

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**Caracterización del genoma completo de aislados de *Campylobacter*
spp. obtenidos de aves de postura y carne en Lima, Perú**

Tesis para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Alejandra Davila Barclay
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

LIMA, PERÚ

2025

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

La egresada:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	Davila Barclay, Alejandra

Perteneciente al programa de la **Carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**, autora del trabajo titulado: **Caracterización del genoma completo de aislados de Campylobacter spp. obtenidos de aves de postura y carne en Lima, Perú**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **Título Profesional** bajo la modalidad de **Tesis**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
	Tsakayama Cisneros, Pablo	Facultad de Ciencias e Ingeniería	Asesor

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de 9%, según el reporte emitido por el software Turnitin® (identificador de entrega: trn:oid::1:363G111000; fecha de entrega: **02 de septiembre de 2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 06 de septiembre de 2026**



Firma del asesor
N° DNI: 41729481
ORCID: 0000-0002-1669-2553

Agradecimiento:

Dr. Pablo Tsukayama Cisneros, PhD

Dr. Guillermo Santos Salvatierra Rodriguez, MV PhD MSc

A mis abuelos, Emilia y Patricio.
Siempre, siempre

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de tesis no hubiese sido posible sin la asistencia y compañía de muchas personas. En primera instancia, debo destacar a mis dos asesores por su guía, apoyo, confianza, y paciencia durante este tiempo. Al Dr. Pablo Tsukayama por abrirme las puertas al mundo de la genómica bacteriana, y ofrecerme la oportunidad de incursionar en el estudio de *Campylobacter* sp. Además, por facilitar una serie de oportunidades y recursos para mi desarrollo académico, y para el procesamiento de las muestras e información que forman parte de este trabajo de tesis. Al Dr. Guillermo Salvatierra por creer en mí siempre, por acompañarme en el aprendizaje desde los inicios del “Team Campy”, y por el tiempo y disposición para discutir el estudio, de lo cual destaco sus invaluable aportes para orientar mejor el planteamiento y análisis. Agradezco al equipo del Laboratorio de Genómica Microbiana en UPOCH por el compañerismo y motivación durante todo este tiempo juntos. Una mención especial a Diego Cuicapuza por las discusiones y guía para la reconstrucción de la filogenia, y por su paciencia y valioso apoyo computacional.

Gracias al Maiden Lab de la Universidad de Oxford, en especial a la Dra. Frances Colles, por permitirme visitar el laboratorio y adentrarme en el análisis de la biología de la bacteria. Particularmente, por guiarme como curadora, en el uso de bases de datos y herramientas del PubMLST. A Sophie, Dessy y la comunidad del *Chicken Journal Club* por la constante inspiración. Agradezco además a las fuentes de financiamiento detrás de mi entrenamiento y de los recursos empleados para la ejecución del estudio. A FONDECYT por financiar mi viaje de pasantía al Maiden Lab. A CONCYTEC-Banco Mundial y al NIH-Fogarty/University of California Global Health Institute por financiar parte de este proyecto.

Y final y especialmente, gracias a mi mamá por su apoyo, comprensión y motivación durante toda la carrera y esta última maratónica etapa.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
1. Tipo de estudio.....	7
2. Lugar de estudio	7
3. Población objetivo y tamaño de muestra	7
4. Criterios de inclusión y exclusión	8
5. Reactivación de aislados bacterianos.....	10
6. Extracción de ADN genómico	10
7. Preparación de librerías genómicas	11
8. Secuenciamiento del genoma completo.....	12
9. Análisis bioinformático	14
9.1. Control de calidad y ensamblado de genomas.....	14
9.2. Identificación de especie bacteriana	14
9.3. Tipificación de las secuencias.....	15
9.4. Determinación de genes de resistencia antibiótica y marcadores plasmídicos	15
9.5. Predicción de resistencia fenotípica.....	16
9.6. Determinación de genes de virulencia	17

9.7. Análisis filogenético	17
10. Análisis estadístico	20
11. Consideraciones éticas	21
RESULTADOS.....	22
1. Identificación de especies y tipificación de los genomas.....	22
2. Determinación de los genes y marcadores afines de resistencia antibiótica y marcadores plasmídicos presentes.....	24
3. Identificación de los genes de virulencia presentes	29
4. Predicción de los perfiles de resistencia fenotípica	33
5. Análisis filogenético y comparación de los genomas de <i>Campylobacter</i> spp. procedentes de aves de postura y de carne	37
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.	80

RESUMEN

Las infecciones por *Campylobacter* spp. son una causa común de enfermedades transmitidas por alimentos de origen aviar a nivel global, y constituyen una de las principales causas de gastroenteritis en Perú, especialmente en niños menores de cinco años. En Lima, la carne de pollo es la principal proteína de origen animal consumida, lo que representa un riesgo importante para la transmisión de estas bacterias. A pesar de la alta prevalencia de *Campylobacter* en productos avícolas, los datos sobre la epidemiología molecular de la bacteria en Perú siguen siendo limitados. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar los genomas de 30 aislados de *Campylobacter* spp. provenientes de pollos de carne y gallinas de postura de la Región de Lima, Perú, utilizando secuenciamiento genómico de nueva generación (NGS). Los resultados mostraron que el 60% de los aislados fueron identificados como *Campylobacter jejuni* y el 40% como *Campylobacter coli*. Se identificaron perfiles de resistencia antibiótica significativos, con una alta prevalencia de genes relacionados con resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y betalactámicos, siendo los aislados de *C. jejuni* los más resistentes. En cuanto a los genes de virulencia, la mayoría de los aislados presentaron factores importantes para la adhesión intestinal y motilidad, así como genes relacionados con la producción de la toxina de distensión citoletal (CDT). El análisis filogenético mostró que los aislados de *C. jejuni* de pollos de carne se agruparon en el complejo clonal CC-607, mientras que los aislados de *C. coli* se agruparon principalmente en los complejos CC-1150 y CC-828. Estos resultados permiten identificar potenciales cepas zoonóticas y perfiles de resistencia que podrían tener implicaciones para la salud pública. La caracterización genética de estos aislados es crucial para comprender mejor la transmisión de *Campylobacter* en la región, proporcionando una base para futuros estudios comparativos con aislados humanos.

Palabras clave: *Campylobacter*, secuenciamiento de nueva generación, resistencia antimicrobiana, virulencia, avicultura

ABSTRACT

Campylobacter spp. infections are a common cause of foodborne illnesses of avian origin globally and represent one of the leading causes of gastroenteritis in Peru, particularly in children under five years old. In Lima, chicken meat is the most consumed animal protein, which poses a significant risk for the transmission of these bacteria. Despite the high prevalence of *Campylobacter* in poultry products, molecular epidemiological data on the bacterium in Peru remain limited. This study aimed to characterize the genomes of 30 *Campylobacter* spp. isolates from broiler chickens and laying hens from the Lima region, Peru, using next-generation sequencing (NGS). The results showed that 60% of the isolates were identified as *Campylobacter jejuni* and 40% as *Campylobacter coli*. Significant antibiotic resistance profiles were identified, with a high prevalence of genes related to fluoroquinolone, aminoglycoside, and beta-lactam resistance, with *C. jejuni* isolates being the most resistant. Regarding virulence genes, most of the isolates harbored important factors for intestinal adhesion and motility, as well as genes associated with the production of cytolethal distending toxin (CDT). Phylogenetic analysis revealed that the *C. jejuni* isolates from broiler chickens clustered in the CC-607 clonal complex, while the *C. coli* isolates mainly clustered in the CC-1150 and CC-828 complexes. These results help identify potential zoonotic strains and resistance profiles that may have public health implications. The genetic characterization of these isolates is crucial for a better understanding of *Campylobacter* transmission in the region, providing a foundation for future comparative studies with human isolates.

Keywords: *Campylobacter*, next-generation sequencing, antimicrobial resistance, virulence, poultry farming.

INTRODUCCIÓN

Campylobacter spp., es un grupo de bacterias gram negativas, zoonóticas y de difícil cultivo microbiológico (Fonseca et al., 2016), que incluye a *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, asociadas a infecciones gastroentéricas en humanos en todo el mundo (Man, 2011). Tanto *C. jejuni* como *C. coli* han co-evolucionado para adaptarse a diversos hospederos (Sheppard & Maiden, 2015; Calland et al., 2021) de forma rápida, bajo la gran influencia antropogénica de los sistemas modernos agropecuarios (Mourkas et al., 2020). Se pueden encontrar como comensales en la microbiota intestinal de diversas aves y mamíferos domésticos y silvestres, y en infecciones asintomáticas y sintomáticas en humanos. Se resaltan como principales reservorios a las aves de corral (Newell & Fearnley, 2003), cuya temperatura corporal elevada (Prinzinger et al., 1991) entre 40° y 43°C se relaciona con las características para el desarrollo de la bacteria. Su rol como comensal continúa siendo debatido, dado que algunos estudios sugieren un papel como patógeno afectando el bienestar de ciertas poblaciones animales, como es el caso de *C. jejuni* en granjas de pollos *broiler* o carne (S. Humphrey et al., 2014; Williams et al., 2016).

Su ubicuidad en la cadena alimentaria facilita su transmisión al humano a través de la ingesta de agua o de diversos productos contaminados causando mayoritariamente cuadros diarreicos en los individuos afectados, llamados campilobacteriosis. Entre las principales fuentes de infección se destacan la carne de pollo cruda o mal cocida, o cultivos vegetales fertilizados con excremento proveniente de producciones avícolas (Stafford et al., 2001; Meldrum et al., 2005; Mullner et al., 2009; Abadias et al., 2008;

Ceuppens et al., 2015), también leche no pasteurizada (Christidis et al., 2016), carnes de vacuno, ovino y porcino (Walker et al., 2019), por vía fecal-oral, y con el contacto directo con animales de compañía (Acke, 2018). Gran número de los casos campilobacteriosis se asocian al consumo de carne de pollo contaminada (Signorini et al., 2018). Al ser la proteína animal más consumida en el mundo, puede explicarse la asociación entre la incidencia de casos con su consumo frecuente de grandes cantidades (T. Humphrey et al., 2007). En Perú, y especialmente Lima, el pollo es la proteína animal más consumida (MINAGRI, 2018), lo que convierte al sector avícola en un punto crítico para la vigilancia epidemiológica de la bacteria

Sin embargo, la información sobre la situación de *Campylobacter* spp. en la cadena productiva y alimentaria en Perú son limitados (SENASA Perú, 2021). Los estudios disponibles se limitan a muestras provenientes de las últimas fases de la cadena alimentaria y a métodos fenotípicos con reducida exploración molecular e información epidemiológica asociada (Lázaro et al., 2012; Lucas et al., 2013; Anampa et al., 2020).

La emergencia de cepas resistentes de *Campylobacter* spp. a nivel global (Tacconelli et al., 2018) ha derivado en un incremento en la falla al tratamiento con fluoroquinolonas (Nelson et al., 2007; Tang et al., 2017; García-Fernández et al., 2018; Moya-Salazar et al., 2018), lo que refuerza la importancia de comprender sus patrones y mecanismos de resistencia y transmisión.

Los genotipos detrás de la resistencia antimicrobiana en *Campylobacter* spp. están principalmente representados por los siguientes genes o determinantes genéticos: aminoglucósidos (*aad6*, *aad9*, *ant(6)-Ia*, *aph(2'')-If*, *aph(3')-IIIa*, *spw*), betalactámicos (*blaOXA-6*, *blaOXA-193*, *blaOXA-450*, *blaOXA-605*, *cmeABC*), macrólidos (mutación

23S rRNA, *ermB*, *cmeABC*), fluoroquinolonas (mutación *gyrA* (T86I), *cmeABC*), y tetraciclinas (*tetO*, *cmeABC*) (Shen Zhangqi et al., 2018). Común a varias familias antibióticas, resalta el operón *cmeABC* que codifica una bomba de eflujo multidrogorresistente (Lin et al., 2002; Yao Hong et al., 2016), responsable por altos niveles de resistencia a ciprofloxacina y tetraciclina (Sharifi et al., 2021). A partir del análisis del resistoma (genes de resistencia presentes en el genoma), es posible predecir el fenotipo de resistencia (Alcock et al., 2019; Bortolaia et al., 2020), siendo en *Campylobacter* spp. la correlación genotipo-fenotipo mayor al 98% (Zhao et al., 2016; Dahl et al., 2021).

Los determinantes de *Campylobacter* spp. para persistir en la cadena alimentaria y causar cuadros clínicos más o menos virulentos están mediados por diversos genes de virulencia. Entre ellos destacan los que codifican factores de adhesión, quimiotaxis, motilidad flagelar, regulación de la temperatura y respuesta a choque térmico, invasión, transporte de hierro, defensa y resistencia al estrés oxidativo, nitrosativo, entre otros (Hermans et al., 2011; Elmi et al., 2021). Ante condiciones de estrés (Svensson et al., 2008) como bajas temperaturas en la cadena de frío (Hazeleger et al., 1998; Chan et al., 2001) pueden pasar a un estado viable pero no cultivable (VPNC, o “*VNBC*” en inglés). Durante este estado VPNC se pueden expresar ciertos genes de virulencia asociados a proteínas tales como *cadF* que permiten la adhesión en la mucosa intestinal durante la colonización del hospedero (Patrone et al., 2013) y en la piel de carcasas de pollos (Jang et al., 2007) durante los procesamiento en plantas de beneficio.

En los últimos treinta años, la caracterización genómica mediante el uso de herramientas como la tipificación de secuencia multilocus (multilocus sequence typing o MLST, en inglés) y el secuenciamiento de genoma completo (*whole-genome sequencing*, en inglés,

WGS), han permitido una mayor comprensión de la diversidad genética de las poblaciones de *Campylobacter* y por ende de su epidemiología. El esquema MLST específico de *Campylobacter* usa fragmentos internos de siete genes constitutivos (house-keeping, en inglés) del genoma bacteriano, y se basa en las combinaciones de los genes: *aspA* (aspatasa), *glnA* (glutamina sintetasa), *gltA* (citrato sintasa), *glyA* (serina hidroximetil transferasa), *pgm* (fosfo glucomutasa), *tkt* (transcetolasa), y *uncA* (subunidad alfa de la ATP sintasa) (Dingle et al., 2001). Este esquema asigna perfiles alélicos a los secuenciotipos (*sequence types*, en inglés, STs). Los secuenciotipos que comparten cuatro o más alelos idénticos son agrupados en un complejo clonal (*clonal complex*, en inglés, CC), lo que refleja su similitud genética (Dingle et al., 2008; Colles & Maiden, 2012; M. C. Maiden et al., 2013) y algunas características fenotípicas (Sheppard et al., 2013; Sheppard & Maiden, 2015). Mientras el MLST se basa en la variabilidad de genes conservados, el WGS otorga mayor resolución proporcionando detalle de un mayor número de genes, dando así información sobre genes y determinantes de resistencia antibiótica, virulencia y relaciones filogenéticas entre aislados. (Heuer et al., 2011; Aanensen et al., 2016; Thépault et al., 2017) En particular, a partir del secuenciamiento del genoma de *C. jejuni* NCTC 11168 (Parkhill et al., 2000; Gundogdu et al., 2007) el estudio de la genómica de *Campylobacter* spp., se profundizó. Los esquemas de tipificación, antes limitados por un reducido número de genes, han evolucionado para admitir más loci del genoma central (*core genome*, en inglés, cgMLST) a partir de la información provistas por las secuencias de genomas completas, incrementado así la resolución del método y permitiendo caracterizar mejor un aislado o grupo de bacterias (M. C. J. Maiden & Harrison, 2016; Cody et al., 2017) en contextos de brotes y colonización y adaptación de hospederos (Mourkas et al., 2020; Bloomfield et al., 2021; Calland et al., 2021; Djeghout et al., 2022).

En el Reino Unido y Estados Unidos de América, las redes de vigilancia molecular para esta bacteria destacan particularmente, pudiendo contribuir rápidamente en la detección de origen de brotes, rastreo de casos, y en el desarrollo de modelos de atribución de fuente (*source attribution*, en inglés) en la cadena alimentaria (Patrick et al., 2018; University of Oxford & Food Standards Agency, 2019; Hoffmann et al., 2021). Estudios a gran escala y longitudinales, han logrado identificar asociaciones entre variantes genéticas, perfiles de resistencia, e incluso estacionalidad. El complejo clonal CC-607 de *C. jejuni*, vinculado a fuentes aviarias, se ha relacionado a perfiles de alta resistencia antibiótica a ciprofloxacina a través del tiempo. Mientras que el CC-828 de *C. coli* se asoció más a resistencia a eritromicina (Cody et al., 2012). El CC-353, también vinculado a fuentes aviarias, se ha asociado a una alta resistencia a fluoroquinolonas, la cual se predice aumentará en la próxima década hasta alcanzar resistencia total en ese linaje (Vliet et al., 2022; Veltcheva et al., 2022).

En Perú, la vigilancia genómica y los estudios usando WGS para *Campylobacter* spp. aún son limitados, enfocándose primordialmente en muestras humanas (Quino et al., 2019; Pascoe et al., 2020; Ramos et al., 2021a; Quino et al., 2022; Parker et al., 2022; Schiaffino et al., 2024), con reducida exploración de los reservorios y fuentes de transmisión (Quino et al., 2019; Pascoe et al., 2020). Una reciente investigación con una colección nacional de aislados de *C. jejuni* y *C. coli* de origen clínico (Quino et al., 2022), producto de la vigilancia del patógeno en Perú, encontró altos niveles de resistencia fenotípica y genotípica a quinolonas y tetraciclinas. Adicionalmente, se encontraron linajes (complejos clonales y secuenciotipos) especialistas asociados a fuentes aviarias, reportados en otras regiones como CC-353 y CC-607. Este análisis pudo además asociar el genotipo de aislados de *C. jejuni* de los casos del brote nacional de Guillain-Barré del

2019 (Munayco et al., 2020; Ramos et al., 2021b) con aquellos de cepas provenientes de pollos. Similarmente, los mismos complejos clonales y secuenciotipos se reportaron como la principal causa de infección gastrointestinal en una cohorte de niños en la Amazonía peruana (Pascoe et al., 2020), donde también se encontraron genotipos de multidrogorresistencia (Schiaffino et al., 2024).

La información disponible sobre la diversidad genética de las poblaciones de *Campylobacter* spp. en la avicultura nacional sigue siendo limitada, especialmente en Lima, región con alta concentración de producción y consumo de productos avícolas, , aún existiendo precedentes de posibles transmisiones zoonóticas. La falta de caracterización molecular y genómica restringe la comprensión de los linajes circulantes en las regiones y en el país, sus determinantes de virulencia y resistencia antimicrobiana, así como su potencial impacto en la salud pública. Una mejor comprensión sobre estos aspectos en el panorama local podría apoyar el diseño de estrategias de control y prevención basadas en evidencia.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el genoma de aislados de *Campylobacter* spp. obtenidos de aves de postura y carne de Lima, Perú, para describir su diversidad genética y determinantes genéticos de resistencia antibiótica y virulencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Tipo de estudio

El estudio fue de tipo observacional, transversal, y descriptivo.

2. Lugar de estudio

Se utilizaron aislados de *Campylobacter* spp. de la colección del cepario del Laboratorio de Genómica Microbiana, Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima, Perú. Dichos aislados corresponden a un estudio madre (proyecto código SIDISI 104130) en el cual se colectaron 51 aislados provenientes de pollos de carne y gallinas de postura de la Región Lima en el período 2019-2020 de centros de venta de carne de pollo y granjas comerciales de ponedoras.

3. Población objetivo y tamaño de muestra

A partir de la colección de 51 aislados de *Campylobacter* spp. del cepario LGM-UPCH, se seleccionaron de manera aleatoria, por estratos de procedencia, 30 aislados de *Campylobacter* spp. provenientes de hisopados de carcasas de pollos de carne y de hisopados cloacales de gallinas de postura, procedentes, respectivamente, de centros de venta de carne de pollo y granjas comerciales de ponedoras con crianza libre de antibióticos (Humane Farm Animal Care, 2018; Murray et al., 2021) (Figura 1). Sólo se utilizaron los aislados que cumplieron los criterios de selección. En tal sentido, no fue necesario realizar un cálculo de tamaño de muestra, debido a que el enfoque del estudio fue describir y caracterizar genotípicamente los aislados de *Campylobacter* spp. recolectados durante el período 2019-2020. No se realizaron muestreos, ni aislamientos nuevos.

Como parte del estudio madre (proyecto código SIDISI 104130), todos los aislados de *Campylobacter* spp. de la colección del cepario LGM-UPCH fueron caracterizados anteriormente de forma fenotípica (género bacteriano por métodos microbiológicos, y perfil de susceptibilidad antimicrobiana por discos de difusión). Para motivos de este estudio, solo se utilizó la información respecto al género bacteriano para la selección y análisis de los aislados.

4. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyó en el estudio (I) todo aislado bacteriano criopreservado en el cepario del Laboratorio de Genómica Microbiana, previamente identificado como *Campylobacter* spp. según la norma ISO 10272-1:2017 (International Organization of Standardization (ISO), 2017) de los años 2019-2020, y (II) que al ser reactivado mostrara crecimiento positivo.

Como criterio de exclusión se consideraron, (I) todos los genomas de aislados de *Campylobacter* spp. que tras el ensamblaje *de novo* resultaran incompletos o no pasaran el control de calidad (QC) estándar de los archivos de las secuencias, usando principalmente las métricas de Número de N's (bases no determinadas) por 100kbp (valor diferente a 0, cero) y porcentaje de GC (guanina + citosina) en el rango esperado para *Campylobacter* spp. entre 29 y 36% (Sebald & Véron, 1963; Véron & Chatelain, 1973); y (II) a todos los genomas de aislados de *Campylobacter* spp. cuya identificación genotípica por rMLST derivara en una especie bacteriana distinta a *Campylobacter* spp. o presentara un porcentaje de respaldo de identificación menor al 80%. El porcentaje mínimo de coincidencia de identidad en rMLST se considera por encima de 70%, siendo ideal mayor de 95% (Jolley et al., 2012).

