Å, Olsen B, Straševičius D, Marti Ras N, Weihe P, Noppa L, Bergström S. 1999. Isolation of Lyme disease Borrelia from puffins (*Fratercula arctica*) and seabird ticks (*Ixodes uriae*) on the Faeroe Islands. *J. Clin. Microbiol.* 37: 890-896.
- Hald B, Skov MN, Nielsen EM, Rahbek C, Madsen JJ, Wainø M, Madsen M. 2015. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in wild birds on Danish livestock farms. *Acta Vet. Scand.* 58: 1-10.
- Hald B, Skovgård H, Pedersen K, Bunkenborg H. 2008. Influxed insects as vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish broiler houses. *Poult. Sci.* 87: 1428-1434.
- Hald B, Sommer HM, Skovgård H. 2007. Use of fly screens to reduce *Campylobacter* spp. introduction in broiler houses. *Emerg. Infect. Dis.* 13(12), 1951.
- Hänninen ML, Niskanen M, Korhonen L. 1998. Water as a reservoir for *Campylobacter jejuni* infection in cows studied by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *J. Vet. Med. Series B*, 45(1-10), 37-42.
- Hansson I, Engvall EO, Vågsholm I, Nyman A. 2010. Risk factors associated with the presence of *Campylobacter*-positive broiler flocks in Sweden. *Prev. Vet. Med.* 96(1-2), 114-121.
- Hansson I, Olsson Engvall E, Ferrari S, Harbom B, Lahti E. 2020. Detection of *Campylobacter* species in different types of samples from dairy farms. *Veterinary Record*, 186(18), 605-605.
- Hansson I, Vågsholm I, Svensson L, Olsson Engvall E. 2007. Correlations between *Campylobacter* spp. prevalence in the environment and broiler flocks. *J. Appl. Microbiol.* 103(3), 640-649.
- Harvey RB, Droleskey RE, Sheffield CL, Edrington TS, Callaway TR, Anderson RC, Nisbet DJ. 2004. *Campylobacter* prevalence in lactating dairy cows in the United States. *J. Food. Prot.* 67(7), 1476-1479.
- Hazeleger WC, Bolder NM, Beumer RR, Jacobs-Reitsma WF. 2008. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar *paratyphi* B variant Java between successive broiler flocks. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 6887-6891.
- He Y, Reed S, Bhunia AK, Gehring A, Nguyen LH, Irwin PL. 2015. Rapid identification and classification of *Campylobacter* spp. using laser optical scattering technology. *Food Microbiol.* 47: 28-35.

- Heinemann C, Leubner CD, Hayer JJ, Steinhoff-Wagner J. 2021. Hygiene management in newborn individually housed dairy calves focusing on housing and feeding practices. *J. Anim. Sci.* 99(1), skaa391.
- Heisick J, Lanier J, Peeler J. 1984. Comparison of enrichment methods and atmosphere modification procedures for isolating *Campylobacter jejuni* from foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 1254-1255.
- Hellein KN, Battie C, Tauchman E, Lund D, Oyarzabal OA, Lepo JE. 2011. Culture-based indicators of fecal contamination and molecular microbial indicators rarely correlate with *Campylobacter* spp. in recreational waters. *J. Water Health.* 9: 695-707.
- Hepworth PJ, Ashelford KE, Hinds J, Gould KA, Witney AA, Williams NJ, Winstanley C. 2011. Genomic variations define divergence of water/wildlife-associated *Campylobacter jejuni* niche specialists from common clonal complexes. *Environ. Microbiol.* 13: 1549-1560.
- Herman L, Heyndrickx M, Grijseels K, Vandekerchove D, Rollier I. 2003. Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: Epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.* 131: 1169-1180.
- Hermans D, Pasmans F, Messens W, Martel A, Van IF, Haesebrouck F, Rasschaert G, Heyndrickx M, Pasmans F. 2012. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Vector Borne Zoonotc. Dis.* 12: 89-98.
- Hiett KL, Stern NJ, Fedorka-Cray P, Cox NA, Musgrove MT, Ladely S., 2002. Molecular subtype analyses of *Campylobacter* spp. from Arkansas and California poultry operations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 6220–6236.
- Hird SM, Carstens BC, Cardiff SW, Dittmann DL, Brumfield RT. 2014. Sampling locality is more detectable than taxonomy or ecology in the gut microbiota of the brood-parasitic Brown-headed Cowbird (*Molothrus ater*). *PeerJ*, 2, e321.
- Hird SM, Sánchez C, Carstens BC, Brumfield RT. 2015. Microbiota intestinal comparativa de 59 especies de aves neotropicales. *Front. Microbiol.* 6: 1403.
- Hubálek Z. 2004. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *J. Wildl. Dis.* 40: 639-659.
- Huerta VG, González PA, Contreras Funes VP, Barcudi D, Dichiara DM, Cortes PR. 2013. Etiología de la diarrea bacteriana aguda en pacientes pediátricos de la ciudad de Córdoba. *Boletín Colegio de Bioquímicos de Córdoba*.
- Hughes L, Bennett M, Coffey P, Elliott J, Trevor R, Richard CJ, Lahuerta-Marin A, Leatherbarrow AH, McNiffe K, Norman D, Williams NJ, Chantrey J. 2009. Molecular epidemiology and characterization of *Campylobacter* spp. isolated