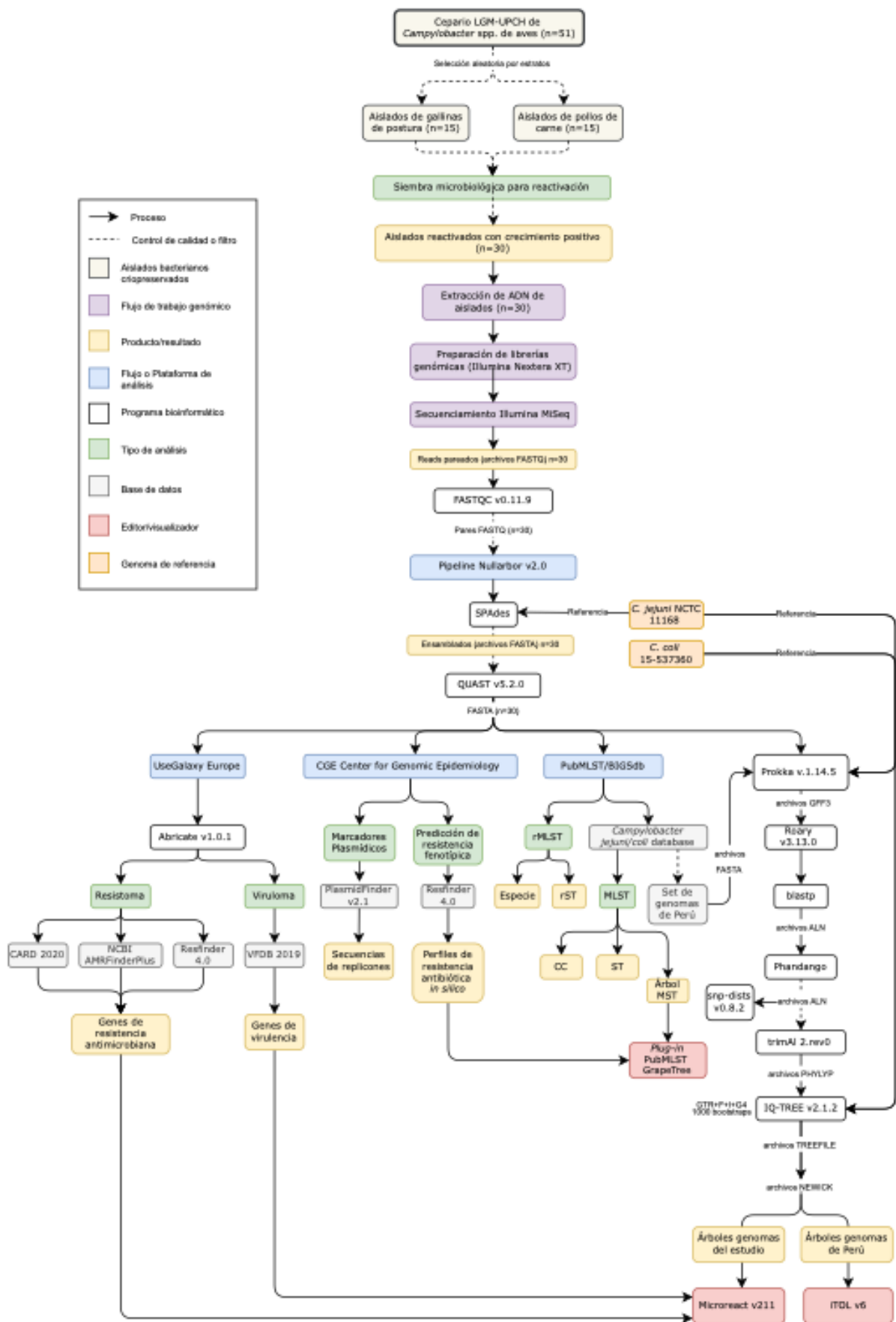


Figura 1: Flujograma de métodos y procesamiento de datos del estudio.

5. Reactivación de aislados bacterianos

Se reactivaron 30 aislados de *Campylobacter* spp. criopreservados en Caldo Soja Trypticaseína (Tryptic Soy Broth, TSB) (Becton Dickinson, Heidelberg, Alemania) con glicerol mediante la siembra en agar *Campylobacter* con suplemento selectivo Skirrow (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido), según la norma ISO 10272-1:2017 (International Organization of Standardization (ISO), 2017). Se aplicó tinción Gram “incompleta”, solo con Cristal Violeta, para confirmar la compatibilidad de la morfología típica de *Campylobacter* spp en “S” o “gaviota”, y así confirmar la pureza de las colonias. Una vez confirmada la morfología, se seleccionó una colonia por aislado y se sembró nuevamente, incubándose a 42°C por 24 horas en condiciones de microaerofilia en recipientes anaerobios (Merck Millipore, Darmstadt, Alemania) con velas (Wang et al., 1982). El total de aislados reactivados cumplieron los criterios de inclusión y pasaron al flujo de trabajo genómico (Figura 1). No se realizó una caracterización ni ensayo fenotípico adicional para estos aislados.

6. Extracción de ADN genómico

Para extraer el ADN (ácido desoxirribonucleico) genómico de los 30 aislados, se prepararon suspensiones bacterianas individuales. Se recuperaron colonias bacterianas con hisopos estériles de la superficie de las placas de Agar *Campylobacter*. El contenido de los hisopos se suspendió en 1 ml de buffer Tris-EDTA (TE) en microtubos de 1.5 ml. Los tubos con las suspensiones bacterianas fueron centrifugados por 10 minutos a 14 000 rpm. Se descartó el sobrenadante y se trabajó con el pellet de células bacterianas restante, siguiendo las indicaciones del “Protocolo D para Bacterias Gram negativas” (Thermo Fisher Scientific, 2016) del

kit comercial basado en columnas de sílice, GeneJET Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher, Waltham, MA, EE. UU.). Finalmente, se obtuvieron eluciones individuales de 200 μ l de ADN genómico, correspondientes a cada aislado bacteriano, que continuaron siendo procesados en el flujo de trabajo genómico (Figura 1).

7. Preparación de librerías genómicas

El ADN genómico extraído se cuantificó por medio de fluorometría usando el kit Qubit dsDNA Broad Range (ThermoFisher, Waltham, MA, EE. UU.) en un fluorómetro Qubit 4 (Invitrogen, Paisley, Reino Unido). Se obtuvieron concentraciones entre 25 ng/ μ l y 32 ng/ μ l, a partir de las cuales se hicieron cálculos y respectivas diluciones con agua grado de biología molecular (PanReac. AppliChem r- ITW Reagent, Darmstadt, Alemania) para normalizar el ADN a 0.2 ng/ μ l (1 ng), según requerimiento del protocolo de preparación de librerías genómicas (Illumina Inc, 2019c, 2021). La preparación de librerías se llevó a cabo con el kit comercial Nextera XT DNA Library Prep (Illumina Inc, San Diego, CA, EE. UU.), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

El flujo de trabajo del protocolo Nextera XT de Illumina consiste en:

- (I) Tagmentación de ADN genómico: el ADN genómico normalizado es fragmentado (-mentación) por medio de un transposoma, que a su vez etiqueta (*tag*-, o etiquetar *en inglés*) en simultáneo los fragmentos con secuencias de adaptadores.
- (II) Amplificación de las librerías: se amplifica el ADN tagmentado, y se añaden las combinaciones únicas de las secuencias de los adaptadores

de los índices (código de barras de identificación única, *indexes*) i7 e i5, para su posterior identificación.

- (III) Limpieza de las librerías: se purifican las librerías amplificadas por medio de perlas magnéticas y lavados con etanol, para ser eluidas con el buffer de resuspensión.
- (IV) Normalización de las librerías y *pooling*: las librerías se cuantifican por fluorometría para luego calcular su molaridad. Se diluyen con el buffer de resuspensión a la concentración inicial para la plataforma de secuenciamiento a utilizar, para asegurar una representación equitativa de cada librería.

Cada *pool* preparado correspondió a 24 librerías normalizadas a 2 nM. Se siguieron las recomendaciones para la química del kit MiSeq Reagent V2 del “Protocolo A de la Guía de Desnaturalización y Dilución de Librerías para Sistema MiSeq” del fabricante (Illumina Inc, 2019a). Se obtuvo una dilución de librerías desnaturalizadas a una concentración de 10 pM. Se tomaron 594 µl del *pool* a 10 pM y se añadieron 6 µl de control PhiX V3 preparado a 10 pM (Illumina Inc, San Diego, CA, EE. UU.) para obtener un pico de control de calidad de 1% en la corrida de secuenciamiento del genoma completo.

8. Secuenciamiento del genoma completo

El secuenciamiento de genoma completo se realizó en un instrumento MiSeq (Illumina Inc, San Diego, CA) usando kits MiSeq Reagent V2 de 500 ciclos. Se añadieron los 600 µl del *pool* final de librerías desnaturalizadas con control PhiX en el cartucho V2, previamente descongelado y preparado según las recomendaciones del fabricante (Illumina Inc, 2019b). Se procedió con la

configuración de la corrida en el secuenciador MiSeq especificando la generación de archivos FASTQ, *paired-end reads* (*reads* pareados), 2x251 ciclos, y habilitado el *adapter trimming*. La calidad de cada corrida fue monitoreada para verificar la obtención de métricas óptimas. Finalmente, los archivos FASTQ fueron descargados localmente del secuenciador para su posterior análisis (Figura 1).

Los pasos del secuenciamiento en un instrumento MiSeq de Illumina consisten en:

- (I) Generación de clústeres (*clusters*, en inglés): las librerías son cargadas dentro del equipo en la celda de flujo (*flowcell*, en inglés), donde los fragmentos son capturados por la capa de oligos desplegados en la superficie de esta, que son complementarios a los adaptadores. Por medio de la amplificación por puente, cada fragmento es amplificado, clonándose en miles de copias idénticas, generando así los clústeres que serán secuenciados.
- (II) Secuenciamiento por síntesis (SBS): los reactivos de secuenciamiento que incluyen nucleótidos etiquetados con fluoróforos son añadidos a las cadenas de ADN que conforman los clústeres. En la celda de flujo, las bases nitrogenadas emiten fluorescencias cuya longitud de onda es única, volviéndolas identificables por el sistema óptico del MiSeq al capturar las imágenes de la superficie de la celda. Este ciclo se repetirá el número de veces que se requiera para dar con la longitud de *reads* deseada (ejemplo: 2x251). Por medio de algoritmos del sistema, las imágenes capturadas se transforman en archivos de datos.

(III) *Demultiplexing*: Terminado el secuenciamiento, por medio de un algoritmo del sistema Illumina, los *reads* son asignados en distintos archivos correspondientes a las muestras de las librerías trabajadas, según la configuración dispuesta por las combinaciones específicas de índices i7 e i5 asignadas previamente a la preparación de librerías.

9. Análisis bioinformático

9.1. Control de calidad y ensamblado de genomas

Los pares de archivos FASTQ obtenidos del secuenciamiento (Figura 1) de las muestras, pasaron el control de calidad estándar de la herramienta FastQC v0.11.9 (Andrews, 2010), y fueron ensamblados *de novo* guiados por el genoma de referencia *C. jejuni* NCTC 11168 (GenBank número de acceso: GCA_000009085.1) (Gundogdu et al., 2007; Parkhill et al., 2000) por medio del *pipeline* de análisis de genomas bacterianos Nullarbor v2.0 (Seemann et al., 2016), usando la opción de la herramienta SPAdes (Bankevich et al., 2012) bajo parámetros predeterminados. El total (n=30) de genomas ensamblados (archivos FASTA), pasaron el control de calidad estándar de QUAST v5.2.0 (Gurevich et al., 2013), por lo que fueron incluidos para el resto de los análisis bioinformáticos (Figura 1). El set de datos (Anexo 1) obtuvo un valor promedio de N50 de 114,546 pb ($\sigma=66,028$ pb), una longitud total promedio de 1,883,508 pb ($\sigma=496,763$ pb), y un porcentaje de contenido G+C (guanina y citosina) promedio de 30.72% ($\sigma=0.997$).

9.2. Identificación de especie bacteriana

Los archivos de secuencias FASTA fueron analizados por medio de la herramienta rMLST de Tipificación de secuencias multilocus ribosómicas (Jolley et al., 2012) para identificación taxonómica y tipificación de especies, disponible en el PubMLST (<https://pubmlst.org/species-id>) (Jolley et al., 2018) (Figura 1). El total de ensamblados fueron identificados como una de las especies del género *Campylobacter* spp, con una coincidencia de más del 90% en la mayoría de casos, y sin contaminación con otros organismos (Anexo 2).

9.3. Tipificación de las secuencias

Se identificaron los secuenciotipos (ST) en conjunto con los complejos clonales (CC) de los ensamblados por medio del esquema de tipificación MLST (Tipificación de secuencias multilocus) específico para *Campylobacter jejuni/coli* (Dingle et al., 2001) del PubMLST (https://pubmlst.org/bigsdb?db=pubmlst_campylobacter_seqdef) (Figura 1).

9.4. Determinación de genes de resistencia antibiótica y marcadores plasmídicos

Se determinó el resistoma (colección de genes de resistencia antibiótica) por medio de la herramienta Abricate v1.0.1 (Seemann, 2016), usando las siguientes bases de datos: Resfinder v4.0 (Bortolaia et al., 2020; Florensa et al., 2022), Comprehensive Antibiotic Resistance Database 2020 (CARD, <https://card.mcmaster.ca/>) (Alcock et al., 2020), y NCBI AMRFinderPlus (Feldgarden et al., 2021). Abricate se empleó con parámetros predeterminados a través de la plataforma del Galaxy Project

(Afgan et al., 2018; The Galaxy Community, 2022) del servidor europeo UseGalaxy Europe (<https://usegalaxy.eu>) (Figura 1). Además, se buscaron marcadores de plásmidos por medio de PlasmidFinder v2.1 (Carattoli et al., 2014), a través de la plataforma del Center for Genomic Epidemiology (CGE) (<http://www.genomicepidemiology.org/>) (Larsen, 2013) (Figura 1). Los datos se visualizaron con mapas de calor (*heatmap*, en inglés) binarios de presencia/ausencia usando la función *heatmap.2* del paquete *gplots* en R 4.1.3/RStudio 2022.

9.5. Predicción de resistencia fenotípica

Se empleó la herramienta ResFinder v4.0 (Bortolaia et al., 2020; Florensa et al., 2022) desde la plataforma del CGE (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>) para obtener el perfil de predicción de resistencia fenotípica basada en el genotipo de los aislados secuenciados (Figura 1). La base de datos de la herramienta incluye paneles específicos para antibiogramas *in silico*, validados para diversas especies bacterianas. El panel para *Campylobacter* incluye genes y mutaciones específicas para los siguientes antibióticos: Aminoglucósidos (gentamicina y estreptomycin), Betalactámicos (ampicilina), Macrólidos (eritromicina), Quinolonas (ciprofloxacina y ácido nalidíxico), y Tetraciclinas (tetraciclina). Las predicciones se basaron en un porcentaje de identidad del genotipo mayor al 99.32%.

Se construyeron relaciones de los perfiles de resistencia fenotípica y los secuenciotipos de los aislados a partir del esquema MLST de PubMLST (Oxford) y visualizada a través del *plug-in* de GrapeTree (<https://achtman->

lab.github.io/GrapeTree/MSTree_holder.html) (Zhou et al., 2018) por medio de un árbol de expansión mínimo (*minimum spanning tree*, MST) (Figura 1). Los aislados que presentaron resistencia fenotípica predicha a tres o más grupos de antimicrobianos fueron categorizados como multidrogorresistentes (MDR) (Magiorakos et al., 2012).

9.6. Determinación de genes de virulencia

Se determinó el viruloma (colección de genes de virulencia) de los genomas por medio de la herramienta Abricate v1.0.1 (Seemann, 2016) usando parámetros predeterminados a través de la plataforma del Galaxy Project de Europa (<https://usegalaxy.eu>) (Afgan et al., 2018; The Galaxy Community, 2022), usando la base de datos Virulence Factor Database 2019 (VFDB, <http://www.mgc.ac.cn/VFs/>) (Chen et al., 2005) (Figura 1). A partir de los genes encontrados, se seleccionaron dentro de cada uno de los grupos funcionales del conjunto de datos, un total de 25 genes más representativos (Elmi et al., 2021) o de mayor importancia en los procesos de colonización intestinal (Hermans et al., 2011) para así poder describirlos en mayor detalle. Siendo estos: Adhesión (*cadF*), Capsular (*hddA*, *hddC*, *kpsC*), Invasión (*ciaB*), Lipopolisacárido (*gmhA*, *waaF*), Motilidad (*flaA*, *flaB*, *flgB*, *flhA*, *fliA*, *motAB*, *rpoN*), Principal proteína de membrana externa (*porA*), Quimiotaxis (*cheA*, *cheV*, *cheW*, *cheY*), Toxina (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*), y Sistema de secreción tipo IV (*virB11*, *virD4*).

9.7. Análisis filogenético

Para el análisis filogenético, se estudiaron las relaciones entre los genomas de la misma especie presentes en este estudio: *C. jejuni* (n=18) y *C. coli* (n=12). A su vez, se buscó describir este set de datos en el contexto de secuencias de *C. jejuni* y *C. coli* correspondientes a pollos y humanos de Perú, disponibles públicamente en la base curada del PubMLST (accedida en Junio 2022) (Figura 1).

Se utilizaron los siguientes filtros de búsqueda para la selección de genomas de PubMLST: “country=Peru”, “source=chicken” o “source=human stool”, “species=*Campylobacter jejuni*” o “species=*Campylobacter coli*”, y “rMLST profile=complete”. A través de la metadata disponible, se identificó que los genomas disponibles pertenecían, en su mayoría, a dos estudios publicados correspondientes a (I) humanos con Síndrome de Guillain Barré procedentes de Lima (Ramos et al., 2021a) y (II) humanos asintomáticos y con cuadros de gastroenteritis procedentes de la Región Loreto, además de pollos de esta misma localidad (Pascoe et al., 2020). La identificación como “*chicken*” para la base de PubMLST puede englobar tanto a pollos, gallos y gallinas, muestreados en condición de carcasa o ave viva. Por lo que no se puede discriminar entre este tipo de origen de las muestras. Para fines de la comparación en el análisis, los aislados de pollos de carne y gallinas de postura del presente estudio se agruparon bajo el nombre “Pollos del estudio”.

Luego de la selección, se hizo una verificación de la pureza de la colección de genomas por medio de la herramienta rMLST disponible en el mismo portal del PubMLST. Tras la verificación, se excluyeron aquellos genomas que estuvieran contaminados con otra especie bacteriana. Tras la

selección final (Anexos 7 y 8), se descargaron los archivos FASTA de los ensamblados y la metadata asociada disponibles en la base de *Campylobacter jejuni/coli* (https://pubmlst.org/bigsdb?db=pubmlst_campylobacter_isolates&page=query)-

Los ensamblados de todos los genomas del estudio y aquellos de Perú descargados de PubMLST siguieron un flujo de trabajo bioinformático para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas (Figura 1) (Anexos 7 y 8). Primero, los genomas bacterianos se anotaron por medio del programa Prokka v.1.14.5 (Seemann, 2014), usando como referencias respectivas a *C. jejuni* NCTC 11168 (GenBank número de acceso: GCA_000009085.1) (Parkhill et al., 2000; Gundogdu et al., 2007) y a *C. coli* 15-537360 (GenBank número de acceso: GCA_000494775.2) (Pearson et al., 2013). Los archivos en formato GFF3 de las secuencias de los ensamblados con las respectivas anotaciones, fueron usados como archivos de entrada para Roary v3.13.0 (Page et al., 2015). Para determinar el pangenoma, se extrajeron los alineamientos de genes *core* usando blastp (Camacho et al., 2009) con un límite del 95%, y se visualizaron con Phandango (<https://jameshadfield.github.io/phandango/>) (Hadfield et al., 2018). Se realizó una curación manual, descartando los ensamblados de menor calidad en base a los gráficos de alineamiento. Se empleó trimAl 2.rev0 (Capella-Gutiérrez et al., 2009) para transformar los archivos de salida ALN en formato PHYLIP.

Se construyeron cuatro árboles filogenéticos de máxima verosimilitud (*maximum-likelihood*, ML) con IQ-TREE v2.1.2 (Nguyen et

al., 2015), usando el modelo de sustitución GTR+F+I+G4 con 1000 *bootstraps*. Se usaron como referencia para enraizar los árboles a *C. jejuni* NCTC 11168 para las filogenias de *C. jejuni*, y *C. coli* 15-537360 como referencia para las de *C. coli*. Los archivos de salida en formato TREEFILE fueron transformados al formato NEWICK para su posterior uso. El árbol de genomas de *C. jejuni* del estudio (n=18) comprendió 1,121 genes *core*, y el de *C. coli* (n=12) 1,103 genes *core*.

El árbol de *C. jejuni* de Perú, basado en 1,040 genes *core* comprendió genomas de aislados de humanos (n=108), pollos (n=81), y pollos del estudio (n=17) (Anexo 7). El árbol de *C. coli* de Perú se basó en 1,035 genes *core* de aislados de humanos (n=71), pollos (n=23), y pollos del estudio (n=11) (Anexo 8).

Los productos de los análisis de *C. jejuni* y *C. coli* de este estudio se visualizaron y editaron por medio de la herramienta Microreact v211 (<https://microreact.org/>) (Argimón et al., 2016) (Figura 1). La herramienta Interactive Tree of Life v6 (iTOL, <https://itol.embl.de/>) (Letunic & Bork, 2021) fue usada para visualizar y anotar los árboles de *C. jejuni* y *C. coli* con las secuencias de Perú (Figura 1). Adicionalmente, se construyeron matrices de comparación de la distancia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) a partir de los alineamientos de pangenomas de Perú, por medio de snp-dists v0.8.2 (Seemann et al., 2021). Se calcularon los promedios de las diferencias de SNPs entre clústeres de interés basados en la visualización de los árboles.

10. Análisis estadístico

Las variables categóricas (origen, especie del aislado, secuenciotipo, complejo clonal, mecanismo de resistencia antimicrobiana, mecanismo de virulencia, perfil genotípico de resistencia antimicrobiana) fueron descritas mediante el uso de frecuencias y porcentajes. El análisis bivariado contrastó el origen de los aislados y especies bacterianas de los aislados con la presencia de genes de resistencia antimicrobiana, genes de virulencia, perfil de resistencia antimicrobiana predicha (perfil genotípico), y multidrogorresistencia genotípica. El análisis bivariado se realizó mediante el uso de la prueba Exacta de Fisher con un nivel de confianza del 95%. El manejo y análisis de datos generados, en combinación con la metadata de los mismos, empleó los paquetes estadísticos Microsoft Excel (Microsoft 365) v2202, Stata v14.0, y R 4.1.3/RStudio 2022.

11. Consideraciones éticas

El estudio solo utilizó aislados bacterianos, anteriormente procesados y criopreservados. La obtención de los aislados de *Campylobacter* spp. realizada como parte de un proyecto de investigación en marcha (código SIDISI 104130), fue previamente revisada y registrada (Documento CAREG-OVEI-009-20) por parte de la Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (DUICT-UPCH). El uso de los aislados y sus genomas con fines del presente estudio (código SIDISI 208542) fue revisado y aprobado por la Dirección Universitaria de Asuntos Regulatorios en Investigación de UPCH, según el documento CAREG-ORVEI-075-22. Por sus características y según el Manual de Procedimientos de la Universidad, el estudio fue exento de evaluación por los Comités Institucionales de Ética en Humanos y en Animales.

RESULTADOS

1. Identificación de especies y tipificación de los genomas

El análisis de los 30 ensamblados de genomas de aislados de *Campylobacter* spp. de pollos de carne (n=15) y gallinas de postura (n=15) resultó en la identificación del 60% (18/30) como *C. jejuni* y el 40% (12/30) como *C. coli* (Figura 2). Todos los aislados de *C. coli* (n=12) correspondieron a gallinas de postura, mientras que aquellos identificados como *C. jejuni* provinieron de ambas fuentes, siendo el 83.33% (15/18) originarios de pollos de carne. Un aislado de *C. jejuni* de gallina de postura y el 25% (3/12) de *C. coli* correspondieron a complejos clonales (CC) y secuenciotipos (ST) no definidos (ND). Estos cuatro genomas carecieron de uno o más de los siete alelos del esquema de MLST, resultando en perfiles alélicos incompletos y por siguiente impidiendo su asignación y clasificación dentro de un secuenciotipo específico, y por ende bajo complejos clonales (Anexo 3). El 72.2% (13/18) de *C. jejuni* correspondió al ST-607 (CC-607), siendo el perfil de tipificación MLST más representado en todo el conjunto de aislados. El 11% (2/18) de *C. jejuni* correspondió a aislados del CC-49 y ST-3720, y el 5.6% (1/18) restante a CC-353 y ST-6888. Los aislados de *C. coli* correspondieron principalmente a dos CC, donde el 41.7% (5/12) se asignó al CC-1150 y ST-10611, mientras que el 33.3% (4/12) a CC-828. Los aislados de este último CC se subdividieron en tres STs: ST-825 (16.7%, 2/12), ST-10617 (8.3%, 1/12), y ST-5123 (8.3%, 1/12).

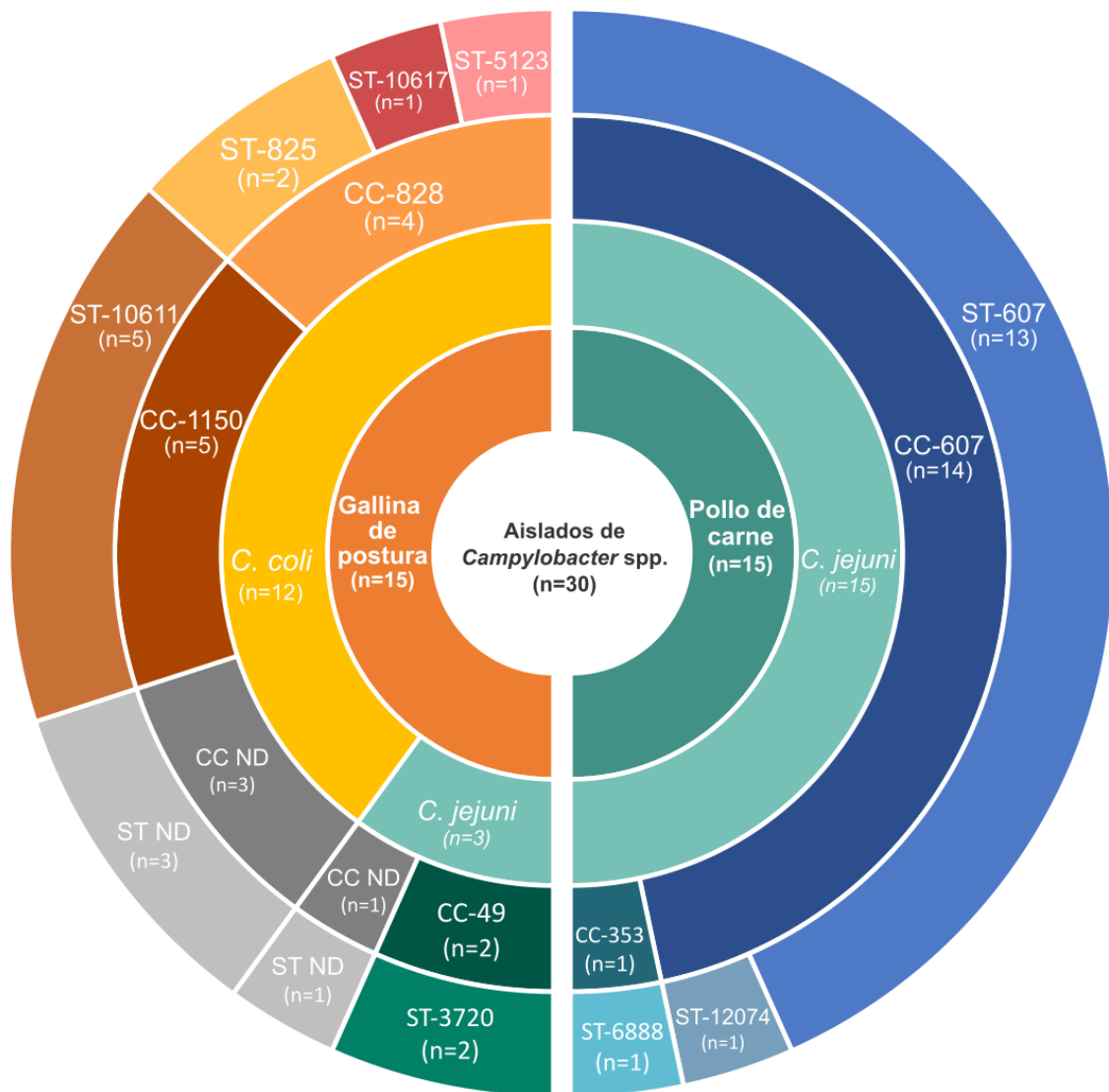


Figura 2. Distribución de especies, complejos clonales y secuenciotipos de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima, Perú. Abreviaturas: CC: complejo clonal; ST: secuenciotipo; ND: no determinado

2. Determinación de los genes y marcadores afines de resistencia antibiótica y marcadores plasmídicos presentes

Se identificaron 13 genes y marcadores de resistencia antibiótica en el conjunto de aislados, correspondientes a cuatro clases de antibióticos: aminoglucósidos (n=7), betalactámicos (n=4), fluoroquinolonas (n=1), y tetraciclinas (n=1) (Figura 3), con una identidad promedio de 98.54% ($\sigma=3.42\%$) y una cobertura promedio de 99.77% ($\sigma=1.85\%$). Además, se identificaron los tres genes que comprenden el operón de la bomba de eflujo multidrogorresistente (MDR) *cmeABC*, que confiere resistencia a macrólidos, fluoroquinolonas, y cefalosporinas (betalactámicos).

El total de aislados de pollos de carne, identificados como *C. jejuni*, presentó nueve genes, correspondientes a cada una de las cuatro clases de antibióticos identificados (Cuadro 1). Respecto al genotipo de resistencia a aminoglucósidos, este grupo solo presentó tres de los genes detectados para la familia (*aad9*, *aph(2'')-I_f*, *aph(3')-III_a*). El 86.7% de estos aislados (13/15) presentó el operón *cmeABC*, a excepción de dos aislados que contaron con *cmeA* y *cmeC*, pero carecieron del gen *cmeB* (Cuadro 2).

Los aislados de *C. jejuni* de gallinas de postura presentaron un patrón similar a aquellos derivados de pollos de carne, con excepción de los genes que confieren resistencia para aminoglucósidos, de los cuales solo presentaron a *aph(3')-III_a*. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los genotipos entre aislados de la misma especie entre los grupos de ambos orígenes (Cuadro 1). Los aislados de *C. coli*, derivados en su totalidad de gallinas de postura, presentaron diez genes de resistencia antibiótica. El 83.3% (10/12) presentó el operón *cmeABC*. No se encontró la mutación *gyrA* (T86I) que confiere resistencia a Quinolonas. Al igual

que los aislados de *C. jejuni*, presentaron el gen *aph(3')-IIIa* para resistencia a aminoglucósidos. Un aislado presentó genes únicos al conjunto de datos para esta familia, siendo estos: *aad6*, *spw*, y *ant(6)-Ia* (también llamado *aadE*), además del gen *sat-4* de estreptotricina acetiltransferasa, determinante para resistencia al nucleósido estreptotricina. Este aislado, identificado como ID529, presentó el clúster de genes de resistencia a aminoglucósidos-estreptotricina: *aadE-sat4-aphA-3*. La diferencia entre los genotipos de resistencia a aminoglucósidos de aislados *Campylobacter* spp. de pollos de carne y de gallinas de postura fue estadísticamente significativa (Cuadro 1). Los determinantes de resistencia a antibióticos betalactámicos pertenecieron a la familia de genes tipo OXA que codifica la producción de β -lactamasas de clase D.

El análisis de marcadores plasmídicos resultó negativo para la totalidad de los aislados del estudio.

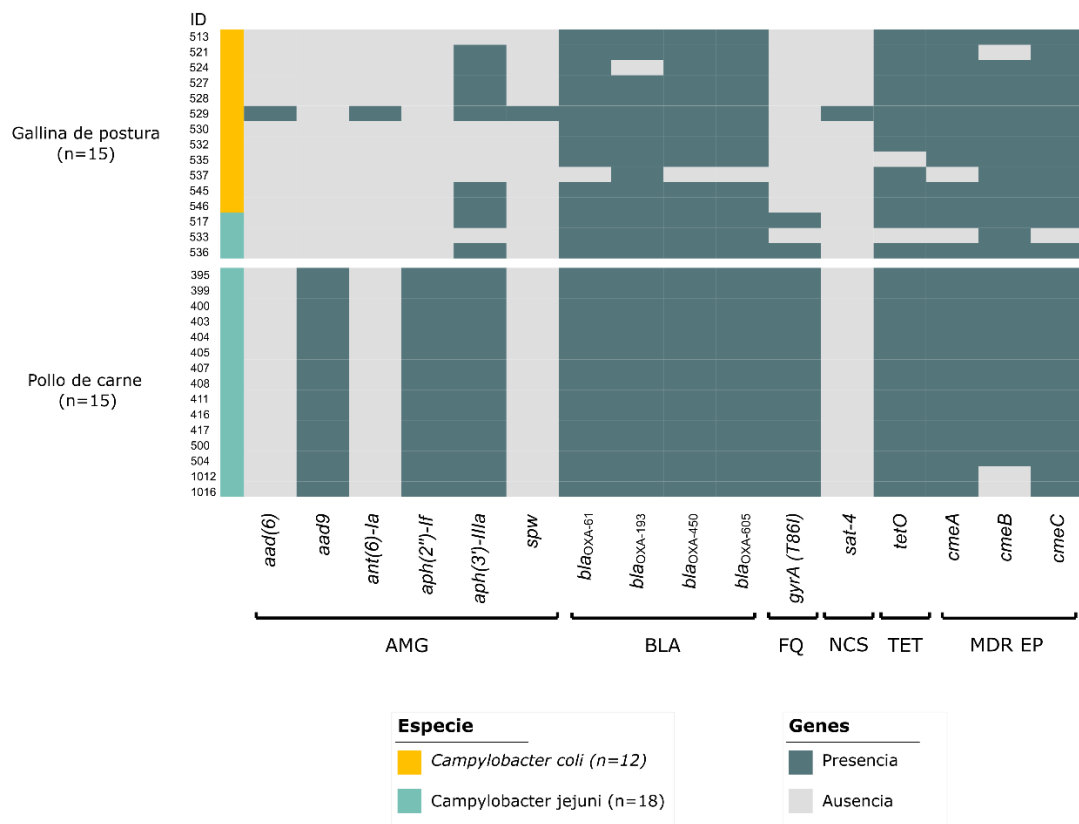


Figura 3. Distribución de genes de resistencia antibiótica en los genomas de aislados de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima, Perú. Los genes y familias de genes se ordenaron por orden alfabético. Los aislados se ordenaron de manera ascendente según su código de identificación dentro de cada grupo. Abreviaturas: ID: código del aislado; AMG: aminoglucósidos; BLA: betalactámicos; FQ: fluoroquinolonas; NCS: nucleósidos; TET: tetraciclinas; MDR EP: Bomba de eflujo MDR

Cuadro 1: Análisis bivariado del genotipo de resistencia antibiótica y presencia de genes asociados de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

	Gallina de postura			Pollo de carne		p ^a	Total (n=30)	p ^b
	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=3)	<i>C. coli</i> (n=12)	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=15)			
Aminoglucósidos	9 (60.0)	2 (66.7)	7 (58.3)	15 (100)	15 (100)	0.167	24 (80.0)	0.017
<i>aad6</i>	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)			
<i>aad9</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)			
<i>ant(6)-Ia</i>	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)			
<i>aph(2'')-If</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)			
<i>aph(3')-IIIa</i>	9 (60.0)	2 (66.7)	7 (58.3)	15 (100)	15 (100)			
<i>spw</i>	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)			
Betalactámicos	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	N.A.	29 (96.7)	N.A.
<i>blaOXA-61</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)			
<i>blaOXA-193</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)			
<i>blaOXA-450</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)			
<i>blaOXA-605</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)			
Fluoroquinolonas	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	N.A.
<i>gyrA</i> (T86I)	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)			
Nucleósidos	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	1 (3.33)	1.000
<i>sat-4</i>	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)			
Tetraciclinas	13 (86.7)	2 (66.7)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	0.167	28 (93.3)	0.483
<i>tetO</i>	13 (86.7)	2 (66.7)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)			

Valores p: Prueba exacta de Fisher, nivel de confianza del 95%.

p^a: *C. jejuni* derivados de gallinas de postura y de pollos de carne; p^b: total de aislados de gallinas de postura y pollos de carne; N.A.: no aplica.

Cuadro 2: Presencia de genes del operón para la bomba de eflujo multidrogorresistente *cmeABC* en aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

		Gallina de postura			Pollo de carne		Total (n=30)
		N (%)			N (%)		
		Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=3)	<i>C. coli</i> (n=12)	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=15)	
Genes	<i>cmeA</i>	13 (86.7)	2 (66.7)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	28 (93.3)
	<i>cmeB</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	13 (86.7)	13 (86.7)	27 (90.0)
	<i>cmeC</i>	14 (93.3)	2 (66.7)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	29 (96.7)
Operón	<i>cmeABC</i>	12 (80.0)	2 (66.7)	10 (83.3)	15 (100)	13 (86.7)	25 (80.0)

3. Identificación de los genes de virulencia presentes

Se identificaron 115 genes de virulencia en los genomas, correspondientes a nueve grupos funcionales distintos (Cuadro 3) que involucran importantes factores de colonización del tracto intestinal de aves y humanos. No se encontraron genes correspondientes a la regulación de la temperatura y respuesta al shock térmico, regulación de hierro, respuesta al estrés oxidativo y nitrosativo, metabolismo central intermediario y energético, n-glicosilación, ni sistemas reguladores de dos componentes. Los genes se detectaron con una identidad promedio de 95.30% ($\sigma=5.54\%$) y una cobertura promedio de 99.56% ($\sigma=1.77\%$).

Entre los genes más representativos que intervienen en los factores de virulencia (Cuadro 4) se encontró a *cadF*, involucrado en la adherencia a enterocitos, en el 96.7% de aislados, al igual que el gen *ciaB* de antígeno invasor B. Todos los aislados presentaron *waaF*, cuya actividad glicosiltransferasa interviene en el proceso de biosíntesis de lipopolisacárido. La presencia de los genes capsulares *kpsC*, requerido para la biosíntesis polisacárida capsular, y *hddC*, involucrado en la síntesis de heptosa, tuvieron una presencia significativamente más alta en los aislados de pollos de carne.

Los genes *flaA* y *flaB*, responsables de las subunidades flagelares FlaA y FlaB, estuvieron ausentes en los aislados de *C. jejuni*. Sin embargo, estos sí presentaron los genes del motor flagelar *motAB*, involucrado en la rotación flagelar para la colonización intestinal. Los factores sigma (o factores σ) de regulación flagelar *fliA* y *rpoN* estuvieron presentes en todos los aislados, al igual que los genes asociados a proteínas de quimiotaxis de la familia *che*.

El gen *porA* de membrana solo se identificó en 11 aislados en todo el set, siendo estos *C. jejuni* de pollos de carne. El 94.4% (17/18) de aislados de *C. jejuni* presentó el operón *cdtABC*, responsable de la producción de la toxina de distensión citoletal (CDT), con excepción de un aislado de gallinas de postura que no contó con la totalidad de genes que lo conforman. Solo un aislado de *C. jejuni* obtenido de una gallina de postura presentó genes reguladores de proteínas del Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS).

Cuadro 3: Genes de virulencia presentes en aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

Grupo Funcional	Genes
Adhesión (n=3)	<i>cadF, jlpA, pebA</i>
Capsular (n=27)	<i>Cj1416c, Cj1417c, Cj1419c, Cj1420c, Cj1421c, Cj1426c, Cj1427c, Cj1432c, Cj1435c, Cj1436c, Cj1437c, Cj1440c, cysC, fcl, glf, gmhA2, hddA, hddC, kfiD, kpsC, kpsD, kpsE, kpsF, kpsM, kpsS, kpsT, rfbC</i>
Invasión (n=2)	<i>ciaB, ciaC</i>
Lipopolisacárido (LOS) (n=9)	<i>Cj1135, gmhA, gmhB, hldD, hldE, htrB, waaC, waaF, waaV</i>
Motilidad (n=59)	<i>eptC, flaA, flaB, flaC, flaD, flaG, flgA, flgB, flgC, flgD, flgE, flgF, flgG, flgH, flgI, flgJ, flgK, flgM, flgP, flgQ, flgR, flgS, flhA, flhB, flhF, flhG, fliA, fliD, fliE, fliF, fliG, fliH, fliI, fliK, fliL, fliM, fliN, fliP, fliQ, fliR, fliS, fliW, fliY, maf4, motA, motB, pflA, pseA, pseB, pseC, pseD/maf2, pseE/maf5, pseF, pseG, pseH, pseI, ptmA, ptmB, rpoN</i>
Principal proteína de membrana externa (MOMP) (n=1)	<i>porA</i>
Quimiotaxis (n=4)	<i>cheA, cheV, cheW, cheY</i>
Toxina (n=3)	<i>cdtA, cdtB, cdtC</i>
Sistema de secreción tipo IV (T4SS) (n=7)	<i>Cjp54, virB10, virB11, virB4, virB8, virB9, virD4</i>

Cuadro 4: Análisis bivariado de los principales genes de virulencia de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

Gallina de postura				Pollo de carne			Total (n=30)	p ^b
N (%)			N (%)		p ^a			
	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=3)	<i>C. coli</i> (n=12)	Total (n=15)		<i>C. jejuni</i> (n=15)		
Adhesión								
<i>cadF</i>	14 (93.3)	2 (66.7)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	0.167	29 (96.7)	1.000
Capsular								
<i>hddA</i>	11 (73.3)	3 (100)	8 (66.7)	14 (93.3)	14 (93.3)	1.000	25 (83.3)	0.330
<i>hddC</i>	7 (46.7)	3 (100)	4 (33.3)	14 (93.3)	14 (93.3)	1.000	21 (70.0)	0.014
<i>kpsC</i>	8 (53.3)	1 (33.3)	7 (58.3)	15 (100)	15 (100)	0.020	23 (76.7)	0.006
Invasión								
<i>ciaB</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	14 (93.3)	14 (93.3)	1.000	29 (96.7)	1.000
LOS								
<i>gmhA</i>	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	N.A.	29 (96.7)	1.000
<i>waaF</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
Motilidad								
<i>flaA</i>	2 (13.3)	0 (0.0)	2 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	2 (6.7)	0.483
<i>flaB</i>	2 (13.3)	0 (0.0)	2 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	2 (6.7)	0.483
<i>flgB</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
<i>flhA</i>	14 (93.3)	2 (66.7)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	0.167	29 (96.7)	1.000
<i>fliA</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
<i>motA</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
<i>motB</i>	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
<i>motAB</i>	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
<i>rpoN</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
MOMP								
<i>porA</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (73.3)	11 (73.3)	0.043	11 (36.7)	<0.001
Quimiotaxis								
<i>cheA</i>	14 (93.3)	2 (66.7)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	0.167	29 (96.7)	1.000
<i>cheV</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
<i>cheW</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
<i>cheY</i>	15 (100)	3 (100)	12 (100)	15 (100)	15 (100)	N.A.	30 (100)	N.A.
Toxina								
<i>cdtA</i>	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
<i>cdtB</i>	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
<i>cdtC</i>	3 (20.0)	3 (100)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	N.A.	18 (60.0)	<0.001
<i>cdtABC</i>	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
T4SS								
<i>virB11</i>	1 (6.7)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.167	1 (3.3)	1.000
<i>virD4</i>	1 (6.7)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.167	1 (3.3)	1.000

Valores p: Prueba exacta de Fisher, nivel de confianza del 95%.

p^a: *C. jejuni* de derivados de gallinas de postura y de pollos de carne; p^b: aislados de gallinas de postura y pollos de carne; LOS: Lipo-oligosacárido; MOMP: Principal proteína de membrana externa; T4SS: Sistema de secreción tipo IV; N.A.: no aplica.

4. Predicción de los perfiles de resistencia fenotípica

El análisis *in silico* de resistencia antibiótica, resultó en predicciones de resistencia a los seis antibióticos del panel para *Campylobacter* spp. (Figura 4). Estas predicciones se basan en los siguientes genotipos específicos: gentamicina (*aph(2'')-I_f*), estreptomicina (*aph(3')-III_a*), ampicilina (*bla_{OXA-61}*), quinolonas (*gyrA* (T86I)), y tetraciclina (*tetO*). Todos los aislados se identificaron como resistentes a uno o más antibióticos (Cuadro 5), dividiéndose en seis distintos perfiles de combinaciones de resistencia (Cuadro 6) de los cuales tres se clasifican como perfiles multidrogorresistentes (MDR).

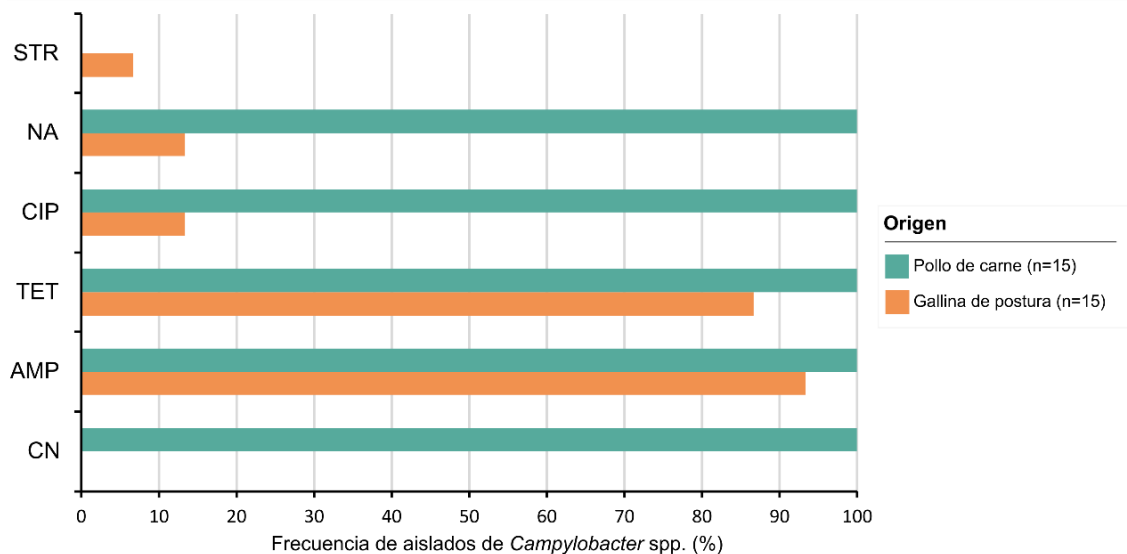


Figura 4. Frecuencia de resistencia antibiótica fenotípica predicha en genomas de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima, Perú. Antibióticos ordenados por frecuencias de resistencias de menor a mayor. Abreviaturas. STR: estreptomicina; NA: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; TET: tetraciclina; AMP: ampicilina; CN: gentamicina.