- from wild bird populations in Northern England. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 3007-3015.
- Iannetti S, Calistri P, Di Serafino G, Marotta F, Alessiani A, Antoci S, Di Giannatale E. 2020. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: Prevalence, contamination levels, genetic diversity and antibiotic resistance in Italy. *Vet. Ital.* 56: 23-34.
  - INTA CR Santa Fe. 2009. Plan de Tecnología Regional (2009-2011). INTA Documento Institucional.
  - Italian Republic. Permanent Council State-Regions and Autonomous Provinces. AccordoStato - Regioni e Province Autonome 25-1-2007. Official Gazette No. 36 of 13rd of February 2007. Rome: 2007.
  - Jacobs-Reitsma WF, Kan CA, Bolder NM. 1994. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. *Lett. Appl. Microbiol.* 19: 228-231.
  - Jacobs-Reitsma WF, van der Giessen AW, Bolder NM, Mulder RW. 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. *Epidemiol. Infect.* 114: 413-421.
  - Javid MH. 2011. *Campylobacter* infections. En: Medscape Reference Drugs & Diseases and Procedures. p 1-7. Ed: Emedicine Medscape, New York, NY, USA.
  - Jennings JL, Sait LC, Perrett CA, Foster C, Williams LK, Humphrey TJ, Cogan TA. 2011. *Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibrionic hepatitis in chickens. *Vet. Microbiol.* 149: 193-199.
  - Johansson H, Ellstrom P, Artursson K, Berg C, Bonnedahl J, Hansson I. 2018. Characterization of *Campylobacter* spp. isolated from wild birds in the Antarctic and Sub-Antarctic. *PLoS ONE* 13: e0206502.
  - Jokinen CC, Koot JM, Carrillo CD, Gannon VP, Jardine CM, Mutschall SK, Taboada EN. 2012. An enhanced technique combining pre-enrichment and passive filtration increases the isolation efficiency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from water and animal fecal samples. *J. Microbiol. Meth.* 91: 506-513.
  - Jones K. 2005. Flying hazards: birds and the spread of disease. *Microbiol. Today* 32: 174-178.
  - Jonsson ME, Chriél M, Norström M, Hofshagen M. 2012. Effect of climate and farm environment on *Campylobacter* spp. colonisation in Norwegian broiler flocks. *Prev. Vet. Med.* 107: 95-104.

- Jonsson ME, Norström M, Sandberg M, Ersbøll AK, Hofshagen M. 2010. Space-time patterns of *Campylobacter* spp. colonization in broiler flocks, 2002–2006. *Epidemiol & Infect.* 138: 1336-1345.
- Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. 2015. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28: 687-720.
- Kaino K, Hayashidani H, Kaneko K, Ogawa M. 1988. Intestinal colonization of *Campylobacter jejuni* in chickens. *Jpn. J. Vet. Med.* 50: 489-494.
- Kalupahana RS, Mughini-Gras L, Kottawatta SA, Somaratne S, Gamage C, Wagenaar JA. 2018. Weather correlates of *Campylobacter* prevalence in broilers at slaughter under tropical conditions in Sri Lanka. *Epidemiol. Infect.* 146: 972-979.
- Kassem II, Helmy YA, Kathayat D, Candelero-Rueda RA, Kumar A, Deblais L, Rajashekara G. 2017. Nonculturability might underestimate the occurrence of *Campylobacter* in broiler litter. *Foodborne Pathog. Dis.* 14: 472-477.
- Kassem II, Sanad Y, Gangaiah D, Lilburn M, Lejeune J, Rajashekara G. 2010. Use of bioluminescence imaging to monitor *Campylobacter* survival in chicken litter. *J. Appl. Microbiol.* 109: 1988-1997.
- Kazemeini H, Valizadeh Y, Parsaei P, Nozarpour N, Rahimi E. 2011. Prevalence of *Campylobacter Species* in Raw Bovine Milk in Isfahan, Iran. *Middle East J. Sci. Res.* 10: 664–666.
- Kerry KR, Riddle MJ. 2009. Health of Antarctic wildlife: an introduction. En: *Health of Antarctic Wildlife: A Challenge for Science and Policy*. Ed. Springer, Berlin, Heidelberg. p. 1-10.
- Ketley JM. 1997. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiol.* 143:5-21.
- Khan JA, Rathore RS, Abulreesh HH, Qais FA, Ahmad I. 2018. Cultural and Immunological methods for the Detection of *Campylobacter jejuni*: A Review. *Indian J. Biotech. Pharm. Res.* 6: 4– 10.
- Khanna MR, Bhavsar SP, Kapadnis BP. 2006. Effect of temperature on growth and chemotactic behaviour of *Campylobacter jejuni*. *Lett. Appl. Microbiol.* 43: 84-90.
- Klein D, Alispahic M, Sofka D, Iwersen M, Drillich M, Hilbert F. 2013. Prevalence and risk factors for shedding of thermophilic *Campylobacter* in calves with and without diarrhea in Austrian dairy herds. *J. Dairy Sci.* 96: 1203-1210.