Cuadro 5: Análisis bivariado de resistencia antibiótica predicha de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

App. de gammas de postura y ponos de carne de la Región Lima.								
	Gallina de postura			Pollo de carne		p ^a	Total (n=30)	p ^b
	N (%)			N (%)				
	Total (n=15)	C. jejuni (n=3)	C. coli (n=12)	Total (n=15)	C. jejuni (n=15)			
MDR	3 (66.7)	2 (66.7)	1 (8.3)	15 (100)	15 (100)	0.167	18 (60.0)	<0.001
Aminoglucósidos								
Gentamicina	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.001	15 (50.0)	<0.001
Estreptomicina	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	1 (3.3)	1.000
Betalactámicos								
Ampicilina	14 (93.3)	3 (100)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	N.A.	29 (96.7)	1.000
Quinolonas								
Ciprofloxacina	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
Ácido Nalidíxico	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.167	17 (56.7)	<0.001
Tetraciclinas								
Tetraciclina	13 (86.7)	2 (66.7)	11 (91.7)	15 (100)	15 (100)	0.167	28 (93.3)	0.483

Valores p: Prueba exacta de Fisher, nivel de confianza del 95%.

p^a: *C. jejuni* de derivados de gallinas de postura y de pollos de carne; p^b: total de aislados de gallinas de postura y pollos de carne; N.A.: no aplica; MDR: multidrogorresistencia.

Los aislados de pollos de carne tuvieron perfiles MDR y resistencias significativamente más altas para gentamicina y quinolonas (Cuadro 5). A todos los aislados de este grupo se les atribuyó un único perfil correspondiente a cuatro antibióticos: gentamicina-ampicilina-ciprofloxacina-ácido nalidíxico-tetraciclina (Cuadro 6). El 94.44% (17/18) de aislados de *C. jejuni* tuvieron perfiles MDR. Aquellos derivados de gallinas de postura, correspondientes al ST-3720 (n=2) presentaron el perfil ampicilina-ciprofloxacina-ácido nalidíxico-tetraciclina (Figura 5). Los aislados de gallinas de postura presentaron perfiles de resistencia distintos a los de pollos de

carne. Sólo se reportó un aislado de *C. coli* con resistencia a aminoglucósidos, específicamente para estreptomicina, al cual se le asignó el ST-10617.

Cuadro 6: Análisis bivariado de perfiles de resistencia antibiótica predicha de aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

	Gallina de postura			Pollo de carne		p ^a	Total (n=30)	p ^b
	N (%)			N (%)				
	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=3)	<i>C. coli</i> (n=12)	Total (n=15)	<i>C. jejuni</i> (n=15)			
CN-AMP-CIP-NA-TET	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (100)	15 (100)	0.001	15 (50.0)	<0.001
STR-AMP-TET	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	1 (3.3)	1.000
AMP-CIP-NA-TET	2 (13.3)	2 (66.7)	0 (0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.020	2 (6.7)	0.483
AMP-TET	9 (60.0)	0 (0.0)	9 (75.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	9 (30.0)	0.001
AMP	2 (13.3)	1 (33.3)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.167	2 (6.7)	0.483
TET	1 (6.7)	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	1 (3.3)	1.000

Valores p: Prueba exacta de Fisher, nivel de confianza del 95%.

p^a: *C. jejuni* derivados de gallinas de postura y de pollos de carne; p^b: total de aislados de gallinas de postura y pollos de carne; N.A.: no aplica; CN: gentamicina, AMP: ampicilina, CIP: ciprofloxacina, NA: ácido nalidíxico, TET: tetraciclina, STR: estreptomicina.

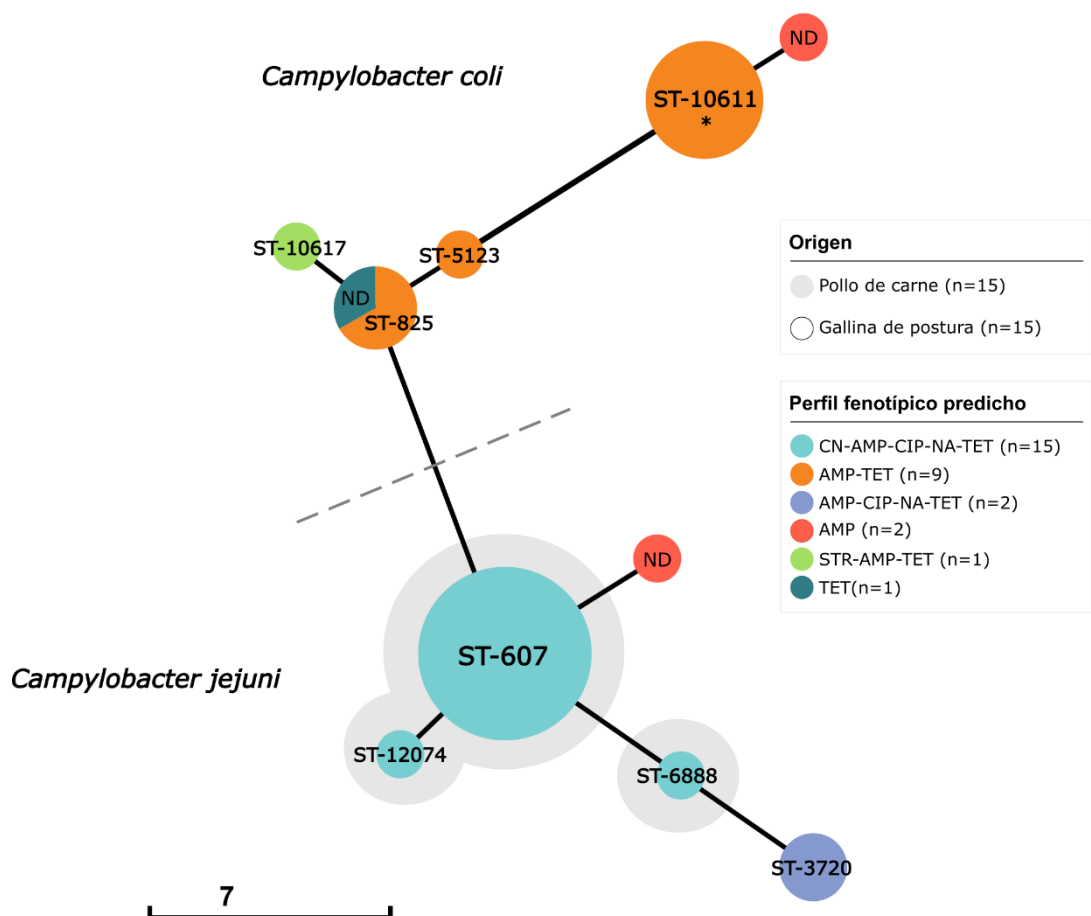


Figura 5. Distribución de perfiles de resistencia fenotípica predicha en los grupos de secuenciotipos (ST) de los aislados de *C. jejuni* (n=18) y *C. coli* (n=12). Árbol MST elaborado a partir del esquema MLST de *Campylobacter jejuni/coli* de PubMSLT con el plug-in de GrapeTree. La visualización fue reproducida con los siguientes parámetros: Kurtosis de nodos 100% (predeterminado, área de los nodos se correlaciona directamente con el número de aislados comprendido dentro del grupo de cada ST), tamaño de nodos: 150%, escalado de ramas: 30%. El valor de longitud de rama sigue la escala de las longitudes de ramas definidas en el árbol original. La distancia de las ramas varía según la distancia entre nodos. El asterisco (*) en el nodo con ST-10611 simboliza la presencia

de un aislado (n=1) identificado con ST-ND cuyo perfil alélico incompleto resulta similar al del secuenciotipo bajo el cual está agrupado. Abreviaturas: ST: Secuenciotipo; ND: No determinado; CN: gentamicina; AMP: ampicilina; CIP: ciprofloxacina; NA: ácido Nalidíxico; TET: tetraciclina; STR: estreptomicina.

5. Análisis filogenético y comparación de los genomas de *Campylobacter* spp. procedentes de aves de postura y de carne

El análisis filogenético de los aislados de *C. jejuni* del estudio (n=18), mostró que las relaciones entre aislados se agruparon en clústeres definidos según su origen (Figura 6). Dentro del clúster proveniente de pollos de carne se formó un clúster conformado por el ST-607 (Figura 6B). Cada clúster de aislados presentó patrones similares de genotipos de resistencia antibiótica y grupos funcionales de factores de virulencia. El aislado identificado como ID “533” de gallinas de postura sólo presentó un genotipo resistente para betalactámicos, mediado únicamente por genes tipo OXA (Anexo 5). Este presentó los genes del operón *cmeABC* incompletos. Además, este aislado sin ST definido, careció del gen *porA* (MOMP) y fue el único en contar con genes involucrados en el Sistema de secreción tipo IV (Anexo 6).

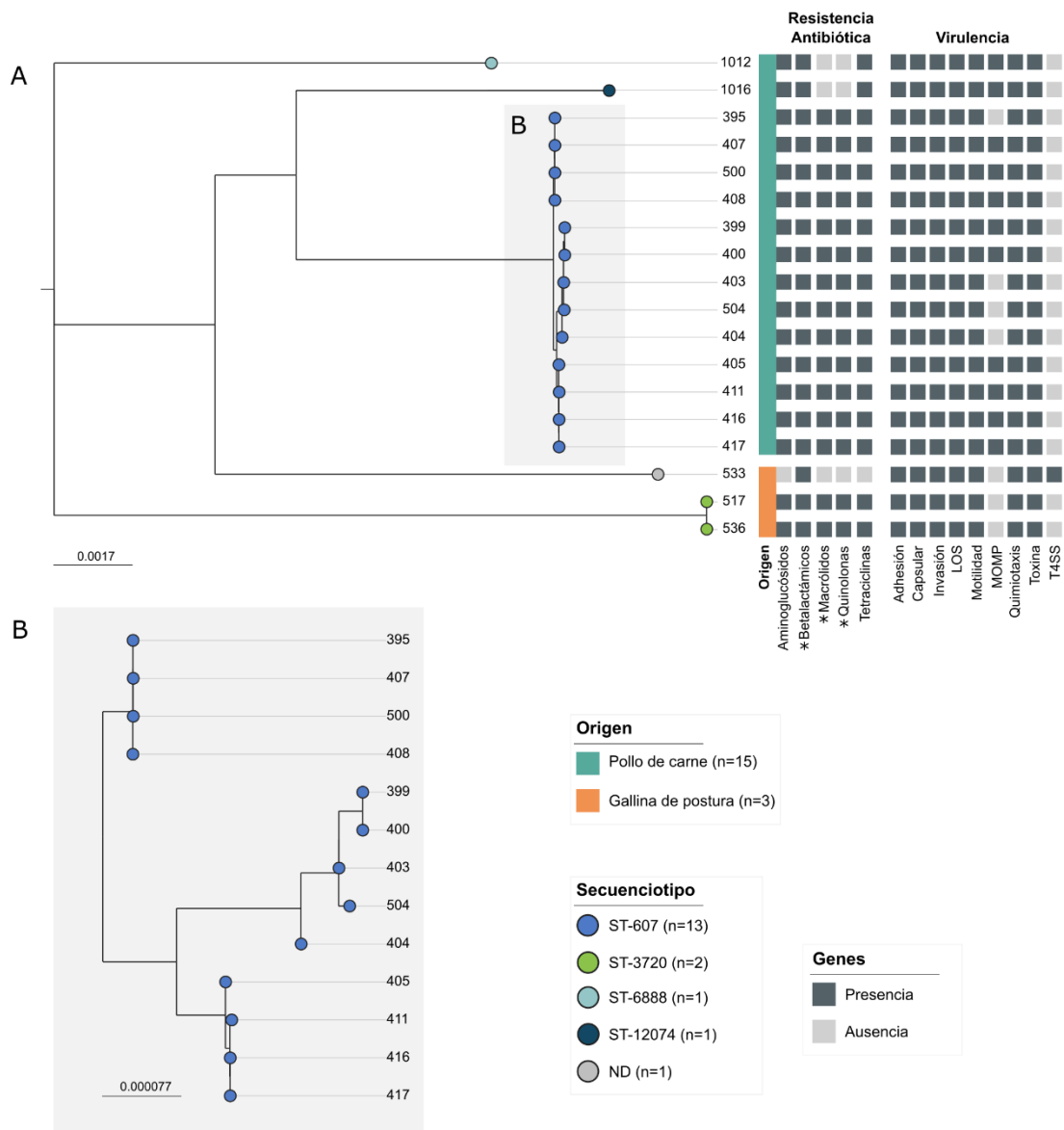


Figura 6. Árbol filogenético de máxima verosimilitud construido a partir del alineamiento de 1,121 genes *core* de aislados de *C. jejuni* (n=18) de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima, Perú. **(A)** Los nodos están coloreados por secuenciotipo. El *heatmap* muestra la presencia de genes de resistencia antibiótica agrupados por familia. Además, muestra la presencia de genes de virulencia agrupados según grupos funcionales. Las categorías se dispusieron en orden alfabético. El asterisco (*) indica que el genotipo de resistencia está mediado adicionalmente por la presencia de la bomba de eflujo *cmeABC*. **(B)** Clúster de aislados del ST-607 dispuesto con mayor resolución para visualización de distancias de las ramas. El código ID único (número de tres dígitos) de cada aislado/genoma acompaña de forma paralela cada nodo y respectiva línea de casillas del *heatmap*. Las longitudes de rama están expresadas en términos de sustituciones por sitio, lo cual se indica por medio del valor numérico de la barra de escala en la parte inferior de cada panel. Abreviaturas: ND: No determinado; LOS: Lipo-oligosacárido; MOMP: Proteína de membrana externa; T4SS: Sistema de Secreción tipo IV.

Los aislados de *C. coli* del estudio (Figura 7) también se agruparon en clústeres, destacándose aquel del ST-10611 (Figura 7B). Todos los aislados (n=12) presentaron genes de virulencia de seis grupos funcionales (Adhesión, Capsular, Invasión, Lipopolisacárido, Motilidad, y Quimiotaxis) (Anexo 4).

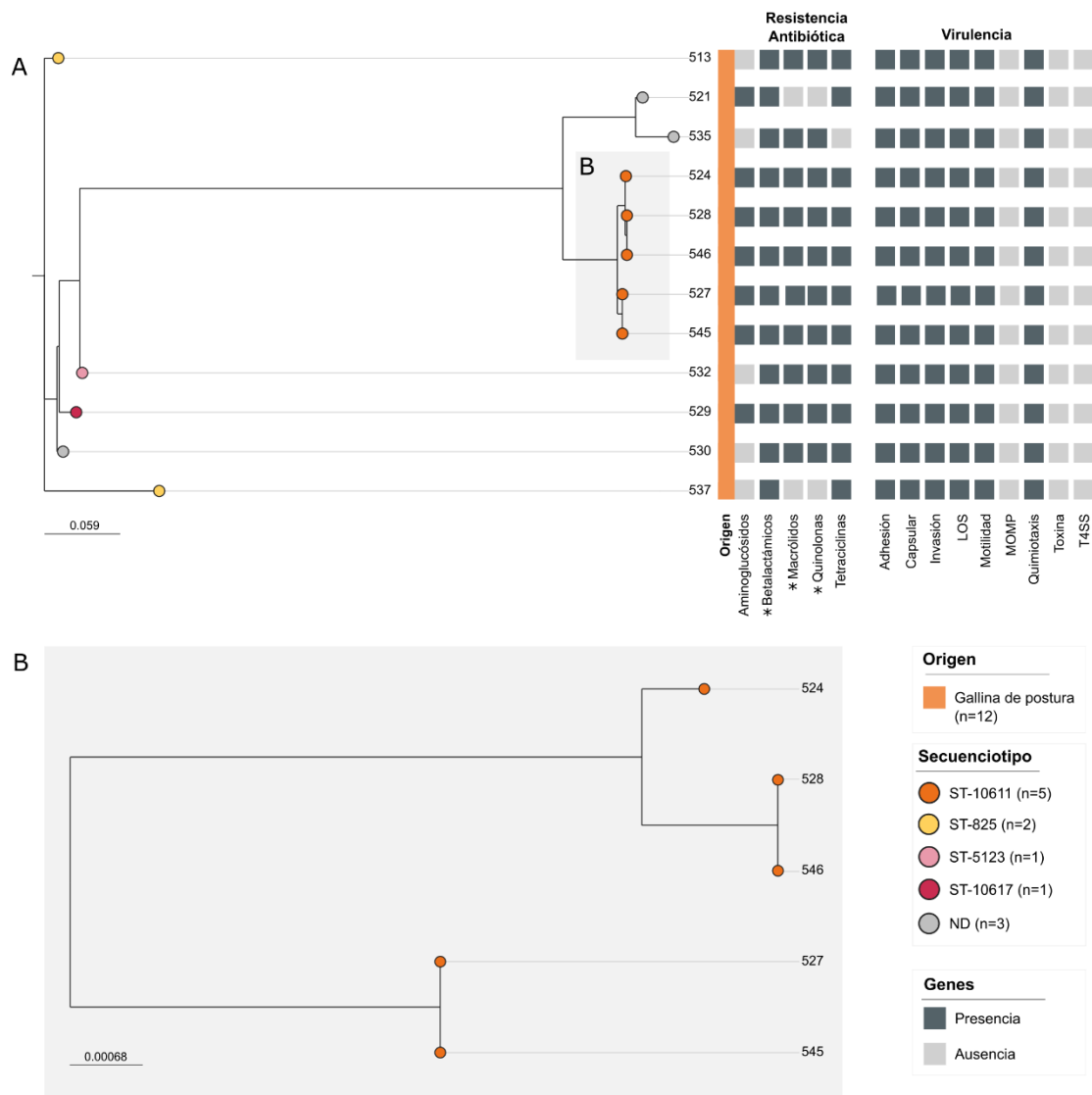


Figura 7. Árbol filogenético de máxima verosimilitud construido a partir del alineamiento de 1,103 genes *core* de aislados de *Campylobacter coli* (n=12) de gallinas de postura de la Región Lima, Perú. (A) Los nodos están coloreados por secuenciotipo. El *heatmap* muestra la presencia de genes de resistencia antibiótica agrupados por familia. Además, muestra la presencia de genes de virulencia agrupados según grupos

funcionales. Las categorías se dispusieron en orden alfabético. El asterisco (*) indica que el genotipo de resistencia está mediado adicionalmente por la presencia de la bomba de eflujo *cmeABC*. **(B)** Clúster de aislados de ST-10611 dispuesto en mayor resolución para la visualización de distancias de las ramas. El código ID único (número de tres dígitos) de cada aislado/genoma acompaña de forma paralela cada nodo y respectiva línea de casillas del *heatmap*. Las longitudes de rama están expresadas en términos de sustituciones por sitio, lo cual se indica por medio del valor numérico de la barra de escala en la parte inferior de cada panel. Abreviaturas: ND: No determinado; LOS: Lipo-oligosacárido; MOMP: Proteína de membrana externa; T4SS: Sistema de Secreción tipo IV.

Los aislados de *C. jejuni* de Perú provenientes de pollos y humanos (n=206) están representados principalmente por el complejo clonal CC-607 (n=78), que comprende diversos secuenciotipos más allá del ST-607 de los pollos de carne del estudio (Figura 8). A diferencia del CC-607 y de CC-353, el segundo más representado, el CC-52 (n=22) y CC-362 (n=15) solo contuvieron aislados de origen humano. El conjunto de datos contó con otros 16 complejos clonales menos representados, distribuidos entre 44 aislados de humanos y pollos. Dentro de cada CC, los aislados de pollos del estudio y otros pollos del país se agruparon en clústeres. Se observó un clúster entre dos aislados de pollo (CC-607, ST-1212) uno de humano (CC-607, ST-1212), y uno de pollo del estudio (CC-607, ST-12074), entre los cuales hubo en promedio una diferencia de 1568 SNPs ($\sigma=23$ SNPs). Otro clúster bajo el CC-353 comprendió dos aislados de humanos (ST-1036), uno de los pollos del estudio (ST-6888) y dos de pollos de Perú (ST-1036). Hubo una diferencia promedio de 557 SNPs ($\sigma=122$ SNPs) entre ellos. Un tercer clúster de aislados de las tres fuentes estuvo comprendido por dos aislados de gallinas del estudio, un pollo de Perú y un humano. Los pollos pertenecieron al CC-353 (ST-3720), mientras que el humano al CC-446 (ST-862). El promedio de diferencia de SNPs entre ellos fue de 2422.33 SNPs ($\sigma=1962$ SNPs). Los aislados de

humanos con Síndrome de Guillain Barré se agruparon bajo el CC-362 (ST-2993). En el conjunto de datos no se representó a aislados de origen animal en ese complejo clonal.

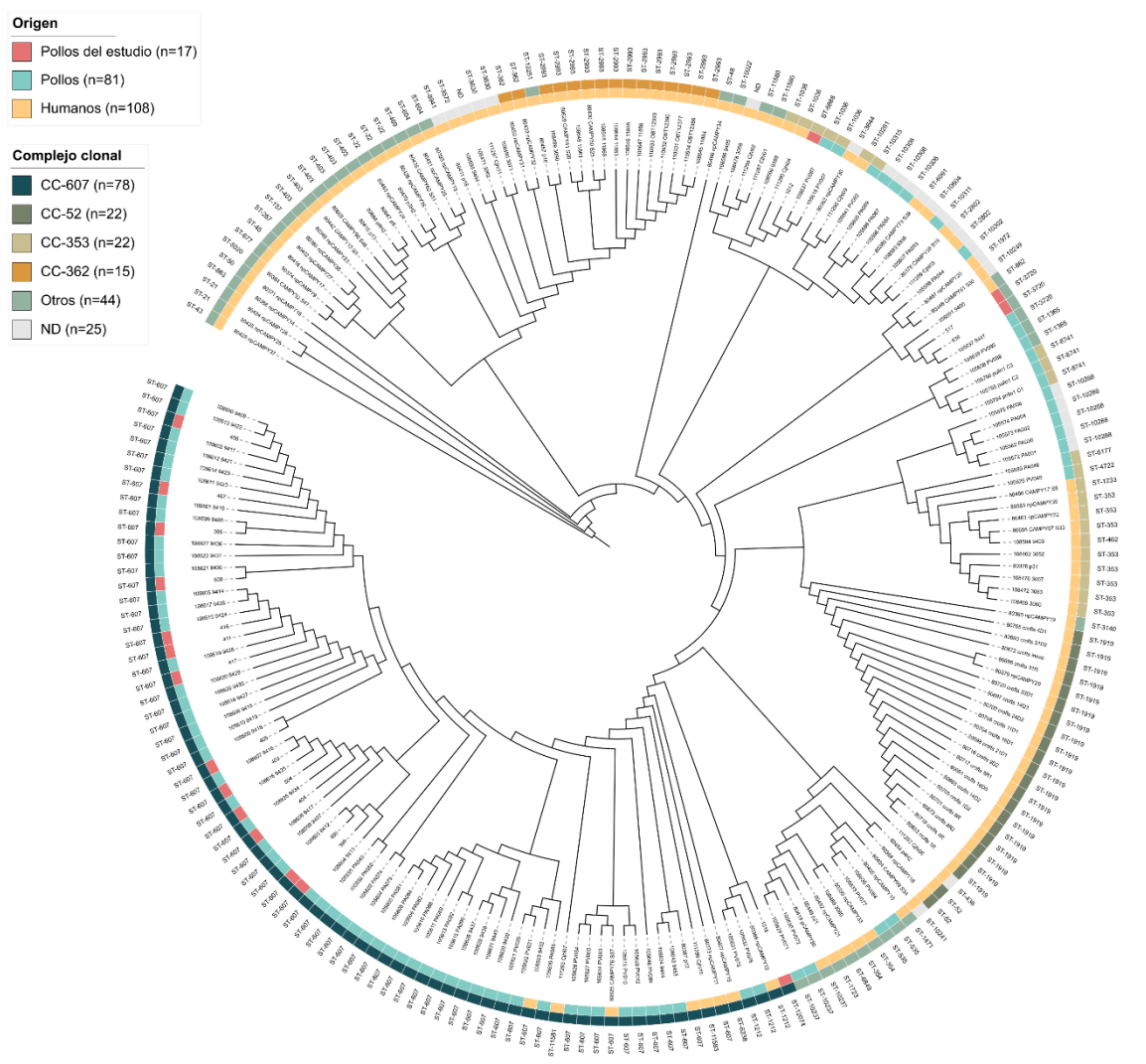


Figura 8. Árbol filogenético de máxima verosimilitud construido a partir del alineamiento de 1,040 genes *core* de aislados de *C. jejuni* (n=206) de pollos (n=81) y humanos (n=108) de Perú. Las longitudes de las ramas del árbol fueron normalizadas para facilitar la visualización. Abreviaturas ND: No determinado; CC: Complejo clonal; ST: Secuenciotipo

En el caso de los aislados de *C. coli* de pollos y humanos de Perú (n=105), se identificaron únicamente dos complejos clonales: CC-828 (n=66) y CC-1150 (n=10)

(Figura 9). Dentro de este CC se determinó el clúster de un aislado humano ST-10250 y dos ST-829, junto con un aislado de gallinas del estudio y un pollo de Perú, ambos de ST-825, con una diferencia promedio de 548 SNPs ($\sigma=327$ SNPs). Un segundo clúster de este CC correspondió a un aislado humano (ST-5123) y a un gallina del estudio y un pollo de Perú (ST-825), donde la diferencia fue de 643 SNPs ($\sigma=909$ SNPs).

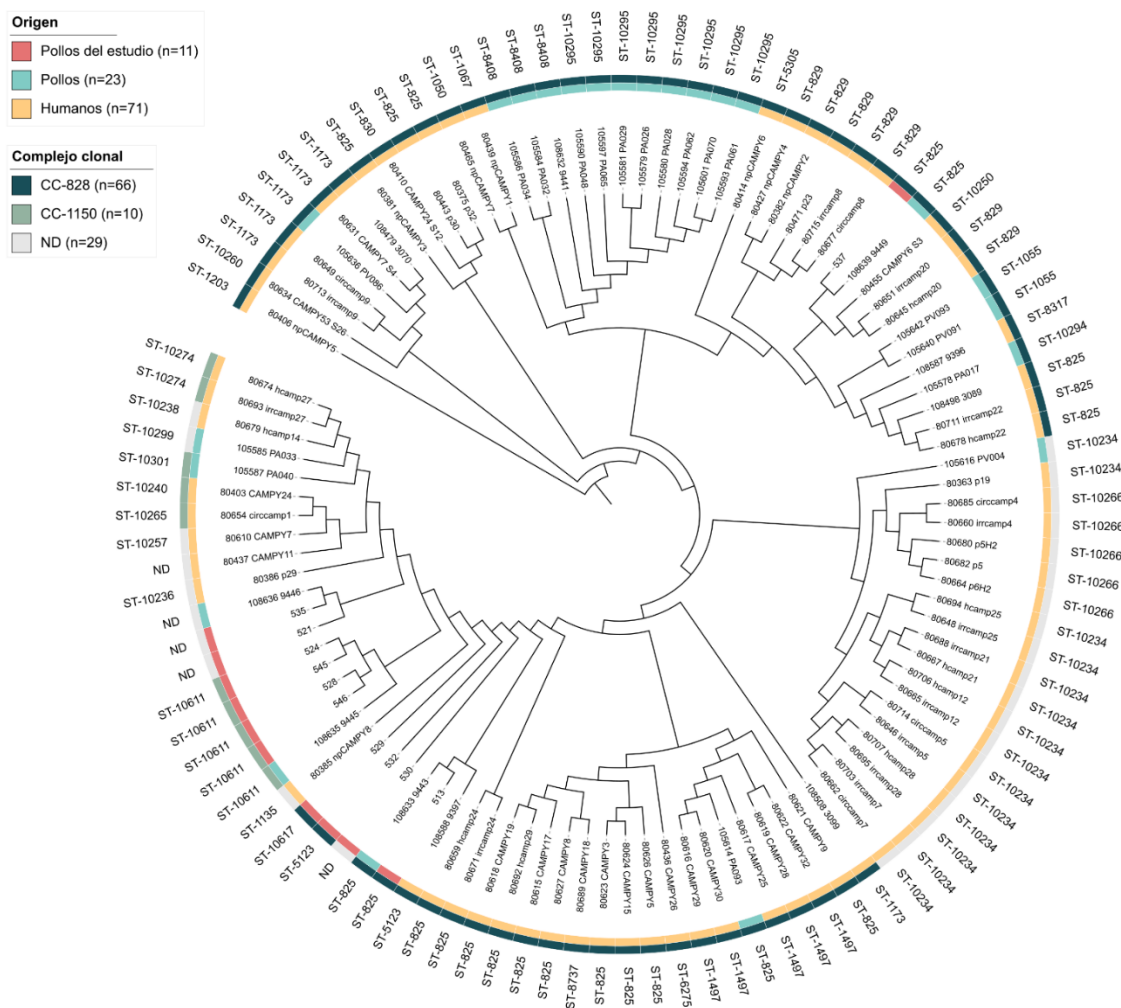


Figura 9. Árbol filogenético de máxima verosimilitud construido a partir del alineamiento de 1,035 genes *core* de aislados de *C. coli* (n=105) de pollos (n=23) y humanos (n=71) de Perú. Las longitudes de las ramas del árbol fueron normalizadas para facilitar la visualización. Abreviaturas ND: No determinado; CC: Complejo clonal; ST: Secuenciotipo.

DISCUSIÓN

El estudio tuvo como objetivo caracterizar los genomas de aislados de *Campylobacter* spp. obtenidos de aves de postura y carne en Lima, Perú, dada la limitada información sobre esa población bacteriana en esta región de alta producción y consumo de productos avícolas. El uso del secuenciamiento de genoma completo (WGS) permitió una alta resolución de los genomas y la posibilidad de un análisis simultáneo de los componentes de resistencia antibiótica, virulencia y diversidad genética. Los resultados de identificación de especies a partir de la tipificación de los genomas, mostraron que *C. jejuni* fue la especie predominante entre los aislados de pollos de carne, mientras que los aislados de las gallinas de postura solo correspondieron a *C. coli*. Esta distribución es consistente con estudios previos en Perú (Lucas et al., 2013) donde *C. jejuni* ha sido identificado como la principal especie del género asociada a pollos (Mourkas et al., 2020).

La variabilidad genética observada en los complejos clonales y secuenciotipos de los aislados estudiados, sugiere una diferenciación en los aislados en función del origen avícola, lo que podría implicar diferencias en la adaptación a las aves de carne y de postura (Han et al., 2016). Los aislados de *C. jejuni* en su mayoría se distribuyeron bajo el complejo clonal CC-607 asociado a pollos de carne, y los *C. coli* bajo el CC-1150 y CC-828, anteriormente descritos con presencia en Perú (Quino et al., 2022; Schiaffino et al., 2024), y con ubicuidad en casos clínicos y poblaciones aviarias en otros continentes (Cody et al., 2012; Veltcheva et al., 2022; Vliet et al., 2022). A pesar de identificar complejos clonales y secuenciotipos comunes y anteriormente reportados en distintas

poblaciones, un grupo de aislados (n=4) no pudieron ser asignados a un secuenciotipo (ST) debido a perfiles MLST incompletos (Anexo 1), en los que la ausencia de loci probablemente se debe a una profundidad de secuenciamiento insuficiente o a vacíos (“gaps”) en el ensamblaje, más que a una variación alélica real. La falta de asignación de ST de estos aislados refleja las limitaciones del esquema MLST junto con artefactos inherentes a los pipelines de ensamblaje y asignación de alelos, los cuales pueden afectar la recuperación completa de los loci y generar fallos en la tipificación. El análisis filogenético basado en genes core permitió una resolución más robusta y consistente para agrupar los genomas de los aislados y poder determinar sus relaciones evolutivas. La comparación de los genomas de los aislados del estudio con otros disponibles públicamente de origen aviar y humano evidenció la presencia de complejos clonales compartidos, particularmente CC-607, CC-353 y CC-828, lo que sugiere la circulación de linajes de *Campylobacter* spp. entre aves de producción y humanos en el Perú. Estos hallazgos son consistentes con el reconocido papel de las aves como uno de los principales reservorios de esta bacteria enteropatógena (Newell & Fearnley, 2003) y resaltan el valor de la genómica para identificar linajes de importancia epidemiológica. No obstante, las distancias genómicas observadas entre los aislados humanos y aviares, de cientos a miles de SNPs, indican que los clústeres identificados reflejan relaciones filogenéticas dentro de un mismo linaje más que eventos recientes de transmisión, por lo que no es posible establecer un vínculo epidemiológico directo entre los aislados analizados. Sin embargo, la circulación de linajes compartidos entre aves y humanos pone de manifiesto la importancia de integrar la vigilancia de poblaciones de *Campylobacter* spp. en animales, alimentos y humanos bajo un enfoque de Una Salud (One Health), con el fin de fortalecer la vigilancia epidemiológica y orientar estrategias para reducir su transmisión a lo largo de la cadena alimentaria. Futuros estudios que permitan conocer qué linajes circulan en

las granjas y poblaciones y cómo se relacionan con los aislados encontrados en casos clínicos en humanos permitirán identificar los puntos críticos donde potencialmente ocurre la contaminación en la cadena productiva avícola y diseñar medidas para intervenir y reducirla, a su vez que apoyar a la rápida detección y control de brotes .

En cuanto a los perfiles de resistencia antibiótica, los aislados de *C. jejuni* provenientes de pollos de carne presentaron una alta prevalencia de multidrogoresistencia (MDR), lo cual es notable dado que estos patógenos presentaron una resistencia predicha a antibióticos clave para el tratamiento en infecciones en humanos como quinolonas y tetraciclinas. Este estudio usó la definición MDR de Magiorakos et al. (2012), la cual es de las más aceptada en el estudio de resistencia antimicrobiana, y establece que se otorga esa categoría ante exhibir la no susceptibilidad a un agente antimicrobiano en tres o más categorías de antimicrobianos. Si bien no se realizaron ensayos fenotípicos, la alta concordancia entre el perfil fenotípico y genotípico en estas bacterias ha sido establecido y ampliamente aceptada para poder predecir las tendencias de resistencia en base solo a la presencia de sus genes (Zhao et al., 2016; Bortolaia et al., 2020; Dahl et al., 2021), lo que facilitaría las inferencias sobre niveles de resistencia en escenarios en los que existen limitaciones técnicas o logísticas para desarrollar ensayos de susceptibilidad antimicrobiana. A pesar que no existe una definición MDR específica para *Campylobacter*, otros estudios han empleado la misma definición (Schiaffino et al., 2019; Uddin et al., 2021; Aljazzar et al., 2022), lo que puede facilitar posteriormente la comparación entre resultados. Este patrón de resistencia es consistente con lo que se ha reportado en otros estudios sobre *Campylobacter* en el país (Moya-Salazar et al., 2018; Schiaffino et al., 2019; Pascoe et al., 2020; Schiaffino et al., 2024). La resistencia a quinolonas, en particular, podría comprometer el tratamiento adecuado de infecciones en

humanos. Futuros estudios con este y otros grupos de aislados podrían comparar los resultados de ensayos de susceptibilidad antimicrobiana como la prueba de difusión en disco (CLSI, 2015) con los resultados genotípicos e integración de datos clínicos y epidemiológicos, tanto de muestras humanas como de animales, incluyendo a su vez otras especies domésticas.

La alta prevalencia de genes de resistencia a diferentes familias antibióticas en las cepas locales, subraya la necesidad de revisar las políticas de uso de antibióticos en la avicultura. En Perú, se viene implementando el “Plan Nacional para Enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos” (MINSA, 2017, 2019). Como parte de las medidas para la promoción del uso racional de antibióticos en explotaciones animales se prohibió el uso de la colistina (“Resolución Directoral N° 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA,” 2019), antibiótico de último recurso en medicina humana y comúnmente usado como promotor de crecimiento en animales. Estas medidas de restricción por sí solas no son efectivas (Ogunlana et al., 2023) y requieren implementación de estrategias y políticas públicas basadas en evidencia, que estén abocadas a la prevención, al manejo adecuado de recursos, al refuerzo de la bioseguridad, y al mantenimiento de la higiene y buenas prácticas de crianza y manufactura, además de la integración de sistemas de vigilancia en resistencia antimicrobiana (OECD, 2023; World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organisation for Animal Health, 2023). La Lista de Prioridad Global de Bacterias Resistentes a Antibióticos (Tacconelli et al., 2018) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 2017, destaca las infecciones comunitarias causadas por *Campylobacter* spp. resistente a fluoroquinolonas como “Prioridad Alta” para su vigilancia, investigación y potencial desarrollo de nuevas drogas. Sin embargo, en 2024

Campylobacter fue retirado de la lista (World Health Organization, 2024) declarando razones basadas en evidencia y en consenso de expertos. Sin embargo, los estudios y proyecciones muestran lo contrario (Veltcheva et al., 2022), siendo particularmente la tendencia en países de bajos a medianos recursos (LMICs) en aumento.

Respecto a los genotipos de resistencia antimicrobiana detectados, se encontró la mutación en *gyrA* (Thr86Ile). No se encontraron mutaciones ni genes asociados a resistencia a macrólidos como la mutación *23S rRNA*, ni tampoco el gen *ermB* para eritromicina. Sin embargo, el operón *cmeABC* de la bomba de eflujo multidrogorresistente estaba presente en su totalidad en la mayoría de aislados por lo que podría conferir resistencia a macrólidos, a pesar de no contar con otros determinantes para esta resistencia. Esta bomba de eflujo se ha descrito en aislados clínicos en Perú, asociándolas a multidrogorresistencia genotípica y fenotípica (Schiaffino et al., 2024). Un aislado de *C. coli* de gallinas de postura (ID529), presentó el clúster cromosomal de genes de resistencia a aminoglucósidos-estreptotricina *aadE-sat4-aphA-3*, descrito anteriormente en *C. jejuni* (Fabre et al., 2018; Guirado, Miró, et al., 2022). A su vez, ese aislado fue el único en presentar el gen *spw* asociado a resistencia a aminoglucósidos (Fabre et al., 2018). En general, los aislados provenientes de gallinas de postura mostraron patrones de resistencia menos diversos y en menor proporción en comparación con los pollos broiler. Aunque estas gallinas procedían de sistemas de crianza libres de antibióticos (Humane Farm Animal Care, 2018; Murray et al., 2021), la presencia de genes de resistencia sugiere que estos determinantes podrían mantenerse independientemente de la presión selectiva directa, lo que plantea interrogantes sobre los mecanismos de colonización y persistencia de genotipos resistentes en estos animales. En este contexto, las diferencias observadas podrían explicarse no solo por factores

productivos y la edad de los animales, sino también por la estructura clonal y la ecología de las especies de *Campylobacter* involucradas, particularmente *C. jejuni* y *C. coli*, lo que ayuda a explicar la menor frecuencia de genes de resistencia observada en este grupo. Esto sugiere la importancia de profundizar en la ecología de *C. coli* en gallinas de postura y otras aves de corral, y su posible papel en la diseminación de resistencia en sistemas avícolas y alimentarios.

Si bien no se detectaron marcadores de plásmidos, se encontró el gen *tetO* que se asocia a transmisión por el plásmido *pTet* (Marasini et al., 2018). La metodología de secuenciamiento y tratamiento bioinformático empleados pueden haber limitado la detección y análisis de plásmidos, pero estos hallazgos podrían sugerir la necesidad de estudiar más a fondo la transmisión plásmídica de la resistencia en estas poblaciones de *Campylobacter*. Adicionalmente, a pesar de usar distintas bases de datos de genes de resistencia, es probable que por razones similares algunos genes no se detectaran. La metodología de secuenciamiento y los parámetros de filtro posteriores pueden haber purgado algunos genes que se encontraban por debajo de los puntos de corte mínimos del 80% para la cobertura e identificación. En posteriores experimentos, dependiendo el nivel de análisis que se quiera realizar, debe planearse acorde la cobertura de secuenciamiento deseada. Además, futuros estudios deberían considerar el uso de metodologías específicas para la extracción y secuenciamiento de plásmidos, o también el uso de métodos híbridos de secuenciamiento y ensamblado de genomas combinando *long-read sequencing* (lecturas largas) (Farooq et al., 2021).

Se detectaron genes de virulencia para los grupos funcionales de adhesión, cápsula, invasión, lipo-oligosacárido (LOS), motilidad, proteína de membrana externa (MOMP), quimiotaxis, y toxina distensora citoletal (*cdt*). Más del 93% (14/15) de

aislados de pollos de carne, presentó al menos un gen por cada categoría. Contar con estos genes, les permitiría codificar las proteínas respectivas para facilitar la invasibilidad y colonización del hospedero, potencialmente humano (Tikhomirova et al., 2024). El gen *cadF* de adhesión permitiría a esos aislados, adherirse a las células epiteliales del intestino. Los factores capsulares y de membrana les permitirían evadir la respuesta inmune y causar inflamación (Elmi et al., 2021). Los LOS pueden influir en el desarrollo de síndrome de Guillain-Barré (GBS). La identificación de las variantes capsulares ha permitido su uso como marcadores de predicción y detección para GBS (Heikema et al., 2015; Zang et al., 2021). No se realizaron análisis para tipificar los tipos capsulares. Sin embargo, ninguno de los secuenciotipos encontrados correspondió con el ST-2993, asociado al brote de GBS que coincidió con el periodo de muestreo de los aislados (Quino et al., 2019). Los genes de motilidad están asociados a las estructuras que conforman los flagelos polares de *Campylobacter*, que en combinación con los factores de quimiotaxis le permiten desplazarse dentro del hospedero (Elmi et al., 2021; Tikhomirova et al., 2024).

El operón de la toxina *cdt* estuvo presente en todos los aislados de *C. jejuni*, con la excepción de uno (17/18) proveniente de una gallina de postura (ID 533) el cual solo presentó el gen *cdtC*. Este operón se encuentra relacionado directamente con virulencia en el humano (Guirado, Iglesias-Torrens, et al., 2022) causando daño celular e inflamación, y está asociado a tumorigenesis colorectal (He et al., 2019). Solo un aislado de *C. jejuni* de una gallina de postura (ID 533) presentó genes incompletos del Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS), siendo estos *virB11* y *virD4* de las proteínas VirB/D4 (Wallden et al., 2010). Los T4SS de las bacterias gram negativas tienen una función de transporte proteico o de material genético con el exterior, y suelen componerse por 12 a más genes. No hay evidencia que sugiera que el T4SS sea funcional en *Campylobacter* y

su rol continúa siendo fuente de estudio (Gabbert et al., 2023). Sin embargo, los genes hallados suelen estar presentes en plásmidos *pVir* o *pTet* (Hull et al., 2021), lo que reforzaría la necesidad de explorar en mayor detalle el rol de los plásmidos en estas bacterias, con especial relación a la transferencia horizontal de determinantes de resistencia (Morita et al., 2023). El estudio presentó una serie de limitaciones, partiendo por el tamaño muestral y circunscrita representatividad temporal y geográfica dentro de la región Lima, la cual limita la generalización de los hallazgos, pero sienta las bases para futuros estudios. La información respecto al origen de las aves de carne era también limitada, y derivada del muestreo del estudio madre. Los aislados de los pollos de carne partieron de muestras de hisopados de carcasas. Aspectos como el pertenecer a una misma granja con las mismas prácticas de crianza, o haber estado en contacto cercano durante el beneficio podrían haber facilitado el intercambio de bacterias o material genético en el proceso, afectando los resultados. Por otro lado, en el caso de las gallinas de postura, se contaba con más información sobre sus prácticas de crianza (libre de antibióticos) y estado al momento de la toma de muestra a partir de la cloaca de cada animal (clínicamente saludables). La metodología de WGS utilizó la plataforma Illumina, la cual se basa en el secuenciamiento de fragmentos cortos. Esta aplicación es bastante confiable por sobre otras, sin embargo presenta limitaciones para el estudio de plásmidos. Por lo que en el futuro, el enfoque podría complementarse con otras metodologías de secuenciamiento o un diseño específico para el estudio de plásmidos en aislados de *Campylobacter*.

La metodología de análisis de este estudio es reproducible y puede replicarse, aplicándose a conjuntos de datos más grandes, e incluir otras variables ajustándose a nuevas preguntas de investigación como ubicación geográfica, determinantes ambientales

(Mourkas et al., 2019), temporalidad (Ghielmetti et al., 2023), prácticas agropecuarias (McKenna et al., 2020) y etapas de la cadena alimentaria (Yahara et al., 2017; Inglis et al., 2021). En subsiguientes estudios se sugiere describir la resistencia fenotípica a ciprofloxacina, eritromicina y tetraciclina y analizar las correlaciones con los patrones genotípicos (Fabre et al., 2018), además de monitorear estacionalidad, tanto en la tasa de aislamiento de *Campylobacter* como los patrones de complejos clonales y resistencia presentes

El uso de WGS en los aislados de *Campylobacter* de este estudio permitió obtener información detallada sobre los perfiles genotípicos de virulencia y resistencia y la distribución de los linajes genéticos de los mismos. La información puede ser reanalizada en un futuro, en la medida que las bases de datos que alimentan los análisis de identificación sean actualizadas, para detectar retrospectivamente la aparición de nuevos genes o variantes alélicas. La combinación de la información genómica con la epidemiológica potencian sus beneficios para dar mayor contexto sobre el rol de ciertas poblaciones bacterianas. Esta integración en el contexto de un sistema de vigilancia permitirá monitoreos más precisos para el control. La vigilancia genómica puede aplicarse a otros patógenos bacterianos, virales o parasitarios, particularmente zoonóticos, para informar estrategias de control a nivel local, regional y nacional.