- Klein D, Alispahic M, Sofka D, Iwersen M, Drillich M, Hilbert F. 2013. Prevalence and risk factors for shedding of thermophilic *Campylobacter* in calves with and without diarrhea in Austrian dairy herds. J. Dairy Sci. 96: 1203-1210.
- Knipper AD, Göhlich S, Stingl K, Ghoreishi N, Fischer-Tenhagen C, Bandick N, Crease T. 2023. Longitudinal study for the detection and quantification of *Campylobacter* spp. in dairy cows during milking and in the dairy farm environment. Foods. 12: 1639.
- Krueger NA, Anderson RC, Krueger WK, Horne WJ, Wesley IV, Callaway TR, Nisbet DJ. 2008. Prevalence and concentration of *Campylobacter* in rumen contents and feces in pasture and feedlot-fed cattle. Foodborne Pathog. Dis. 5: 571-577.
- Kwan PS, Barrigas M, Bolton FJ, French NP, Gowland P, Kemp R, Fox AJ. 2008. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* populations in dairy cattle, wildlife, and the environment in a farmland area. Appl. Environ. Microbiol. 74: 5130-5138.
- Lácteos. 2022. INFORMES DE CADENAS DE VALOR AÑO 7 - N° 65. Ministerio de Economía de la Argentina. Disponible: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ficha\\_lacteos\\_-\\_2022\\_-\\_web.pptx.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ficha_lacteos_-_2022_-_web.pptx.pdf)
- Lejeune JT, Rajala-Schultz PJ. 2009. Food safety: unpasteurized milk: a continued public health threat. Clin. Infect. Dis. 48: 93-100.
- Leotta G, Vigo G, Giacoboni G. 2006. Isolation of *Campylobacter lari* from seabirds in Hope Bay, Antarctica. Pol. Polar Res. 27: 303-308.
- Levesque S, Fournier E, Carrier N, Frost E, Arbeit RD, Michaud S. 2013. Campylobacteriosis in urban versus rural areas: a case-case study integrated with molecular typing to validate risk factors and to attribute sources of infection. PLoS ONE. 8: e83731.
- Levin RE. 2007. *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. Food Biotechnol. 21: 271-347.
- Ley R, E. Hamady, M. Lozupone, C. Turnbaugh, P. J. Ramey, R. Bircher, J. S. Schlegel, M. L. Tucker, T. A. Schrenzel, M. D. Knight, R. Gordon, J. I. 2008. Evolución de los mamíferos y sus microbios intestinales. Science. 320: 1647 – 1651.

- Linton D, Lawson AJ, Owen RJ, Stanley JP. 1997. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J. Clin. Microbiol.* 35: 2568-2572.
- López C, Agostini A, Giacoboni G, Cornero F, Tellechea D, Trinidad JJ. 2003. Campilobacteriosis en una comunidad de bajos recursos de Buenos Aires, Argentina. *Revue scientifique et technique-Office international des epizooties.* 22: 1013-1020.
- MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca). 2021. Boletín Avícola-Anuario 2021.  
[https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//00001\\_Anuario%20Avicola%20202021.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//00001_Anuario%20Avicola%20202021.pdf)
- Manning G, Duim B, Wassenaar T, Wagenaar JA, Ridley A, Newell DG. 2001. Evidence for a genetically stable strain of *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1185– 1189.
- Maunsell F, Donovan GA. 2008. Biosecurity and Risk Management for Dairy Replacements. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24:155-190.
- Mdegela RH, Nonga HE, Ngowi HA, Kazwala RR. 2006. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* infections in humans, chickens and crows in Morogoro, Tanzania. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 53: 116-121.
- Meade KG, Narciandi F, Cahalane S, Reiman C, Allan B, O'Farrelly C. 2009. Comparative in vivo infection models yield insights on early host immune response to *Campylobacter* in chickens. *Immunogenetics* 61: 101-110.
- Meanger JD, Marshall RB. 1988. Seasonal prevalence of thermophilic *Campylobacter* infections in dairy cattle and a study of infection of sheep. *N. Z. Vet. J.* 37: 18–20.
- Meerburg BG, Schoelitz B. 2018. Biosecurity: methods to reduce contact risks between vectors and livestock. Ed. Wageningen Academic Publishers. En: *Pests and vector-borne diseases in the livestock industry*. Pp. 263-267.
- Merialdi G, Giacometti F, Bardasi L, Stancampiano L, Taddei R, Serratore P, Serraino A. 2015. Fecal shedding of thermophilic *Campylobacter* in a dairy herd producing raw milk for direct human consumption. *J. Food Protect.* 78: 579-584.
- Meroz M, Samberg Y. 1995. Disinfecting poultry production premises. *Revue Scientifique et Technique (OIE)* 14: 273-291.
- Messens W, Herman L, De Zutter L, Heyndrickx M. 2009. Multiple typing for the epidemiological study of contamination of broilers with thermotolerant *Campylobacter*. *Vet. Microbiol.* 138: 120-131.