Los resultados sugieren la necesidad de continuar explorando por medio de la vigilancia genómica de granjas, centros de beneficio, y establecimiento de expendios de productos cárnicos y derivados, la diversidad genética presente en las poblaciones de *Campylobacter* de origen aviar en la Región Lima. La detección de aislados multidrogorresistentes en animales y productos de consumo humano resalta la necesidad de adoptar enfoques integradores para la vigilancia de resistencia antimicrobiana, como

el enfoque de Una Salud (World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organisation for Animal Health, 2023), que también incluya el monitoreo en poblaciones humanas y fuentes ambientales.

De igual manera, se resalta la importancia de la apertura de datos y la publicación de estos en repositorios públicos y bases curadas para así poner la información a disposición de otros investigadores e instituciones a nivel local e internacional. La libre disponibilidad de estos datos y metadata detallada asociada, contribuye a la transparencia, reproducibilidad y difusión del conocimiento de relevancia epidemiológica.

CONCLUSIONES

- La mayoría de los genomas de *Campylobacter* spp. termotolerantes aislados de carcasas de pollos de carne y cloacas de gallinas de postura pertenecen a *C. jejuni*, presente en ambos tipos de aves, mientras que *C. coli* se identificó exclusivamente en gallinas de postura.
- El secuenciotipo más frecuente en los aislados de *C. jejuni* de pollos de carne fue ST-607 (CC-607), y ST-3720 (CC- 49) para aquellos derivados de gallinas de postura. El secuenciotipo más frecuente en los aislados de *C. coli* fue ST-10611 (CC-1150).
- Los genomas de aislados de *Campylobacter* spp. derivados de ambas fuentes aviares presentaron genotipos asociados a perfiles multidrogorresistentes, donde el total de aislados de pollos de carne exhibió determinantes de resistencia para cuatro familias distintas de antibióticos.
- La especie de *Campylobacter* fue el principal factor asociado a la variación en los perfiles de resistencia y virulencia, con diferencias consistentes entre *C. jejuni* y *C. coli* en el conjunto de datos estudiado.
- *C. jejuni* mostró mayor frecuencia de determinantes asociados a resistencia a antibióticos de importancia clínica y a factores de virulencia clave en comparación con *C. coli*. Los genomas de aislados de *C. jejuni* de pollos de carne y de gallinas de postura presentaron un amplio conjunto de determinantes genéticos asociados a alta resistencia antibiótica (aminoglucósidos, betalactámicos, macrólidos, quinolonas, y tetraciclinas) y alta virulencia (factores de adhesión, capsulares, invasión, LOS, motilidad, MOMP, quimiotaxis, y toxina distensora citoletal).

- El análisis in silico de resistencia antibiótica revela diferencias entre grupos, con los aislados de pollos de carne mostrando una mayor proporción de perfiles multidrogorresistentes y un patrón más homogéneo, en contraste con los aislados de gallinas de postura, que presentan mayor diversidad de perfiles y menor frecuencia de MDR. Los análisis filogenéticos mostraron que los aislados de *C. jejuni* y *C. coli* se agruparon según su origen (pollos de carne vs gallinas de postura), lo que indica una posible segregación de estas especies según especialización al hospedero.

Se detectó una estructura clonal compartida entre humanos y fuentes aviares de Perú en *C. jejuni* y *C. coli*, con clustering entre orígenes, aunque sin evidencia de transmisión directa entre los aislados analizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aanensen, D. M., Feil, E. J., Holden, M. T. G., Dordel, J., Yeats, C. A., Fedosejev, A., Goater, R., Castillo-Ramírez, S., Corander, J., Colijn, C., Chlebowicz, M. A., Schouls, L., Heck, M., Pluister, G., Ruimy, R., Kahlmeter, G., Åhman, J., Matuschek, E., Friedrich, A. W., ... Kearns, A. (2016). Whole-genome sequencing for routine pathogen surveillance in public health: A population snapshot of invasive *Staphylococcus aureus* in Europe. *mBio*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/mBio.00444-16>
- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., & Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1–2), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
- Acke, E. (2018). Campylobacteriosis in dogs and cats: A review. *New Zealand Veterinary Journal*, 66(5), 221–228. <https://doi.org/10.1080/00480169.2018.1475268>
- Afgan, E., Baker, D., Batut, B., Van Den Beek, M., Bouvier, D., Ech, M., Chilton, J., Clements, D., Coraor, N., Grüning, B. A., Guerler, A., Hillman-Jackson, J., Hiltemann, S., Jalili, V., Rasche, H., Soranzo, N., Goecks, J., Taylor, J., Nekrutenko, A., & Blankenberg, D. (2018). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W537–W544. <https://doi.org/10.1093/nar/gky379>
- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T., Tsang, K. K., Bouchard, egane, Edalatmand, A., Huynh, W., Nguyen, A.-L. V., Cheng, A. A., Liu, S., Min, S. Y., Miroshnichenko, A., Tran, H.-K., Werfalli, R. E., Nasir, J. A., Oloni, M.,

- Speicher, D. J., Florescu, A., Singh, B., ... McArthur, A. G. (2019). CARD 2020: Antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, 48. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz935>
- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T., Tsang, K. K., Bouchard, E., Edalatmand, A., Huynh, W., Nguyen, A.-L. V., Cheng, A. A., Liu, S., Min, S. Y., Miroshnichenko, A., Tran, H.-K., Werfalli, R. E., Nasir, J. A., Oloni, M., Speicher, D. J., Florescu, A., Singh, B., ... McArthur, A. G. (2020). CARD 2020: Antibiotic resistome surveillance with the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 48, D517–D525. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz935>
- Aljazzar, A., Abd El-Hamid, M. I., El-Malt, R. M. S., El-Gharreb, W. R., Abdel-Raheem, S. M., Ibrahim, A. M., Abdelaziz, A. M., & Ibrahim, D. (2022). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter Species with Particular Focus on the Growth Promoting, Immunostimulant and Anti-Campylobacter jejuni Activities of Eugenol and Trans-Cinnamaldehyde Mixture in Broiler Chickens. *Animals*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/ani12070905>
- Anampa, D., Benites, C., Lázaro, C., Espinoza, J., Angulo, P., Díaz, D., Manchego, A., & Rojas, M. (2020). Detección del gen ermB asociado a la resistencia a macrólidos en cepas de Campylobacter aisladas de pollos comercializados en Lima, Perú. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 44, 1. <https://doi.org/10.26633/rpsp.2020.60>
- Andrews, S. (2010). *FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data*. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Argimón, S., Abudahab, K., Goater, R. J. E., Fedosejev, A., Bhai, J., Glasner, C., Feil, E. J., Holden, M. T. G., Yeats, C. A., Grundmann, H., Spratt, B. G., & Aanensen, D. M. (2016). Microreact: Visualizing and sharing data for genomic epidemiology

- and phylogeography. *Microbial Genomics*, 2(11), e000093.
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000093>
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., Lesin, V. M., Nikolenko, S. I., Pham, S., Prjibelski, A. D., Pyshkin, A. V., Sirotkin, A. V., Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M. A., & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*, 19(5), 455–477.
<https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Bloomfield, S. J., Midwinter, A. C., Biggs, P. J., French, N. P., Marshall, J. C., Hayman, D. T. S., Carter, P. E., Mather, A. E., Fayaz, A., Thornley, C., Kelly, D. J., & Benschop, J. (2021). Genomic adaptations of *Campylobacter jejuni* to long-term human colonization. *Gut Pathogens*, 13(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13099-021-00469-7>
- Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., Philippon, A., Allesoe, R. L., Rebelo, A. R., Florensa, A. F., Fagelhauer, L., Chakraborty, T., Neumann, B., Werner, G., Bender, J. K., Stingl, K., Nguyen, M., Coppens, J., Xavier, B. B., ... Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491–3500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>
- Calland, J. K., Pascoe, B., Bayliss, S. C., Mourkas, E., Berthenet, E., Thorpe, H. A., Hitchings, M. D., Feil, E. J., Corander, J., Blaser, M. J., Falush, D., & Sheppard, S. K. (2021). Quantifying bacterial evolution in the wild: A birthday problem for *Campylobacter* lineages. *PLOS Genetics*, 17(9), e1009829.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009829>

- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, *10*, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
- Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez, J. M., & Gabaldón, T. (2009). trimAl: A tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, *25*(15), 1972–1973. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp348>
- Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Larsen, M. V., Lund, O., Villa, L., Aarestrup, F. M., & Hasman, H. (2014). In Silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *58*(7), 3895–3903. <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>
- Ceuppens, S., Johannessen, G. S., Allende, A., Tondo, E. C., El-Tahan, F., Sampers, I., Jacxsens, L., & Uyttendaele, M. (2015). Risk factors for Salmonella, shiga toxin-producing Escherichia coli and Campylobacter occurrence in primary production of leafy greens and strawberries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *12*(8), 9809–9831. <https://doi.org/10.3390/ijerph120809809>
- Chan, K. F., Tran, H. L., Kanenaka, R. Y., & Kathariou, S. (2001). Survival of Clinical and Poultry-Derived Isolates of Campylobacter jejuni at a Low Temperature (4°C). *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(9), 4186–4191. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4186-4191.2001>
- Christidis, T., Pintar, K. D. M., Butler, A. J., Nesbitt, A., Thomas, M. K., Marshall, B., & Pollari, F. (2016). Campylobacter spp. Prevalence and levels in raw milk: A

- systematic review and meta-analysis. *Journal of Food Protection*, 79(10), 1775–1783. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-480>
- CLSI. (2015). *M45 Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* (3rd ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cody, A. J., Bray, J. E., Jolley, K. A., & McCarthy, N. D. (2017). Core Genome Multilocus Sequence Typing Scheme for Stable, Comparative Analyses of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Human Disease Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(7), 2086–2097.
- Cody, A. J., McCarthy, N. M., Wimalaratna, H. L., Colles, F. M., Clark, L., Bowler, I. C. J. W., Maiden, M. C. J., & Dingle, K. E. (2012). A Longitudinal 6-Year Study of the Molecular Epidemiology of Clinical *Campylobacter* Isolates in Oxfordshire, United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(10), 3193–3201. <https://doi.org/10.1128/jcm.01086-12>
- Colles, F. M., & Maiden, M. C. J. (2012). *Campylobacter* sequence typing databases: Applications and future prospects. In *Microbiology* (Vol. 158, Issue 11, pp. 2695–2709). Microbiology Society. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mic.0.062000-0>
- Dahl, L. G., Joensen, K. G., Østerlund, M. T., Kiil, K., & Nielsen, E. M. (2021). Prediction of antimicrobial resistance in clinical *Campylobacter jejuni* isolates from whole-genome sequencing data. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 40(4), 673–682. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04043-y>
- Dingle, K. E., Colles, F. M., Wareing, D. R. A., Ure, R., Fox, A. J., Bolton, F. E., Bootsma, H. J., Willems, R. J. L., Urwin, R., & Maiden, M. C. J. (2001).

- Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1), 14–23. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.1.14-23.2001>
- Dingle, K. E., McCarthy, N. D., Cody, A. J., Peto, T. E. A., & Maiden, M. C. J. (2008). Extended sequence typing of *Campylobacter* spp., United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases*, 14(10), 1620–1622. <https://doi.org/10.3201/eid1410.071109>
- Djeghout, B., Bloomfield, S. J., Rudder, S., Elumogo, N., Mather, A. E., Wain, J., & Janecko, N. (2022). Comparative genomics of *Campylobacter jejuni* from clinical campylobacteriosis stool specimens. *Gut Pathogens*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13099-022-00520-1>
- Elmi, A., Nasher, F., Dorrell, N., Wren, B., & Gundogdu, O. (2021). Revisiting *Campylobacter jejuni* Virulence and Fitness Factors: Role in Sensing, Adapting, and Competing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(February), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.607704>
- Fabre, A., Oleastro, M., Nunes, A., Santos, A., Sifré, E., Ducournau, A., Bénéjat, L., Buissonnière, A., Floch, P., Mégraud, F., Dubois, V., & Lehours, P. (2018). Whole-genome sequence analysis of multidrug-resistant campylobacter isolates: A focus on aminoglycoside resistance determinants. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(9). <https://doi.org/10.1128/JCM.00390-18>
- Farooq, A., Kim, J., Raza, S., Jang, J., Han, D., Sadowsky, M. J., & Unno, T. (2021). A hybrid DNA sequencing approach is needed to properly link genotype to phenotype in multi-drug resistant bacteria. *Environmental Pollution*, 289, 117856. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117856>
- Feldgarden, M., Brover, V., Gonzalez-Escalona, N., Frye, J. G., Haendiges, J., Haft, D. H., Hoffmann, M., Pettengill, J. B., Prasad, A. B., Tillman, G. E., Tyson, G. H., & Klimke, W. (2021). AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate

- examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Scientific Reports*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0>
- Florensa, A. F., Kaas, R. S., Clausen, P. T. L. C., Aytan-Aktug, D., & Aarestrup, F. M. (2022). ResFinder – an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. *Microbial Genomics*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000748>
- Fonseca, B. B., Fernandez, H., & Rossi, D. A. (2016). *Campylobacter Spp. And Related Organisms in Poultry: Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology*. In *Campylobacter Spp. And Related Organisms in Poultry: Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29907-5_1
- Gabbert, A. D., Mydosh, J. L., Talukdar, P. K., Gloss, L. M., McDermott, J. E., Cooper, K. K., Clair, G. C., & Konkel, M. E. (2023). The Missing Pieces: The Role of Secretion Systems in *Campylobacter jejuni* Virulence. *Biomolecules*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/biom13010135>
- García-Fernández, A., Dionisi, A. M., Arena, S., Iglesias-Torrens, Y., Carattoli, A., & Luzzi, I. (2018). Human campylobacteriosis in Italy: Emergence of multi-drug resistance to ciprofloxacin, tetracycline, and erythromycin. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01906>
- Ghielmetti, G., Seth-Smith, H. M. B., Roloff, T., Cernela, N., Biggel, M., Stephan, R., & Egli, A. (2023). Whole-genome-based characterization of *Campylobacter jejuni* from human patients with gastroenteritis collected over an 18 year period reveals

- increasing prevalence of antimicrobial resistance. *Microbial Genomics*, 9(2).
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000941>
- Guirado, P., Iglesias-Torrens, Y., Miró, E., Navarro, F., Attolini, C. S.-O., Balsalobre, C., & Madrid, C. (2022). Host-associated variability of the cdtABC operon, coding for the cytolethal distending toxin, in *Campylobacter jejuni*. *Zoonoses and Public Health*, 69(8), 966–977. <https://doi.org/10.1111/zph.12994>
- Guirado, P., Miró, E., Iglesias-torrens, Y., Navarro, F., Campoy, S., Alioto, T. S., Gómez-garrido, J., Madrid, C., & Balsalobre, C. (2022). A New Variant of the aadE-sat4-aphA-3 Gene Cluster Found in a Conjugative Plasmid from a MDR *Campylobacter jejuni* Isolate. *Antibiotics*, 11(4), 1–14.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11040466>
- Gundogdu, O., Bentley, S. D., Holden, M. T., Parkhill, J., Dorrell, N., & Wren, B. W. (2007). Re-annotation and re-analysis of the *Campylobacter jejuni* NCTC11168 genome sequence. *BMC Genomics*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-162>
- Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072–1075.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>
- Hadfield, J., Croucher, N. J., Goater, R. J., Abudahab, K., Aanensen, D. M., & Harris, S. R. (2018). Phandango: An interactive viewer for bacterial population genomics. *Bioinformatics*, 34(2), 292–293. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx610>
- Han, Z., Willer, T., Pielsticker, C., Gerzova, L., Rychlik, I., & Rautenschlein, S. (2016). Differences in host breed and diet influence colonization by *Campylobacter jejuni* and induction of local immune responses in chicken. *Gut Pathogens*, 8(1), 56.
<https://doi.org/10.1186/s13099-016-0133-1>

- Hazeleger, W. C., Wouters, J. A., Rombouts, F. M., & Abee, T. (1998). Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3917–3922. <https://doi.org/10.1128/aem.64.10.3917-3922.1998>
- He, Z., Gharaibeh, R. Z., Newsome, R. C., Pope, J. L., Dougherty, M. W., Tomkovich, S., Pons, B., Mirey, G., Vignard, J., Hendrixson, D. R., & Jobin, C. (2019). *Campylobacter jejuni* promotes colorectal tumorigenesis through the action of cytolethal distending toxin. *Gut*, 68(2), 289–300. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317200>
- Heikema, A. P., Islam, Z., Horst-Kreft, D., Huizinga, R., Jacobs, B. C., Wagenaar, J. A., Poly, F., Guerry, P., van Belkum, A., Parker, C. T., & Endtz, H. P. (2015). *Campylobacter jejuni* capsular genotypes are related to Guillain–Barré syndrome. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(9), 852.e1-852.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.05.031>
- Hermans, D., Van Deun, K., Martel, A., Van Immerseel, F., Messens, W., Heyndrickx, M., Haesebrouck, F., & Pasmans, F. (2011). Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut. *Veterinary Research*, 42(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-82>
- Heuer, H., Schmitt, H., & Smalla, K. (2011). Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Current Opinion in Microbiology*, 14(3), 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>
- Hoffmann, S., Ashton, L., Todd, J. E., Ahn, J.-W., & Berck, P. (2021). Attributing U.S. *Campylobacteriosis* Cases to Food Sources, Season, and Temperature, ERR-284. In *U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service*. U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service.

- Hull, D. M., Harrell, E., van Vliet, A. H. M., Correa, M., & Thakur, S. (2021). Antimicrobial resistance and interspecies gene transfer in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolated from food animals, poultry processing, and retail meat in North Carolina, 2018–2019. *PLoS ONE*, 16(2 February), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246571>
- Humane Farm Animal Care. (2018). *HFAC Standards for Production of Egg Laying Hens*. Humane Farm Animal Care.
- Humphrey, S., Chaloner, G., Kemmett, K., Davidson, N., Williams, N., Kipar, A., Humphrey, T., & Wigley, P. (2014). *Campylobacter jejuni* is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects bird welfare. *mBio*, 5(4), 1–7. <https://doi.org/10.1128/mBio.01364-14>
- Humphrey, T., O'Brien, S., & Madsen, M. (2007). *Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. International Journal of Food Microbiology*, 117(3), 237–257. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.006>
- Illumina Inc. (2019a). *MiSeq System Denature and Dilute Libraries Guide*. Document #15039740 v10. February 2019.
- Illumina Inc. (2019b). *MiSeq System Guide*. Document #15027617 v05. Material #20000262. August 2019.
- Illumina Inc. (2019c). *Nextera XT DNA Library Prep Reference Guide*. Document #15031942 v05. May 2019.
- Illumina Inc. (2021). *Nextera XT DNA Library Prep Reference Guide*. Document #15031942 v06. August 2021.
- Inglis, G. D., Ramezani, N., Taboada, E. N., Boras, V. F., & Uwiera, R. R. E. (2021). Analysis of *Campylobacter jejuni* Subtype Distribution in the Chicken Broiler

- Production Continuum: A Longitudinal Examination To Identify Primary Contamination Points. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(3).
<https://doi.org/10.1128/AEM.02001-20>
- Jang, K. I., Kim, M. G., Ha, S. D., Kim, K. S., Lee, K. H., Chung, D. H., Kim, C. H., & Kim, K. Y. (2007). Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2), 202–206.
- Jolley, K. A., Bliss, C. M., Bennett, J. S., Bratcher, H. B., Brehony, C., Colles, F. M., Wimalarathna, H., Harrison, O. B., Sheppard, S. K., Cody, A. J., & Maiden, M. C. J. (2012). Ribosomal multilocus sequence typing: Universal characterization of bacteria from domain to strain. *Microbiology*, 158(4), 1005–1015.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.055459-0>
- Jolley, K. A., Bray, J. E., & Maiden, M. C. J. (2018). Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Research*, 3(0), 124.
<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
- Larsen, M. V. (2013). Internet-based solutions for analysis of next-generation sequence data. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(9), 3162.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01348-13>
- Lázaro, C. A., Conte-Junior, C. A., Vilca, M. A., Lucas, J. R., Ramos, D. D., Manchego, A., Chiok, K. R. L., & Franco, R. M. (2012). Molecular identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from smallscale poultry slaughterhouse in Lima, Peru. *International Journal of Poultry Science*, 11(11), 677–882.