- Ministerio de salud. 2011. Presidencia de la Nación Argentina. Boletín Integrado de Vigilancia Nro 205. <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000314cnt-s04-diarrea-aguda.pdf>
- Modi S, Brahmbhatt MN, Chatur YA, Nayak JB. 2015. Prevalence of *Campylobacter* species in milk and milk products, their virulence gene profile and anti-bio gram. Vet. World. 8: 1.
- Mohamed YI. 2014. Occurrence of *Campylobacter* in wild bird and chickens and ducks in selected Malaysian farms. Masters thesis, Universiti Putra Malaysia.
- Mohan V, Stevenson M, Marshall J, Fearnhead P, Holland BR, Grant H, French NP. 2013. *Campylobacter jejuni* colonization and population structure in urban populations of ducks and starlings in New Zealand. Microbiol. Open. 2: 659–673.
- Mohan V. 2015. Faeco-prevalence of *Campylobacter jejuni* in urban wild birds and pets in New Zealand. BMC Res. Notes 8:1.
- Moore JE. 2001. Bacterial dormancy in *Campylobacter*: abstract theory or cause for concern? Int. J. Food Sci. Tech. 36:593-600.
- Nadeau É, Messier S, Quessy S. 2002. Prevalence and comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry and sporadic cases of campylobacteriosis in humans. J. Food Prot. 65: 73-78.
- Nesbit EG, Gibbs P, Dreesen DW, Lee MD. 2001. Epidemiologic features of *Campylobacter jejuni* isolated from poultry broiler houses and surrounding environments as determined by use of molecular strain typing. Am. J. Vet. Res. 62: 190-194.
- Newell DG, Elvers KT, Dopfer D, Hansson I, Jones P, James S, Pearson D. 2011. Biosecurity-based interventions and strategies to reduce *Campylobacter* spp. on poultry farms. Appl. Environ. Microbiol. 77: 8605-8614.
- Newell DG, Wagenaar JA. 2000. Poultry infections and their control at the farm level. En: Nachamkin I, Blaser MJ. *Campylobacter* 2nd. p 497-510. Ed. Washington, D.C. USA.
- Newton I. 1998. Population limitation in birds. Ed. Elsevier. Academia Press, London. p 597.
- Newton I. 2003. The speciation and biogeography of birds. Ed. Elsevier Science. Academic Press. London. p 667.
- Nielsen EM. 2002. Occurrence and strain diversity of thermophilic campylobacters in cattle of different age groups in dairy herds. Lett. Appl. Microbiol. 35: 85-89.

- Notario R, Borda N, Gambahé T, Sutich E. Species and serovars of enteropathogenic agents associated with acute diarrheal disease in Rosario, Argentina. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1996; 8: 5-7.
- Nylen G, Dunstan F, Palmer SR, Andersson Y, Bager F, Cowden J, Ruutu P. 2002. The seasonal distribution of *Campylobacter* infection in nine European countries and New Zealand. Epidemiol. Infect. 128: 383-390.
- O'Leary MC, Harding O, Fisher L, Cowden J. 2009. A continuous common-source outbreak of campylobacteriosis associated with changes to the preparation of chicken liver pâté. Epidemiol. Infect. 137: 383-388.
- Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Cordova J, Taylor DN, Zimic M. 2003. *Campylobacter* transmission in a Peruvian Shantytown: A longitudinal study using strain typing of *Campylobacter* isolates from chickens and humans in Household Clusters. J Infect Dis: 187: 260-269.
- Oluwayelu DO, Todd D, Olaleye DO. 2008. Sequence and phylogenetic analysis of chicken anaemia virus obtained from backyard and commercial chickens in Nigeria: research communication. Onderstepoort. J. Vet. Res. 75:353-357.
- Padungtod P, Kaneene JB. 2005. *Campylobacter* in food animals and humans in northern Thailand. J. Food Prot. 68: 2519-2526.
- Paterson S, Lello J. 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. Trends Parasitol. 19:370-375.
- Pattison M. 2001. Practical intervention strategies for *Campylobacter*. J. Appl. Microbiol. 90:121–125.
- Patton CM, Wachsmuth IK, Evins GM, Kiehlbauch JA, Plikaytis BD, Troup N, Lior H. 1991. Evaluation of 10 methods to distinguish epidemic-associated *Campylobacter* strains. J. Clin. Microbiol. 29: 680-688.
- Peebles ED, Oliveira TFB, Kim EJ, Olojede OC, Elliott KEC, Lindsey LL. 2021. Research Note: effects of the in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper and posthatch holding time before placement on broiler body temperature during grow out. Poult. Sci. 100: 755–759.
- Petersen L, Nielsen EM, Engberg J, On SLW, Dietz HH. 2001. Comparison of genotypes and serotypes of *Campylobacter jejuni* isolated from Danish wild mammals and birds and from broiler flocks and humans. Appl. Environ. Microbiol. 67: 3115–3121.
- Phiri BJ, French NP, Biggs PJ, Stevenson MA, Reynolds AD, Garcia JC, Hayman, DTS. 2021. Microbial contamination in drinking water at public outdoor recreation facilities in New Zealand. J. Appl. Microbiol. 130: 302-312.

- Pitkänen T. 2013. Review of *Campylobacter* spp. in drinking and environmental waters. *J. Microbiol.* 95: 39-47.
- Pohjola L, Nykäsenoja S, Kivistö R, Soveri T, Huovilainen A, Hänninen ML, Fredriksson-Ahomaa M. 2016. Zoonotic public health hazards in backyard chickens. *Zoonoses Public Health.* 63: 420-430.
- Pokamunski S, Kass N, Borochovich E, Marantz B, Rogol M. 1986. Incidence of *Campylobacter* spp. in broiler flocks monitored from hatching to slaughter. *Avian Pathol.* 15: 83-92.
- Rahimi E, Alipoor-Amroabadi M, Khamesipour F. 2017. Investigation of prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in livestock feces. *Canadian J. Anim. Sci.* 97: 207-213.
- Ramonaitė S, Rokaitytė A, Tamulevičienė E, Malakauskas A, Alter T, Malakauskas M. 2013. Prevalence, quantitative load and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in dairy cattle herds in Lithuania. *Acta Vet. Scand.* 55: 1-6.
- Ramos R, Cerdà-Cuéllar M, Ramírez F, Jover L, Ruiz X. 2010. Influence of refuse sites on the prevalence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in seagulls. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 3052-3056.
- Rao MR, Naficy AB, Savarino SJ, Abu-Elyazeed R, Wierzba TF, Peruski LF, Abdel-Messih I, Frenck R, Clemens JD. 2001. Pathogenicity and convalescent excretion of *Campylobacter* in rural Egyptian children. *Am J Epidemiol* 154:166–173.
- Rapp D, Ross C, Hea SY, Brightwell G. 2020. Importance of the farm environment and wildlife for transmission of *Campylobacter jejuni* in a pasture-based dairy herd. *Microorganisms.* 8: 1877.
- Rapp D, Ross CM, Cave V, Muirhead RW. 2014. Prevalence, concentration and genotypes of *Campylobacter jejuni* in feces from dairy herds managed in farm systems with or without housing. *J. Appl. Microbiol.* 116: 1035–1043.
- Rapp D, Ross CM, Pleydell EJ, Muirhead RW. 2012. Differences in the fecal concentrations and genetic diversities of *Campylobacter jejuni* populations among individual cows in two dairy herds. *Appl Environ Microbiol.* 78:7564-7571.
- Rees JH, Soundain SE, Gregson NA, Hughes RAC. 1995. *Campylobacter jejuni* Infection and Guillain-Barré Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 333:1374-1379.
- Refregier-Petton J, Rose N, Denis M, Salvat G. 2001. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev. Vet. Med.* 50:89–100.

- Reichelt B, Szott V, Stingl K, Roesler U, Friese A. 2023. Detection of viable but non-culturable (VBNC)-*Campylobacter* in the environment of broiler farms: innovative insights delivered by propidium monoazide (PMA)-v-qPCR analysis. *Microorganisms* 11: 2492.
- Ribot EM, Fitzgerald C, Kubota K, Swaminathan B, Barrett TJ. 2001. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 39: 1889-1894.
- Ridley A, Morris V, Gittins J, Cawthraw S, Harris J, Edge S, Allen V. 2011. Potential sources of *Campylobacter* infection on chicken farms: contamination and control of broiler-harvesting equipment, vehicles and personnel. *J. Appl. Microbiol.* 111: 233-244.
- Ridley AM, Morris VK, Cawthraw SA, Ellis-Iversen J, Harris JA, Kennedy EM, Allen VM. 2011. Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic *Campylobacter* on one conventional broiler chicken farm. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 98-107.
- Ridley AM, Toszeghy MJ, Cawthraw SA, Wassenaar TM, Newell DG. 2008. Genetic instability is associated with changes in the colonization potential of *Campylobacter jejuni* in the avian intestine. *J. Appl. Microbiol.* 105: 95-104.
- Rivoal K, Ragimbeau C, Salvat G, Colin P, Ermel G. 2005. Genomic diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates recovered from free-range broiler farms and comparison with isolates of various origins. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 6216-6227.
- Rossler E, Olivero C, Soto LP, Frizzo LS, Zimmermann J, Rosmini MR, Zbrun MV. 2020. Prevalence, genotypic diversity and detection of virulence genes in thermotolerant *Campylobacter* at different stages of the poultry meat supply chain. *Int. J. Food Microbiol.* 326: 108641.
- Rossler E. 2022. Evaluación de la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en granjas de engorde de pollos parrilleros y plantas faenadoras como base para sustentar científicamente medidas de gestión del riesgo en salud pública. Tesis Doctoral.
- Royden A, Wedley A, Merga JY, Rushton S, Hald B, Humphrey T, Williams NJ. 2016. A role for flies (Diptera) in the transmission of *Campylobacter* to broilers? *Epidemiol. Infect.* 144: 3326-3334.
- Sahin O, Kassem II, Shen Z, Lin J, Rajashekara G, Zhang Q. 2015. *Campylobacter* in poultry: ecology and potential interventions. *Avian Dis.* 59: 185–200.