- Lin, J., Michel, L. O., & Zhang, Q. (2002). CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(7), 2124–2131. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.7.2124-2131.2002>
- Lucas, J. L., Vilca, M. L., & Ramos, D. R. (2013). Presence of *Campylobacter* spp in poultry meat and cecum in Lima, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(3), 346–352. <https://doi.org/10.15381/rivep.v24i3.2583>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Maiden, M. C. J., & Harrison, O. B. (2016). Population and Functional Genomics of *Neisseria* Revealed with Gene-by-Gene Approaches. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(8), 1949–1955. <https://doi.org/10.1128/JCM.00301-16>
- Maiden, M. C., Jansen van Rensburg, M. J., Bray, J. E., Earle, S. G., Ford, S. A., Jolley, K. A., & McCarthy, N. D. (2013). MLST revisited: The gene-by-gene approach to bacterial genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 11(10), 728–736. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3093>.MLST
- Man, S. M. (2011). The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 8(12), 669–685. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.191>
- Marasini, D., Karki, A. B., Buchheim, M. A., & Fakhr, M. K. (2018). Phylogenetic Relatedness Among Plasmids Harbored by *Campylobacter jejuni* and

- Campylobacter coli Isolated From Retail Meats. *Frontiers in Microbiology*, 9(September), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02167>
- McKenna, A., Ijaz, U. Z., Kelly, C., Linton, M., Sloan, W. T., Green, B. D., Lavery, U., Dorrell, N., Wren, B. W., Richmond, A., Corcionivoschi, N., & Gundogdu, O. (2020). Impact of industrial production system parameters on chicken microbiomes: Mechanisms to improve performance and reduce Campylobacter. *Microbiome*, 8(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00908-8>
- Meldrum, R. J., Griffiths, J. K., Smith, R. M. M., & Evans, M. R. (2005). The seasonality of human campylobacter infection and Campylobacter isolates from fresh, retail chicken in Wales. *Epidemiology and Infection*, 133(1), 49–52. <https://doi.org/10.1017/S0950268804003188>
- MINAGRI. (2018). *Boletín Estadístico Mensual de la Producción y Comercialización de Productos Avícolas* (p. 27). Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). <https://www.minagri.gob.pe/portal/boletin-estadistico-mensual-de-la-produccion-y-comercializacion-avicola/sector-avicola-2018>
- MINSA. (2017). *Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2017-2021* (pp. 94–94) [Letter]. <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/UpLoaded/PDF/Acceso/URM/GestionURMTrabSalud/ReunionTecnica/VIII/Dia2/Antimicrobianos/PlanNacionalATM-2017-2021.pdf>
- MINSA. (2019). *Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos 2019-2021* (p. 122). MINSA.
- Morita, D., Arai, H., Isobe, J., Maenishi, E., Kumagai, T., Maruyama, F., & Kuroda, T. (2023). Whole-Genome and Plasmid Comparative Analysis of Campylobacter

- jejuni from Human Patients in Toyama, Japan, from 2015 to 2019. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e02659-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02659-22>
- Mourkas, E., Florez-Cuadrado, D., Pascoe, B., Calland, J. K., Bayliss, S. C., Mageiros, L., Méric, G., Hitchings, M. D., Quesada, A., Porrero, C., Ugarte-Ruiz, M., Gutiérrez-Fernández, J., Domínguez, L., & Sheppard, S. K. (2019). *Gene pool transmission of multidrug resistance among Campylobacter from livestock, sewage and human disease*. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14760>
- Mourkas, E., Taylor, A. J., Méric, G., Bayliss, S. C., Pascoe, B., Mageiros, L., Calland, J. K., Hitchings, M. D., Ridley, A., Vidal, A., Forbes, K. J., Strachan, N. J. C., Parker, C. T., Parkhill, J., Jolley, K. A., Cody, A. J., Maiden, M. C. J., Kelly, D. J., & Sheppard, S. K. (2020). Agricultural intensification and the evolution of host specialism in the enteric pathogen *Campylobacter jejuni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(20), 11018–11028. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917168117>
- Moya-Salazar, J., Terán-Vásquez, A., & Salazar-Hernández, R. (2018). High-antimicrobial resistance to fluoroquinolones by *Campylobacter* in pediatric patients in a Peruvian hospital. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(1), 156–158. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3607>
- Mullner, P., Spencer, S. E. F., Wilson, D. J., Jones, G., Noble, A. D., Midwinter, A. C., Collins-Emerson, J. M., Carter, P., Hathaway, S., & French, N. P. (2009). Assigning the source of human campylobacteriosis in New Zealand: A comparative genetic and epidemiological approach. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6), 1311–1319. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.09.003>
- Munayco, C. V., Gavilan, R. G., Ramirez, G., Loayza, M., Miraval, M. L., Whitehouse, E., Gharpure, R., Soares, J., Soplopucó, H. V., & Sejvar, J. (2020). Large

- Outbreak of Guillain-Barré Syndrome, Peru, 2019. *Emerging Infectious Diseases*, 26(11), 2018–2020.
- Murray, M., Salvatierra, G., Dávila-Barclay, A., Ayzanoa, B., Castillo-Vilcahuaman, C., Huang, M., Pajuelo, M. J., Lescano, A. G., Cabrera, L., Calderón, M., Berg, D. E., Gilman, R. H., & Tsukayama, P. (2021). Market Chickens as a Source of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in a Peri-Urban Community in Lima, Peru. *Frontiers in Microbiology*, 12, 635871. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635871>
- Nelson, J. M., Chiller, T. M., Powers, J. H., & Angulo, F. J. (2007). Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: A public health success story. *Clinical Infectious Diseases*, 44(7), 977–980. <https://doi.org/10.1086/512369>
- Newell, D. G., & Fearnley, C. (2003). Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4343–4351. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.4343-4351.2003>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- OECD. (2023). *Embracing a One Health Framework to Fight Antimicrobial Resistance*. OECD. <https://doi.org/10.1787/ce44c755-en>
- Ogunlana, L., Kaur, D., Shaw, L. P., Jangir, P., Walsh, T., Uphoff, S., & MacLean, R. C. (2023). Regulatory fine-tuning of *mcr-1* increases bacterial fitness and stabilises antibiotic resistance in agricultural settings. *The ISME Journal*, 17(11), 2058–2069. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01509-7>

- Page, A. J., Cummins, C. A., Hunt, M., Wong, V. K., Reuter, S., Holden, M. T. G., Fookes, M., Falush, D., Keane, J. A., & Parkhill, J. (2015). Roary: Rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*, *31*(22), 3691–3693. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv421>
- Parker, C. T., Schiaffino, F., Huynh, S., Paredes Olortegui, M., Peñataro Yori, P., Garcia Bardales, P. F., Pinedo Vasquez, T., Curico Huansi, G. E., Manzanares Villanueva, K., Shapiama Lopez, W. V., Cooper, K. K., & Kosek, M. N. (2022). Shotgun metagenomics of fecal samples from children in Peru reveals frequent complex co-infections with multiple *Campylobacter* species. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *16*(10), e0010815. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010815>
- Parkhill, J., Wren, B. W., Mungall, K., Ketley, J. M., & Churcher, C. (2000). The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature*, *403*(6770), 665–668. <https://doi.org/10.1038/35001088>
- Pascoe, B., Schiaffino, F., Murray, S., Méric, G., Bayliss, S. C., Hitchings, M. D., Mourkas, E., Calland, J. K., Burga, R., Yori, P. P., Jolley, K. A., Cooper, K. K., Parker, C. T., Olortegui, M. P., Kosek, M. N., & Sheppard, S. K. (2020). Genomic epidemiology of *campylobacter jejuni* associated with asymptomatic pediatric infection in the peruvian amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *14*(8), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008533>
- Patrick, M. E., Henao, O. L., Robinson, T., Geissler, A. L., Cronquist, A., Hanna, S., Hurd, S., Medalla, F., Pruckler, J., & Mahon, B. E. (2018). Features of illnesses caused by five species of *Campylobacter*, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet)—2010-2015. *Epidemiology and Infection*, *146*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002370>

- Patrone, V., Campana, R., Vallorani, L., Dominici, S., Federici, S., Casadei, L., Gioacchini, A. M., Stocchi, V., & Baffone, W. (2013). CadF expression in *Campylobacter jejuni* strains incubated under low-temperature water microcosm conditions which induce the viable but non-culturable (VBNC) state. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, *103*(5), 979–988. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9877-5>
- Pearson, B. M., Assaf, R., Crossman, L. C., Miller, W. G., Wain, J., & van Vliet, A. H. M. (2013). Complete Genome Sequence of the *Campylobacter coli* Clinical Isolate 15-537360. *Genome Announcements*, *1*(6), e01056-13. <https://doi.org/10.1371/journal>
- Pollett, S., Rocha, C., Zerpa, R., Patiño, L., Valencia, A., Camiña, M., Guevara, J., Lopez, M., Chuquiray, N., Salazar-Lindo, E., Calampa, C., Casapia, M., Meza, R., Bernal, M., Tilley, D., Gregory, M., Maves, R., Hall, E., Jones, F., ... Kasper, M. (2012). *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: A ten-year observational study. *BMC Infectious Diseases*, *12*, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-193>
- Prinzinger, R., Preßmar, A., & Schleucher, E. (1991). Body temperature in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, *99*(4), 499–506. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90122-S](https://doi.org/10.1016/0300-9629(91)90122-S)
- Quino, W., Caro-Castro, J., Hurtado, V., Flores-León, D., Gonzalez-Escalona, N., & Gavilan, R. G. (2022). Genomic Analysis and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Peru. *Frontiers in Microbiology*, *12*(January), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.802404>

- Quino, W., Caro-castro, J., Mestanza, O., Hurtado, V., Zamudio, L., & Cruz-gonzales, G. (2019). *Emergence and Molecular Epidemiology of Campylobacter jejuni ST-2993 Associated with a Large Outbreak of Guillain-Barré*.
- Ramos, A. P., Leonhard, S. E., Halstead, S. K., Cuba, M. A., Castañeda, C. C., Dioses, J. A., Tipismana, M. A., Abanto, J. T., Llanos, A., Gourlay, D., Grogl, M., Ramos, M., Rojas, J. D., Meza, R., Puiu, D., Sherman, R. M., Salzberg, S. L., Simner, P. J., Willison, H. J., ... Pardo, C. A. (2021a). Guillain-Barré Syndrome Outbreak in Peru 2019 Associated With *Campylobacter jejuni* Infection. *Neurology, Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 8(2). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000952>
- Ramos, A. P., Leonhard, S. E., Halstead, S. K., Cuba, M. A., Castañeda, C. C., Dioses, J. A., Tipismana, M. A., Abanto, J. T., Llanos, A., Gourlay, D., Grogl, M., Ramos, M., Rojas, J. D., Meza, R., Puiu, D., Sherman, R. M., Salzberg, S. L., Simner, P. J., Willison, H. J., ... Pardo, C. A. (2021b). Guillain-Barré Syndrome Outbreak in Peru 2019 Associated With *Campylobacter jejuni* Infection. *Neurology, Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 8(2). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000952>
- Resolución Directoral N° 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA. (2019). *Diario El Peruano*.
- Schiaffino, F., Colston, J. M., Paredes-Olortegui, M., François, R., Pisanic, N., Burga, R., Peñataro-Yori, P., & Kosek, M. N. (2019). Antibiotic resistance of *Campylobacter* species in a pediatric cohort study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(2). <https://doi.org/10.1128/AAC.01911-18>
- Schiaffino, F., Parker, C. T., Paredes Olortegui, M., Pascoe, B., Manzanares Villanueva, K., Garcia Bardales, P. F., Mourkas, E., Huynh, S., Peñataro Yori, P., Romaina

- Cachique, L., Gray, H. K., Salvatierra, G., Silva Delgado, H., Sheppard, S. K., Cooper, K. K., & Kosek, M. N. (2024). Genomic resistant determinants of multidrug-resistant *Campylobacter* spp. Isolates in Peru. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 36, 309–318.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.01.009>
- Sebald, M., & Véron, M. (1963). Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Ann. Inst. Pasteur*, 105, 897–910.
- Seemann, T. (2014). Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. *Genome Analysis*, 30(14), 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Seemann, T. (2016). *Abricate*. <https://github.com/tseemann/abricate>
- Seemann, T., Goncalves da Silva, A., Bulach, D., Schultz, M., Kwong, J., & Howden, B. (2016). *Nullarbor*. <https://github.com/tseemann/nullarbor>
- Seemann, T., Klötzl, F., & Terhorst, J. (2021). *Snp-dists*. <https://github.com/tseemann/snp-dists>
- SENASA Perú. (2021). *Campylobacter jejuni* y *C. coli* en carne de aves de corral, Perú (Versión 01; Perfil de Riesgo, p. 47). Unidad de Evaluación de Riesgos de Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos, SENASA.
- Sharifi, S., Bakhshi, B., & Najar-peerayeh, S. (2021). Significant contribution of the CmeABC Efflux pump in high-level resistance to ciprofloxacin and tetracycline in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1186/s12941-021-00439-6>
- Shen Zhangqi, Wang Yang, Zhang Qijing, & Shen Jianzhong. (2018). Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. *Microbiology Spectrum*, 6(2),

10.1128/microbiolspec.arba-0013–2017.

<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0013-2017>

Sheppard, S. K., Didelot, X., Meric, G., Torralbo, A., Jolley, K. A., Kelly, D. J., Bentley, S. D., Maiden, M. C. J., Parkhill, J., & Falush, D. (2013). Genome-wide association study identifies vitamin B5 biosynthesis as a host specificity factor in *Campylobacter*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), 11923–11927.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1305559110>

Sheppard, S. K., & Maiden, M. C. J. (2015). The evolution of *campylobacter jejuni* and *campylobacter coli*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), 1–14.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018119>

Signorini, M. L., Rossler, E., Díaz David, D. C., Olivero, C. R., Romero-Scharpen, A., Soto, L. P., Astesana, D. M., Berisvil, A. P., Zimmermann, J. A., Fusari, M. L., Frizzo, L. S., & Zbrun, M. V. (2018). Antimicrobial resistance of thermotolerant *campylobacter* species isolated from humans, food-producing animals, and products of animal origin: A worldwide meta-analysis. *Microbial Drug Resistance*, 24(8), 1174–1190. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0310>

Stafford, R. J., Schluter, P. J., Wilson, A. J., Kirk, M. D., Hall, G., Dalton, C., Merritt, T., Ashbolt, R., Sault, C., Gregory, J., Bell, R., Givney, R., Raupach, J., Combs, B., Mwanri, L., Musto, J., Tomaska, N., Millard, G., Sarna, M., ... McKay, I. (2001). *Population-Attributable Risk Estimates for Risk Factors Associated with Campylobacter Infection, Australia Leanne Unicomb, and the OzFoodNet Working Group*. 14(6), 895–901.

- Svensson, S., Fridrich, E., & Gaynor, E. (2008). Survival strategies of *Campylobacter jejuni*: Stress responses, the viable but nonculturable state, and biofilms. In I. Nachamkin, C. Szymanski, & M. Blaser (Eds.), *Campylobacter* (pp. 571–590).
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersen, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., ... Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Tang, Y., Sahin, O., Pavlovic, N., Lejeune, J., Carlson, J., Wu, Z., Dai, L., & Zhang, Q. (2017). Rising fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* isolated from feedlot cattle in the United States. *Scientific Reports*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00584-z>
- The Galaxy Community. (2022). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W345–W351. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/nar/gkac247>
- Thépault, A., Guillaume, M., Rivoal, K., Pascoe, B., Mageiros, L., Touzain, F., Chemaly, M., & Sheppard, S. K. (2017). Segregating Epidemiological Markers for Source Attribution in *Campylobacter*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(7), 1–13.
- Thermo Fisher Scientific. (2016). *Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit #K0721, #K0722*. MAN0012663. Rev. Date 12 October 2016 (Rev. B.00).

- Tikhomirova, A., McNabb, E. R., Petterlin, L., Bellamy, G. L., Lin, K. H., Santoso, C. A., Daye, E. S., Alhaddad, F. M., Lee, K. P., & Roujeinikova, A. (2024). *Campylobacter jejuni* virulence factors: Update on emerging issues and trends. *Journal of Biomedical Science*, 31(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12929-024-01033-6>
- Uddin, M. N., Neogi, S. B., Islam, S. S., Ferdous, J., Khan, M. S. R., Yamasaki, S., & Kabir, S. M. L. (2021). Occurrence and multidrug resistance of *Campylobacter* spp. At duck farms and associated environmental and anthropogenic risk factors in Bangladesh. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 1139. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06834-w>
- University of Oxford & Food Standards Agency. (2019). *Enhanced molecular-based (MLST / whole genome) surveillance and source attribution of Campylobacter infections in the UK*. Food Standards Agency (FSA).
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N. G., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- And middle-income countries. *Science*, 365(6459). <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>
- Veltcheva, D., Colles, F. M., Varga, M., Maiden, M. C. J., & Bonsall, M. B. (2022). Emerging patterns of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in the UK [1998-2018. *Microbial Genomics*, 8(9), 1–9. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000875>
- Véron, M., & Chatelain, R. (1973). Taxonomic Study of the Genus *Campylobacter* Sebald and Veron and Designation of the Neotype Strain for the Type Species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Veron. *International Journal*

- of Systematic Bacteriology*, 23(2), 122–134. <https://doi.org/10.1099/00207713-23-2-122>
- Vliet, A. H. M. van, Thakur, S., Prada, J. M., Mehat, J. W., & Ragione, R. M. L. (2022). Genomic Screening of Antimicrobial Resistance Markers in UK and US *Campylobacter* Isolates Highlights Stability of Resistance over an 18-Year Period. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(5), e01687-21. <https://doi.org/10.1128/aac.01687-21>
- Walker, L. J., Wallace, R. L., Smith, J. J., Graham, T., Saputra, T., Symes, S., Stylianopoulos, A., Polkinghorne, B. G., Kirk, M. D., & Glass, K. (2019). Prevalence of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in retail chicken, beef, lamb, and pork products in three Australian States. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2126–2134. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-146>
- Wallden, K., Rivera-Calzada, A., & Waksman, G. (2010). Type IV secretion systems: Versatility and diversity in function. *Cellular Microbiology*, 12(9), 1203–1212. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01499.x>
- Wang, W. L., Luechtefeld, N. W., Blaser, M. J., Barth, L., & Al, W. E. T. (1982). Comparison of CampyPak LI with Standard 5 % Oxygen and Candle Jars for Growth of *Campylobacter jejuni* from Human Feces. 16(2), 291–294.
- Williams, L., Fonseca, B., & Humphrey, T. (2016). *Campylobacter jejuni* in Poultry: A Commensal or a Pathogen? In B. B. Fonseca, H. Fernandez, & D. A. Rossi (Eds.), *Campylobacter Spp. And Related Organisms in Poultry: Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology* (pp. 75–87). Springer.
- World Health Organization. (2024). *WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: Bacterial Pathogens of Public Health Importance, to Guide Research,*

Development, and Strategies to Prevent and Control Antimicrobial Resistance.
World Health Organization.

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organisation for Animal Health. (2023). *A one health priority research agenda for antimicrobial resistance.* World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organisation for Animal Health.

Yahara, K., Méric, G., Taylor, A. J., de Vries, S. P. W., Murray, S., Pascoe, B., Mageiros, L., Torralbo, A., Vidal, A., Ridley, A., Komukai, S., Wimalarathna, H., Cody, A. J., Colles, F. M., McCarthy, N., Harris, D., Bray, J. E., Jolley, K. A., Maiden, M. C. J., ... Sheppard, S. K. (2017). Genome-wide association of functional traits linked with *Campylobacter jejuni* survival from farm to fork. *Environmental Microbiology*, 19(1), 361–380. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13628>

Yao Hong, Shen Zhangqi, Wang Yang, Deng Fengru, Liu Dejun, Naren Gaowa, Dai Lei, Su Chih-Chia, Wang Bing, Wang Shaolin, Wu Congming, Yu Edward W., Zhang Qijing, & Shen Jianzhong. (2016). Emergence of a Potent Multidrug Efflux Pump Variant That Enhances *Campylobacter* Resistance to Multiple Antibiotics. *mBio*, 7(5), 10.1128/mbio.01543-16. <https://doi.org/10.1128/mbio.01543-16>

Zang, X., Lv, H., Tang, H., Jiao, X., & Huang, J. (2021). Capsular Genotype and Lipooligosaccharide Class Associated Genomic Characterizations of *Campylobacter jejuni* Isolates From Food Animals in China. *Frontiers in Microbiology*, Volume 12-2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.775090>

Zhao, S., Tyson, G. H., Chen, Y., Li, C., Mukherjee, S., Young, S., Lam, C., Folster, J. P., Whichard, J. M., & McDermott, P. F. (2016). Whole-genome sequencing

analysis accurately predicts antimicrobial resistance phenotypes in *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(2), 459–466. <https://doi.org/10.1128/AEM.02873-15>

Zhou, Z., Alikhan, N. F., Sergeant, M. J., Luhmann, N., Vaz, C., Francisco, A. P., Carriço, J. A., & Achtman, M. (2018). Grapetree: Visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome Research*, 28(9), 1395–1404. <https://doi.org/10.1101/gr.232397.117>

ANEXOS.

Anexo 1: Cuadro. Resultados de evaluación de calidad de los ensamblados del estudio (n=30) según QUASt.

Anexo 2: Cuadro. Identificación de especie y nivel de predicción a partir de la identificación de los 53 alelos rMLST vinculados a los genomas.

Anexo 3: Cuadro. Resultados de tipificación alélica según esquema MLST para *Campylobacter jejuni/coli*.

Anexo 4: Cuadro. Distribución del total de genes de virulencia presentes en aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

Anexo 5: Cuadro. Distribución de complejos clonales (CC), secuenciotipos (ST), secuenciotipos ribosomales (rST), perfiles de resistencia antimicrobiana fenotípica predicha y genes de resistencia.

Anexo 6: Cuadro. Distribución de complejos clonales (CC), secuenciotipos (ST), secuenciotipos ribosomales (rST) y genes de virulencia selectos.

Anexo 7: Cuadro. Relación de códigos de aislados de *C. jejuni* utilizados para la construcción del árbol filogenético de la Figura 8.

Anexo 8: Cuadro. Relación de códigos de aislados de *C. coli* utilizados para la construcción del árbol filogenético de la Figura 9.

Anexo 1: Resultados de evaluación de calidad de los ensamblados del estudio (n=30) según QUASt

ID	Número de contigs	Largo Total del ensamblado (pb)	GC (%)	N50	Número de N's por 100 kpb)
395	83	1787913	30.18	103124	0
399	57	1768682	30.15	103002	0
400	47	1771005	30.12	261404	0
403	67	1843814	30.06	129838	0
404	104	1842200	30.08	79781	0
405	70	1789704	30.13	148774	0
407	58	1809749	30.10	106816	0
408	79	1816781	30.08	92512	0
411	48	1775673	30.12	157082	0
416	50	1770132	30.13	261093	0
417	56	1770900	30.13	140944	0
500	197	1733990	30.34	18567	0
504	151	1787333	30.18	42668	0
513	46	1704573	31.37	141263	0
517	58	1600890	30.44	61817	0
521	666	1874788	31.32	4895	0
524	130	1924081	31.05	129758	0
527	345	4457881	35.22	28432	0
528	59	1842539	31.07	114093	0
529	81	1797124	31.36	113838	0
530	187	1847283	31.27	42963	0
532	28	1692543	31.30	144899	0
533	1000	2177796	30.03	2990	0
535	32	1787497	31.11	211267	0
536	35	1605892	30.43	107278	0
537	14	1698004	31.36	218504	0
545	56	1848849	31.10	90487	0
546	58	1844079	31.06	138355	0
1012	40	1714531	30.27	118145	0
1016	49	1819006	30.10	121795	0

Resultados según análisis de archivos FASTA por QUASt v5.2.0; pb: par de bases

(Fin del cuadro)

Anexo 2: Identificación de especie y nivel de predicción a partir de la identificación de los 53 alelos rMLST vinculados a los genomas

ID	Respaldo	rST	Especie
395	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
399	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
400	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
403	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
404	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
405	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
407	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
408	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
411	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
416	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
417	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
500	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
504	100%	53771	<i>Campylobacter jejuni</i>
513	100%	19769	<i>Campylobacter coli</i>
517	100%	16869	<i>Campylobacter jejuni</i>
521	95%	ND	<i>Campylobacter coli</i>
524	96%	120179	<i>Campylobacter coli</i>
527	80%	120179	<i>Campylobacter coli</i>
528	96%	120180	<i>Campylobacter coli</i>
529	100%	120181	<i>Campylobacter coli</i>
530	96%	ND	<i>Campylobacter coli</i>
532	96%	120183	<i>Campylobacter coli</i>
533	100%	ND	<i>Campylobacter jejuni</i>
535	92%	192365	<i>Campylobacter coli</i>
536	100%	16869	<i>Campylobacter jejuni</i>
537	100%	25749	<i>Campylobacter coli</i>
545	96%	120179	<i>Campylobacter coli</i>
546	96%	120180	<i>Campylobacter coli</i>
1012	100%	109884	<i>Campylobacter jejuni</i>
1016	100%	183386	<i>Campylobacter jejuni</i>

Resultados según análisis de PubMLST, ordenados según códigos de los aislados; Los porcentajes de respaldo corresponden al nivel de coincidencia con los alelos de genomas que conforman la base de datos de rMLST en PubMLST/BIGSdb; Abreviaturas: ID: código del aislado; rST: secuenciotipo ribosomal; ND: no determinado

(Fin del cuadro)

Anexo 3: Resultados de tipificación alélica según esquema MLST para *Campylobacter jejuni/coli*

ID	<i>aspA</i>	<i>glnA</i>	<i>gltA</i>	<i>glyA</i>	<i>pgm</i>	<i>tkt</i>	<i>uncA</i>	ST	CC
395	8	2	5	53	11	3	1	607	607
399	8	2	5	53	11	3	1	607	607
400	8	2	5	53	11	3	1	607	607
403	8	2	5	53	11	3	1	607	607
404	8	2	5	53	11	3	1	607	607
405	8	2	5	53	11	3	1	607	607
407	8	2	5	53	11	3	1	607	607
408	8	2	5	53	11	3	1	607	607
411	8	2	5	53	11	3	1	607	607
416	8	2	5	53	11	3	1	607	607
417	8	2	5	53	11	3	1	607	607
500	8	2	5	53	11	3	1	607	607
504	8	2	5	53	11	3	1	607	607
513	33	39	30	82	113	47	17	825	828
517	3	1	5	10	11	11	6	3720	49
521	103	110	-	140	210	-	79	ND	ND
524	103	110	103	140	210	786	79	10611	1150
527	103	110	103	140	210	786	79	10611	1150
528	103	110	103	140	210	786	79	10611	1150
529	103	39	30	82	113	47	17	10617	828
530	-	-	30	-	113	47	17	ND	ND
532	33	39	30	140	113	47	17	5123	828
533	-	2	2;5	2;53	11	3;5	-	ND	ND
535	103	110	30	140	210	-	79	ND	ND
536	3	1	5	10	11	11	6	3720	49
537	33	39	30	82	113	47	17	825	828
545	103	110	103	140	210	786	79	10611	1150
546	103	110	103	140	210	786	79	10611	1150
1012	7	2	5	10	11	3	6	6888	353
1016	8	2	5	53	1340	3	1	12074	607

Resultados según análisis de PubMLST, ordenados según códigos de los aislados.

Abreviaturas: ID: código del aislado; CC: complejo clonal; ST: secuenciotipo; ND: no determinado; - : valor en blanco, no asignado.

(Fin del cuadro)

Anexo 4: Distribución del total de genes de virulencia presentes en aislados de *Campylobacter* spp. de gallinas de postura y pollos de carne de la Región Lima.

Grupo Funcional	Gen	Gallina de postura	Pollo de carne	Total
Adhesión	<i>cadF</i>	14	15	29
	<i>jlpA</i>	3	15	18
	<i>pebA</i>	14	15	29
Capsular	<i>Cj1135</i>	5	1	6
	<i>Cj1416c</i>	10	15	25
	<i>Cj1417c</i>	9	15	24
	<i>Cj1419c</i>	11	15	26
	<i>Cj1420c</i>	10	15	25
	<i>Cj1421c</i>	1	0	1
	<i>Cj1426c</i>	1	0	1
	<i>Cj1427c</i>	3	1	4
	<i>Cj1432c</i>	1	0	1
	<i>Cj1435c</i>	1	0	1
	<i>Cj1436c</i>	1	0	1
	<i>Cj1437c</i>	1	0	1
	<i>Cj1440c</i>	1	0	1
	<i>cysC</i>	11	15	26
	<i>fcl</i>	1	1	2
	<i>glf</i>	1	0	1
	<i>gmhA2</i>	12	14	26
	<i>hddA</i>	12	14	26
	<i>hddC</i>	10	14	24
	<i>hldD</i>	16	15	31
	<i>kfiD</i>	1	0	1
	<i>kpsC</i>	8	15	23
	<i>kpsD</i>	12	15	27
	<i>kpsE</i>	11	15	26
	<i>kpsF</i>	17	15	32
	<i>kpsM</i>	15	15	30
	<i>kpsS</i>	15	15	30
	<i>kpsT</i>	16	15	31
	<i>rfbC</i>	6	14	20
Invasión	<i>ciaB</i>	15	14	29
	<i>ciaC</i>	15	15	30
LOS	<i>gmhA</i>	16	15	31
	<i>gmhB</i>	15	15	30
	<i>hldE</i>	16	15	31
	<i>htrB</i>	10	15	25

	<i>waaC</i>	15	15	30
	<i>waaF</i>	16	15	31
	<i>waaV</i>	16	15	31
MOMP	<i>porA</i>	0	11	11
	<i>eptC</i>	4	15	19
	<i>flaA</i>	2	0	2
	<i>flaB</i>	2	0	2
	<i>flaC</i>	14	15	29
	<i>flaD</i>	14	15	29
	<i>flaG</i>	15	15	30
	<i>flgA</i>	2	15	17
	<i>flgB</i>	15	15	30
	<i>flgC</i>	14	15	29
	<i>flgD</i>	14	15	29
	<i>flgE</i>	22	15	37
	<i>flgF</i>	15	15	30
	<i>flgG</i>	15	15	30
	<i>flgH</i>	14	15	29
	<i>flgI</i>	14	15	29
	<i>flgJ</i>	16	15	31
	<i>flgK</i>	14	15	29
	<i>flgM</i>	16	15	31
	<i>flgP</i>	15	15	30
	<i>flgQ</i>	15	15	30
	<i>flgR</i>	14	15	29
	<i>flgS</i>	15	15	30
Motilidad	<i>flhA</i>	14	15	29
	<i>flhB</i>	14	15	29
	<i>flhF</i>	13	15	28
	<i>flhG</i>	14	15	29
	<i>fliA</i>	15	15	30
	<i>fliD</i>	13	15	28
	<i>fliE</i>	14	15	29
	<i>fliF</i>	14	15	29
	<i>fliG</i>	14	15	29
	<i>fliH</i>	2	15	17
	<i>fliI</i>	15	29	14
	<i>fliK</i>	3	14	17
	<i>fliL</i>	14	15	29
	<i>fliM</i>	14	15	29
	<i>fliN</i>	15	15	30
	<i>fliP</i>	15	15	30
	<i>fliQ</i>	15	15	30
	<i>fliR</i>	15	15	30
	<i>fliS</i>	15	15	30
	<i>fliW</i>	15	15	30
	<i>fliY</i>	14	15	29
	<i>maf4</i>	11	12	23

	<i>motA</i>	15	15	30
	<i>motB</i>	2	15	17
	<i>pflA</i>	14	15	29
	<i>pseA</i>	16	15	31
	<i>pseB</i>	16	15	31
	<i>pseC</i>	14	15	29
	<i>pseD/maf2</i>	6	9	15
	<i>pseE/maf5</i>	13	15	28
	<i>pseF</i>	19	15	34
	<i>pseG</i>	15	15	30
	<i>pseH</i>	15	15	30
	<i>pseI</i>	16	15	31
	<i>ptmA</i>	15	15	30
	<i>ptmB</i>	15	15	30
	<i>rpoN</i>	15	15	30
Quimiotaxis	<i>cheA</i>	14	15	29
	<i>cheV</i>	15	15	30
	<i>cheW</i>	15	15	30
	<i>cheY</i>	15	15	30
T4SS	<i>Cjp54</i>	1	0	1
	<i>virB10</i>	1	0	1
	<i>virB11</i>	1	0	1
	<i>virB4</i>	1	0	1
	<i>virB8</i>	1	0	1
	<i>virB9</i>	1	0	1
	<i>virD4</i>	1	0	1
Toxina	<i>cdtA</i>	2	15	17
	<i>cdtB</i>	2	15	17
	<i>cdtC</i>	3	15	18

Abreviaturas: LOS: Lipo-oligosacárido; MOMP: Principal proteína de membrana externa; T4SS: Sistema de secreción tipo IV.

(Fin del cuadro)

Anexo 5: Distribución de complejos clonales (CC), secuenciotipos (ST), secuenciotipos ribosomales (rST), perfiles de resistencia antimicrobiana fenotípica predicha y genes de resistencia

Origen	Especie	CC	ST	rST	ID	AMR fenotípica predicha							Genes AMR														
						KAN	STR	AMP	CIP	NA	TET	MDR	<i>aad(6)</i>	<i>aad9</i>	<i>ant(6)-Ia</i>	<i>aph(2'')-If</i>	<i>aph(3')-</i>	<i>spw</i>	<i>blaOXA-</i>	<i>blaOXA-193</i>	<i>blaOXA-</i>	<i>blaOXA-</i>	<i>gyrA</i>	<i>sat-4</i>	<i>tetO</i>	<i>cmeA</i>	<i>cmeB</i>
Gallina de postura	<i>Campylobacter coli</i>	CC-1150	ST-10611	120179	524	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
				120179	527	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
				120180	528	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
				120179	545	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
				120180	546	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
		CC-828	ST-825	19769	513	N R	N R	R	N R	N R	R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
				25749	537	N R	N R	R	N R	N R	R	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	
			ST-10617	120181	529	R	R	R	N R	N R	R	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
				ST-5123	120183	532	N R	N R	R	N R	N R	R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
			CC	N	ST ND	ND	521	R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+

Pollo de carne	<i>C. jejuni</i>	CC-49	ST-3720	ND	530	N R	N R	R	N R	N R	R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
				192365	535	N R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
				16869	517	R	N R	R	R	R	N R	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
				16869	536	R	N R	R	R	R	N R	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
				CC ND	ST ND	ND	533	N R	N R	R	N R	N R	N R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>Campylobacter jejuni</i>	CC-607	ST-607	53771	395	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	399	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	400	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	403	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	404	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	405	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	407	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	408	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
			53771	411	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	

CC-353	ST-12074	53771	416	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
		53771	417	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
		53771	500	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
		53771	504	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	ST-6888	109884	1012	R	N R	R	R	R	N R	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

ND: No determinado; CC: Complejo clonal; ST: Secuenciotipo; CN: gentamicina, STR: estreptomicina; AMP: ampicilina; CIP: ciprofloxacina; NA: ácido nalidíxico; TET: tetraciclina; MDR: Multidrogorresistente; NR: No resistente; R: Resistente; AMR: Resistencia Antimicrobiana; +: Presente; -: Ausente

(Fin del cuadro)

Anexo 6: Distribución de complejos clonales (CC), secuenciotipos (ST), secuenciotipos ribosomales (rST) y genes de virulencia selectos.

Origen	Especie	CC	ST	rST	ID	Principales genes de virulencia																								
						<i>cadF</i>	<i>hddA</i>	<i>hddC</i>	<i>kpsC</i>	<i>ciaB</i>	<i>gmhA</i>	<i>waaF</i>	<i>flaA</i>	<i>flaB</i>	<i>flgB</i>	<i>flhA</i>	<i>fliA</i>	<i>motA</i>	<i>motB</i>	<i>rpoN</i>	<i>porA</i>	<i>cheA</i>	<i>cheV</i>	<i>cheW</i>	<i>cheY</i>	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	<i>cdtC</i>	<i>virB11</i>	<i>virD4</i>
Gallina de postura	<i>Campylobacter coli</i>	CC-1150	ST-1061	120179	524	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
				120179	527	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				120180	528	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				120179	545	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				120180	546	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		CC-828	ST-1061	19769	513	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				25749	537	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				120181	529	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
				120183	532	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				ND	521	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		CC-ND	ST-ND	ND	530	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
				192365	535	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
				16869	517	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-

		CC-49	ST-3720	16869	536	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
		CC ND	ST ND																																																ND	533	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ND: No determinado; CC: Complejo clonal; ST: Secuenciotipo; +: Presente; -: Ausente

(Fin del cuadro)

Anexo 7: Relación de códigos de aislados de *C. jejuni* utilizados para la construcción del árbol filogenético de la Figura 8.

Código PubMLST	ID aislado	Origen
80360	npCAMPY19	Humanos
80362	npCAMPY30	Humanos
80364	npCAMPY18	Humanos
80365	npCAMPY23	Humanos
80366	npCAMPY36	Humanos
80368	npCAMPY12	Humanos
80371	npCAMPY16	Humanos
80373	npCAMPY11	Humanos
80374	npCAMPY9	Humanos
80376	p31	Humanos
80378	CAMPY38 S19	Humanos
80379	npCAMPY29	Humanos
80380	CAMPY79 S39	Humanos
80383	npCAMPY35	Humanos
80384	CAMPY92 S47	Humanos
80387	p12	Humanos
80388	npCAMPY14	Humanos
80393	npCAMPY13	Humanos
80399	npCAMPY33	Humanos
80402	npCAMPY27	Humanos
80404	CAMPY69 S34	Humanos
80405	npCAMPY10	Humanos
80407	npCAMPY15	Humanos
80411	p18	Humanos
80415	p13	Humanos
80416	npCAMPY17	Humanos
80419	pCAMPY80	Humanos
80421	npCAMPY28	Humanos
80424	npCAMPY26	Humanos
80425	npCAMPY25	Humanos
80426	npCAMPY38	Humanos
80428	npCAMPY37	Humanos
80430	CAMPY50 S25	Humanos
80433	npCAMPY32	Humanos
80438	CAMPY62 S31	Humanos
80442	CAMPY19 S9	Humanos
80448	CAMPY61 S30	Humanos
80449	p21	Humanos
80450	npCAMPY31	Humanos
80452	npCAMPY21	Humanos
80454	p4H2	Humanos
80456	CAMPY17 S8	Humanos
80457	p16	Humanos

80461	npCAMPY22	Humanos
80463	npCAMPY24	Humanos
80466	npCAMPY34	Humanos
80467	npCAMPY20	Humanos
80470	p3H2	Humanos
80625	CAMPY76 S37	Humanos
80629	CAMPY41 S20	Humanos
80647	p9	Humanos
80653	crofts 1R	Humanos
80656	CAMPY67 S33	Humanos
80666	p9H2	Humanos
80669	CAMPY90 S46	Humanos
80672	crofts innoc	Humanos
80673	crofts 8R2	Humanos
80683	crofts 14D2	Humanos
80690	crofts 31D2	Humanos
80691	crofts 16D0	Humanos
80696	crofts_31R	Humanos
80697	crofts_14D3	Humanos
80698	crofts_21D1	Humanos
80700	crofts_24D2	Humanos
80701	crofts_9R	Humanos
80704	crofts_16D1	Humanos
80705	crofts_4D1	Humanos
80708	crofts_11D1	Humanos
80709	crofts_1D2	Humanos
80716	crofts_9D2	Humanos
80717	crofts_8R1	Humanos
80719	crofts_4R	Humanos
80720	crofts_33D1	Humanos
108462	3052	Humanos
108469	3060	Humanos
108471	3062	Humanos
108472	3063	Humanos
108476	3067	Humanos
108478	3069	Humanos
108480	3071	Humanos
108489	3080	Humanos
108499	3090	Humanos
108589	9398	Humanos
108590	9399	Humanos
108591	9400	Humanos
108593	9402	Humanos
108594	9403	Humanos
108595	9404	Humanos
108596	9405	Humanos
108644	11853	Humanos

108645	11854	Humanos
108646	11855	Humanos
108647	11856	Humanos
108648	11860	Humanos
108649	11861	Humanos
110931	OBT12377	Humanos
110932	OBT12390	Humanos
110933	OBT12393	Humanos
110934	OBT12386	Humanos
111287	Cjhi01	Humanos
111288	Cjhi02	Humanos
111289	Cjhi03	Humanos
111290	Cjhi04	Humanos
111292	Cjhi06	Humanos
111293	Cjhi07	Humanos
111295	Cjhi09	Humanos
111296	Cjhi10	Humanos
111297	Cjhi11	Humanos
105572	PA001	Pollos
105573	PA002	Pollos
105574	PA004	Pollos
105575	PA006	Pollos
105582	PA030	Pollos
105588	PA044	Pollos
105589	PA046	Pollos
105591	PA049	Pollos
105592	PA050	Pollos
105596	PA064	Pollos
105598	PA067	Pollos
105600	PA069	Pollos
105602	PA074	Pollos
105604	PA079	Pollos
105605	PA081	Pollos
105606	PA082	Pollos
105607	PA083	Pollos
105608	PA084	Pollos
105609	PA085	Pollos
105610	PA088	Pollos
105611	PA089	Pollos
105613	PA092	Pollos
105615	PA096	Pollos
105618	PV007	Pollos
105619	PV010	Pollos
105620	PV012	Pollos
105621	PV020	Pollos
105622	PV021	Pollos
105625	PV048	Pollos

105626	PV064	Pollos
105627	PV065	Pollos
105629	PV071	Pollos
105630	PV072	Pollos
105631	PV075	Pollos
105632	PV076	Pollos
105633	PV077	Pollos
105634	PV083	Pollos
105635	PV084	Pollos
105637	PV087	Pollos
105638	PV088	Pollos
105639	PV090	Pollos
105641	PV092	Pollos
105646	PV099	Pollos
105754	pollo1_C1	Pollos
105755	pollo1_C2	Pollos
105756	pollo1_C3	Pollos
108598	9407	Pollos
108599	9408	Pollos
108600	9409	Pollos
108601	9410	Pollos
108602	9411	Pollos
108603	9412	Pollos
108604	9413	Pollos
108605	9414	Pollos
108606	9415	Pollos
108607	9416	Pollos
108608	9417	Pollos
108609	9418	Pollos
108610	9419	Pollos
108611	9420	Pollos
108612	9421	Pollos
108613	9422	Pollos
108614	9423	Pollos
108615	9424	Pollos
108616	9425	Pollos
108617	9426	Pollos
108618	9427	Pollos
108619	9428	Pollos
108620	9429	Pollos
108621	9430	Pollos
108622	9431	Pollos
108625	9434	Pollos
108626	9435	Pollos
108627	9436	Pollos
108628	9437	Pollos
108629	9438	Pollos

108630	9439	Pollos
108631	9440	Pollos
108634	9444	Pollos
108637	9447	Pollos
108643	9453	Pollos
N.A.	395	Pollos del estudio
N.A.	399	Pollos del estudio
N.A.	400	Pollos del estudio
N.A.	403	Pollos del estudio
N.A.	404	Pollos del estudio
N.A.	405	Pollos del estudio
N.A.	407	Pollos del estudio
N.A.	408	Pollos del estudio
N.A.	411	Pollos del estudio
N.A.	416	Pollos del estudio
N.A.	417	Pollos del estudio
N.A.	500	Pollos del estudio
N.A.	504	Pollos del estudio
N.A.	517	Pollos del estudio
N.A.	536	Pollos del estudio
N.A.	1012	Pollos del estudio
N.A.	1016	Pollos del estudio

N.A.: no aplica.

(Fin del cuadro)

Anexo 8: Relación de códigos de aislados de *C. coli* utilizados para la construcción del árbol filogenético de la Figura 9.

Código PubMLST	ID aislado	Origen
80363	p19	Humanos
80375	p32	Humanos
80381	npCAMPY3	Humanos
80382	npCAMPY2	Humanos
80385	npCAMPY8	Humanos
80386	p29	Humanos
80403	CAMPY24	Humanos
80406	npCAMPY5	Humanos
80410	CAMPY24_S12	Humanos
80414	npCAMPY6	Humanos
80427	npCAMPY4	Humanos
80436	CAMPY26	Humanos
80437	CAMPY11	Humanos
80439	npCAMPY1	Humanos
80443	p30	Humanos
80455	CAMPY6_S3	Humanos
80465	npCAMPY7	Humanos
80471	p23	Humanos
80610	CAMPY7	Humanos
80615	CAMPY17	Humanos
80616	CAMPY29	Humanos
80617	CAMPY25	Humanos
80618	CAMPY19	Humanos
80619	CAMPY28	Humanos
80620	CAMPY30	Humanos
80621	CAMPY9	Humanos
80622	CAMPY32	Humanos
80623	CAMPY3	Humanos
80624	CAMPY15	Humanos
80626	CAMPY5	Humanos
80627	CAMPY8	Humanos
80631	CAMPY7_S4	Humanos
80634	CAMPY53_S26	Humanos
80645	hcamp20	Humanos
80646	irrcamp5	Humanos
80648	irrcamp25	Humanos
80649	circcamp9	Humanos
80651	irrcamp20	Humanos
80654	circcamp1	Humanos
80659	hcamp24	Humanos
80660	irrcamp4	Humanos
80662	circcamp7	Humanos
80664	p6H2	Humanos

80665	irrcamp12	Humanos
80667	hcamp21	Humanos
80671	irrcamp24	Humanos
80674	hcamp27	Humanos
80677	circcamp8	Humanos
80678	hcamp22	Humanos
80679	hcamp14	Humanos
80680	p5H2	Humanos
80682	p5	Humanos
80685	circcamp4	Humanos
80688	irrcamp21	Humanos
80689	CAMPY18	Humanos
80692	hcamp29	Humanos
80693	irrcamp27	Humanos
80694	hcamp25	Humanos
80695	irrcamp28	Humanos
80703	irrcamp7	Humanos
80706	hcamp12	Humanos
80707	hcamp28	Humanos
80711	irrcamp22	Humanos
80713	irrcamp9	Humanos
80714	circcamp5	Humanos
80715	irrcamp8	Humanos
108479	3070	Humanos
108498	3089	Humanos
108508	3099	Humanos
108587	9396	Humanos
108588	9397	Humanos
105578	PA017	Pollos
105579	PA026	Pollos
105580	PA028	Pollos
105581	PA029	Pollos
105584	PA032	Pollos
105585	PA033	Pollos
105586	PA034	Pollos
105587	PA040	Pollos
105590	PA048	Pollos
105593	PA061	Pollos
105594	PA062	Pollos
105597	PA065	Pollos
105601	PA070	Pollos
105614	PA093	Pollos
105616	PV004	Pollos
105636	PV086	Pollos
105640	PV091	Pollos
105642	PV093	Pollos
108632	9441	Pollos

108633	9443	Pollos
108635	9445	Pollos
108636	9446	Pollos
108639	9449	Pollos
N.A.	513	Pollos del estudio
N.A.	521	Pollos del estudio
N.A.	524	Pollos del estudio
N.A.	528	Pollos del estudio
N.A.	529	Pollos del estudio
N.A.	530	Pollos del estudio
N.A.	532	Pollos del estudio
N.A.	535	Pollos del estudio
N.A.	537	Pollos del estudio
N.A.	545	Pollos del estudio
N.A.	546	Pollos del estudio

N.A.: no aplica.

(Fin del cuadro)

(Fin de los Anexos)

(Fin del documento)