- Salim SM, Mandal J, Parija SC. 2014. Isolation of *Campylobacter* from human stool samples. Indian J. Med. Microbiol. 32: 35-38.
- Sanad YM, Closs Jr G, Kumar A, LeJeune JT, Rajashekara G. 2013. Molecular epidemiology and public health relevance of *Campylobacter* isolated from dairy cattle and European starlings in Ohio, USA. Foodborne pathog. Dis. 10: 229-236.
- Sánchez-Cano A, Camacho MC, Ramiro Y, Cardona-Cabrera T, Höfle U. 2024. Seasonal changes in bird communities on poultry farms and house sparrow—wild bird contacts revealed by camera trapping. Front. Vet. Sci. 11: 1369779.
- Schets FM, Jacobs-Reitsma WF, van der Plaats RQ, Heer LKD, van Hoek AH, Hamidjaja RA, Blaak H. 2017. Prevalence and types of *Campylobacter* on poultry farms and in their direct environment. J. Water Health 15: 849-862.
- Scott AB, Phalen D, Hernandez-Jover M, Singh M, Groves P, Toribio JAL. 2018. Wildlife presence and interactions with chickens on Australian commercial chicken farms assessed by camera traps. Avian Dis. 62: 65-72.
- Sensale M, Cuomo A, Dipineto L, Santaniello A, Calabria M, Menna L F, Fioretti A. 2006. Survey of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in different taxa and ecological guilds of migratory birds. Ital. J. Anim. Sci. 5: 291-294.
- Shane SM, Montrose MS, Harrington KS. 1985. Transmission of *Campylobacter jejuni* by the housefly (*Musca domestica*). Avian Dis. 384-391.
- Shaughnessy RG, Meade KG, Cahalane S, Allan B, Reiman C, Callanan JJ, O'Farrelly C. 2009. Innate immune gene expression differentiates the early avian intestinal response between *Salmonella* and *Campylobacter*. Vet. Immunol. Immunopathol. 132: 191-198.
- Sheppard SK, Colles F, Richardson J, Cody AJ, Elson R, Lawson A. 2010. Host association of *Campylobacter* genotypes transcends geographic variation. Appl. Environ. Microbiol. 76: 5269-5277.
- Shimaa TO, El-Fadaly HA, Barakat AMA. 2015. Public health hazard of zoonotic *Campylobacter jejuni* reference to Egyptian regional and seasonal variations. Res. J. Microbiol., 10: 343-354.
- Shreeve JE, Toszeghy M, Ridley A, Newell DG. 2002. The carry-over of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks. Avian Dis. 46: 378–385.
- Sibanda N, McKenna A, Richmond A, Ricke SC, Callaway T, Stratikos AC, Corcionivoschi N. 2018. A review of the effect of management practices on *Campylobacter* prevalence in poultry farms. Front. Microbiol. 9: 2002.

- Sibley CG, Monroe BL. 1990. Distribution and taxonomy of birds of the world. Yale University Press, New Haven, Conn.
- Signorini ML, Rossler E, Diaz DC, Olivero CR, Romero-Scharpen A, Soto LP, Astesana, DM, Berisvil AP, Zimmermann JA, Fusari ML, Frizzo LS, Zbrun MV. 2018. Antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* species isolated from humans, food-producing animals, and products of animal origin: a worldwide meta-analysis. *Microb. Drug Resist.* 24: 1174-1190.
- Signorini ML, Zbrun MV, Romero-Scharpen A, Olivero C, Bongiovanni F, Soto LP, Rosmini MR. 2013. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis by consumption of salad cross-contaminated with thermophilic *Campylobacter* spp. from broiler meat in Argentina. *Prev. Vet. Med.* 109: 37-46.
- Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. 2011. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front. Microbiol.* 2: 200.
- Sippy R, Sandoval-Green CM, Sahin O, Plummer P, Fairbanks WS, Zhang Q, Blanchong JA. 2012. Occurrence and molecular analysis of *Campylobacter* in wildlife on livestock farms. *Vet. Microbiol.* 157: 369-375.
- Skånseng B, Trosvik P, Zimonja M, Johnsen G, Bjerrum L, Pedersen K, Rudi K. 2007. Co-infection dynamics of a major food-borne zoonotic pathogen in chicken. *PLoS Pathogens*, 3: e175.
- Skov MN, Spencer AG, Hald B, Petersen L, Nauerby B, Carstensen B, Madsen M. 2004. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Dis.* 48: 9-18.
- Skrzypek RYSZARD, Wójtowski JACEK, Fahr RD. 2003. Hygienic quality of cow bulk tank milk depending on the method of udder preparation for milking. *Arch. Animal Breeding*. 46: 405-411.
- Smith OM, Olimpi EM, Navarro-Gonzalez N, Cornell KA, Frishkoff LO, Northfield TD, Bowles TM, Edworthy M, Eilers J, Fu Z, Garcia K, Gonthier DJ, Jones MS, Kennedy CM, Latimer CE, Owen JP, Sato C, Taylor JM, Wilson-Rankin EE, Snyder WE, Karp DS. 2022. A trait-based framework for predicting foodborne pathogen risk from wild birds. *Ecol. Appl.* 32: e2523.
- Smith S, Meade J, Gibbons J, McGill K, Bolton D, Whyte P. 2016. The impact of environmental conditions on *Campylobacter jejuni* survival in broiler faeces and litter. *Infect Ecol Epidemiol.* 6: 31685.

- Snelling WJ, McKenna JP, Lecky DM, Dooley JSG. 2005. Survival of *Campylobacter jejuni* in waterborne protozoa. Appl. Environ. Microbiol. 71: 5560-5571.
- Soler-Tovar D, Romero-Prada JR, Villamil-Jiménez LC, Gómez-Ramírez AP, Jaimes-Olaya JA. 2010. Interfaces humano-animal-ecosistema: aproximación conceptual.
- Sommer HM, BorckHøg B, Larsen LS, Sørensen AIV, Williams N, Merga JY, Cerdà-Cuéllar M, Urdaneta S, Dolz R, Wieczorek K, Oseke J, David B, Hofshagen M, Jonsson M, Wagenaar JA, Bolder N, Rosenquist H. 2016. Analysis of farm specific risk factors for *Campylobacter* colonization of broilers in six European countries. Microb. Risk Anal., 2-3: 16-26.
- Soos C, Padilla L, Iglesias A, Gottdenker N, Bédon MC, Rios A, Parker PG. 2008. Comparison of pathogens in broiler and backyard chickens on the Galapagos Islands: implications for transmission to wildlife. The Auk. 125: 445-455.
- Stanley K, Jones K. 2003. Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. J. Appl. Microbiol. 94: 104-113.
- Stanley KN, Wallace JS, Currie JE, Diggle PJ, Jones K. 1998. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. J. Appl. Microbiol. 85: 472-480.
- Stanley KN, Wallace JS, Currie JE, Diggle PJ, Jones K. 1998. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. J. Appl. Microbiol. 85: 472-480.
- Stern NJ, Fedorka-Cray P, Bailey JS, Cox NA, Craven SE, Hiett KL, Mead GC. 2001. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected US poultry production and processing operations. J. Food Protection 64: 1705-1710.
- Taff CC, Weis AM, Wheeler S, Hinton MG, Weimer BC, Barker CM, Jones M, Logsdon R, Smith WA, Boyce WM, Townsend AK. 2016. Influence of host ecology and behavior on *Campylobacter jejuni* prevalence and environmental contamination risk in a synanthropic wild bird species. Appl. Environ. Microbiol. 82:4811- 4820.
- Taylor PR, Weinstein WM, Bryner JH. 1979. *Campylobacter fetus* infection in human subjects: Association with raw milk. Am J Med. 66: 779-783.
- Templeton JM, De Jong AJ, Blackall PJ, Miflin JK. 2006. Survival of *Campylobacter* spp. in darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae in Australia. Appl. Environ. Microbiol. 72: 7909-7911.

- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.
- Terzolo HR, Lawson GHK, Angus KW, Snodgrass DR. 1987. Enteric *Campylobacter* infection in gnotobiotic calves and lambs. *Res. Vet. Sci.* 43: 72-77.
- Thakur S, Brake J, Keelara S, Zou M, Susick E. 2013. Farm and environmental distribution of *Campylobacter* and *Salmonella* in broiler flocks. *Res. Vet. Sci.* 94: 33-42.
- Torralbo A, Borge C, Allepuz A, García-Bocanegra I, Sheppard SK, Perea A, Carbonero A. 2014. Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. *Prev. Vet. Med.* 114: 106-113.
- Tresierra-Ayala A, Bendayan ME, Bernuy A, Espinoza F, Fernandez H. 1995. Carriage of the classical thermotolerant *Campylobacter* in healthy domestic animals from Eastern Peru. *Rev. Inst. Med. Trop.* 37: 537-539.
- Tresierra-Ayala Á, Espinoza-Campos F, Bendayán Acosta ME, Donayre M, Fernández, H. 2006. La fauna silvestre de la Amazonía peruana, un potencial reservorio de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* y *Campylobacter coli*. *Folia Amazónica* 15: 117-122.
- Urdaneta S, Lorca-Oró C, Dolz R, Lopez-Soria S, Cerdà-Cuéllar M. 2023. In a warm climate, ventilation, indoor temperature and outdoor relative humidity have significant effects on *Campylobacter* spp. colonization in chicken broiler farms which can occur in only 2 days. *Food Microbiol.* 109: 104118.
- Van Deun K, Pasmans F, Ducatelle R, Flahou B, Vissenberg K, Martel A, Van den Broeck W, Van Immerseel F, Hae-sebrouck F. 2008. Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut. *Vet. Microbiol.* 130: 285-297.
- Vandamme P, Dewhurst FE, Paster BJ, On SL. 2015. *Campylobacteraceae*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-3.
- Vandamme P, Dewhurst FE, Paster BJ, On SLW. 2005. *Arcobacter* (2nd Edition), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. p 1161-1163. Ed. Springer Science, New York.
- Vandamme P, Dewhurst FE, Paster BJ, Slw O. 2015. *Campylobacter*. En: Trujillo ME, Dedysh S, DeVos P, Hedlund B, Kämpfer P, Rainey FA and Whitman WB:

- Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Ed. Springer, New York. p 1–27.
- Vandamme P, van Doorn LJ, Rashid STA, Quint WGV, Plas JVD, Chan VL, On SLW. 1997. *Campylobacter hyoilei* Alderton et al. 1995 and *Campylobacter coli* Veron and Chatelain 1973 are subjective synonyms. Int. J. Sys. Bacteriol. 47: 1055-1060.
  - Vandamme P. 2000. "Taxonomy of the family Campylobacteraceae". En: Namchamkin I, Blaser MJ. *Campylobacter*. p. 3–27. Ed. Washington, DC.
  - Vandeplas S, Dubois Dauphin R, Palm R, Beckers Y, Thonart P, Théwis A. 2010. Prevalence and sources of *Campylobacter* spp. contamination in free-range broiler production in the southern part of Belgium. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 14: 279-288.
  - Vereen JE, Lowrance RR, Jenkins MB, Adams P, Rajeev S, Lipp EK. 2013. Landscape and seasonal factors influence *Salmonella* and *Campylobacter* prevalence in a rural mixed use watershed. Water research. 47: 6075-6085.
  - Waite DW, Taylor MW. 2014. Caracterización de la microbiota intestinal aviar: composición, influencias impulsoras y función potencial. Front. Microbiol. 5: 10.3389.
  - Waldenstrom J, Broman T, Carlsson I, Hasselquist D, Achterberg RP, Wagenaar JA, Olsen, B. 2002. Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter coli* in different ecological guilds and taxa of mi-grating birds. Appl. Environ. Microbiol. 68: 5911-5917.
  - Waldenström J, Griekspoor P. 2014. Ecology and host association in *Campylobacter* in wild birds. En: Sheppard SK: *Campylobacter* Ecology and Evolution. p 265-284. Ed. Caister Academic Press, Norfolk.
  - Wang MS, Thakur M, Peng MS, Jiang Y, Frantz LA, Li M, Zhang YP. 2020. 863 genomes reveal the origin and domestication of chicken. Cell Research. 30: 693-701.
  - Wassenaar TM, Wagenaar JA, Rigter A, Fearnley C, Newell DG, Duim B. 2002. Homonucleotide stretches in chro-mosomal DNA of *Campylobacter jejuni* display high frequency polymorphism as detected by direct PCR analysis. FEMS Microbial. Lett. 212: 77-85.
  - WHO (World Health Organization). 2020. *Campylobacter*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>

- Wieczorek K, Denis E, Osek J. 2015. Comparative analysis of antimicrobial resistance and genetic diversity of *Campylobacter* from broilers slaughtered in Poland. *Int. J. Food Microbiol.* 210: 24-32.
- Williams LK, Fonseca BB, Humphrey TJ. 2016. *Campylobacter jejuni* in poultry: a commensal or a pathogen? En: Fonseca B, Fernandez H, Rossi D. *Campylobacter* spp. and Related Organisms in Poultry: Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology. p. 75-87. Ed. Springer. Switzerland.
- Wysok B, Wiszniewska A, Uradziński J, Szteyn J. 2011. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* in raw milk in the selected areas of Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 14: 473–477.
- Young KT, Davis LM, DiRita VJ. 2007. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 665-679.
- Zamudio ML, Meza A, Bailón H, Martinez-Urtaza J, Campos J. 2011. Experiencias en la vigilancia epidemiológica de agentes patógenos transmitidos por alimentos a través de electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* 28: 128-135.
- Zbrun MV, Olivero C, Romero-Scharpen A, Rossler E, Soto LP, Astesana DM, Frizzo LS. 2015. Antimicrobial resistance in thermotolerant *Campylobacter* isolated from different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *Food Control*, 57, 136-141.
- Zbrun MV, Olivero CR, Soto LP, Lencina F, Frizzo LS, Zimmermann JA, Signorini ML. 2022. Impact of farm-level strategies against thermotolerant *Campylobacter* in broiler chickens, using a quantitative risk assessment model and meta-analysis. *Zoonoses Public Health.* 69: 408-424.
- Zbrun MV, Romero-Scharpen A, Olivero C, Rossler E, Soto LP, Rosmini MR, Sequeira GJ, Signorini ML & Frizzo LS. 2013. Occurrence of thermotolerant *Campylobacter* spp. at different stages of the poultry meat supply chain in Argentina, N. Z. *Vet. J.* 61: 337-343.
- Zbrun MV, Romero-Scharpen A, Olivero C, Zimmermann JA, Rossler E, Soto LP, Signorini ML. 2017. Genetic diversity of thermotolerant *Campylobacter* spp. isolates from different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *RAM.* 49: 235-241.
- Zilbauer M, Dorrell N, Wren BW, Bajaj-Elliott M. 2008. *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* ELSEVIER. 102:123–129.

- Zweifel C, Scheu KD, Keel M, Renggli F, Stephan R. 2008. Occurrence and genotypes of *Campylobacter* in broiler flocks, other farm animals, and the environment during several rearing periods on selected poultry farms. Int. J. Food Microbiol. 125: 182-187.