

Efecto de la administración oral de estreptomicina en la mortalidad de cuyes inoculados con una cepa virulenta de *Salmonella* Typhimurium

Effect of oral administration of streptomycin on the mortality of guinea pigs inoculated with a virulent strain of *Salmonella* Typhimurium

Miguel Espinoza T.^{1*}, Dennis Carhuaricra¹, Abelardo Lenin Maturrano H.¹, Raúl Rosadio A¹, Luis Luna E.¹

RESUMEN

El presente estudio busca obtener datos que faciliten el diseño de un modelo animal que replique la salmonelosis producida por el serovar Typhimurium en condiciones experimentales mediante el uso de una dosis única de estreptomicina de 50 mg por vía oral 24 horas previos al desafío con tres concentraciones de una cepa virulenta de *Salmonella* Typhimurium. Se utilizaron 58 cuyes hembras, distribuidas en 6 tratamientos de 8 animales cada uno (3 grupos a los cuales se les administró estreptomicina previo al desafío y 3 grupos que solo fueron desafiados) y 2 grupos de control de 5 animales cada uno (1 grupo tratado con estreptomicina y no desafiados y otro grupo no tratado ni desafiado). Las dosis del inóculo fueron de 10^7 , 10^8 , 10^9 /ml de *S. Typhimurium* por grupo, respectivamente, y se hizo el monitoreo de los animales por 30 días. Se recolectaron muestras de heces colectivas por grupo para determinar el tiempo de excreción de *S. Typhimurium* por qPCR. Se hizo la necropsia a los animales muertos durante esta fase, así como a los que

¹ Unidad de Biología y Genética Molecular, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² E-mail: miguel.espinoza1@unmsm.edu.pe

La investigación ha sido financiada por el Proyecto Concytec - Banco Mundial «Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica» 8682-PE, a través de su unidad ejecutora Fondecyt contrato N° 135-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV

Recibido: 24 de septiembre de 2021

Aceptado para publicación: 12 de diciembre de 2022

Publicado: luis.aries18@gmail.com

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

sobrevivieron al final del estudio, tomándose muestras de intestino, hígado y pulmón para análisis histopatológico y de intestino, pulmón, bazo, hígado y vesícula biliar para aislamiento microbiológico. Se observó en los animales desafiados que recibieron previamente estreptomicina una mayor tasa de mortalidad y frecuencia de lesiones macroscópicas y microscópicas, menor consumo de alimento, menor peso final, así como una mayor cantidad y tiempo de excreción de *S. Typhimurium* por las heces en comparación a los animales del grupo no tratado con estreptomicina y desafiados.

Palabras clave: cuy, *Salmonella* Typhimurium, estreptomicina, histopatología, qPCR

ABSTRACT

The present study aims to obtain data that facilitate the design of an animal model that replicates salmonellosis produced by the serovar Typhimurium under experimental conditions by a single dose of streptomycin 50 mg orally 24 hours prior to the challenge with three concentrations of a virulent strain of *Salmonella* Typhimurium. Female guinea pigs (n=58) were used, distributed in 6 treatment groups of 8 animals each (3 groups to which streptomycin was administered prior to the challenge and 3 groups that were only challenged) and 2 control groups of 5 animals each (1 group treated with streptomycin and unchallenged and another untreated and unchallenged). The doses of the inoculum were 10^7 , 10^8 , 10^9 /ml of *S. Thiphimurium* per group, respectively, and the animals were monitored for 30 days. Collective stool samples per group were collected to determine the excretion time of *S. Typhimurium* by qPCR. A necropsy was performed on the animals that died, as well as those that survived at the end of the study, taking samples of intestine, liver and lung for histopathological analysis and of intestine, lung, spleen, liver and gallbladder for microbiological isolation. Challenged animals that previously received streptomycin had a higher mortality rate and frequency of macroscopic and microscopic lesions, lower feed consumption, lower final weight, as well as a greater amount and time of excretion of *S. Typhimurium* in the feces compared to the animals of the non-streptomycin treated group and challenged.

Key words: guinea pig, *Salmonella* Typhimurium, streptomycin, histopathology, qPCR

INTRODUCCIÓN

El cuy (*Cavia porcellus*) es una especie oriunda del Perú, con una amplia importancia histórica y económica, y con gran potencial como alternativa cárnica para consumo humano por sus bajos costos de producción y altos valores nutricionales. Sin embargo, este potencial se encuentra afectado, entre otros, por diversos problemas sanitarios que disminuyen el rendimiento productivo y, consecuentemente, la retribución económica. La salmonelosis es considerada como uno de

los más graves problema sanitarios por la elevada tasa de mortalidad, morbilidad, siendo una de las principales causas de aborto y mortinatalidad (Chauca, 1997; Ortega, 2015). El serovar Typhimurium de *Salmonella* sp usualmente se encuentra en el 100% de los aislados positivos a *Salmonella* sp de muestras provenientes de cuyes en Perú (Marcelo, 2015).

Las medidas de control y prevención de la salmonelosis incluyen el correcto manejo y bioseguridad en la granja con la finalidad de evitar condiciones de estrés y sobreexposición

al patógeno, así como también asegurar una adecuada homeostasis en los individuos, con especial atención a su capacidad inmunitaria (Canchari, 1995). Debido a ello, el potencial desarrollo de una vacuna representa una alternativa interesante para contribuir con el adecuado control de la enfermedad. En aves se ha logrado grandes avances en el control de la cepa *Salmonella* Gallinarum mediante el uso de vacunas vivas atenuadas (Audisio y Terzolo, 2002). Así mismo, la CDC (2019) recomienda la vacunación con *Salmonella* Typhi en humanos previo a un viaje a zonas endémicas de salmonelosis como método preventivo.

Al observarse el éxito previo en otras especies para el control de la enfermedad, se ha propuesto la creación de una vacuna efectiva contra *Salmonella* Typhimurium. Sin embargo, la replicación de la enfermedad en condiciones experimentales representa un obstáculo tanto para el entendimiento de los procesos patológicos de la salmonelosis en el cuy como para las pruebas de eficacia y seguridad de los candidatos vacunales al observarse una mortalidad baja tras el desafío por vía oral con *Salmonella* Typhimurium (Saldarriaga, 2018; Bazán *et al.*, 2019). Ante esto, el presente estudio busca determinar un modelo animal que facilite la replicación de la salmonelosis en cuyes en condiciones experimentales, extrapolando un modelo existente utilizado en ratones, el cual utiliza una única dosis del aminoglucósido estreptomycinina como tratamiento previo al desafío, con la finalidad de reducir la microbiota normal y causar una susceptibilidad ante la infección por vía oral (Higginson *et al.*, 2016). Para tal fin, se realizó un diseño experimental que busca recolectar evidencias del efecto positivo, tanto en mortalidad como en frecuencia de aparición de lesiones, de una única dosis de 50 mg de estreptomycinina previo al desafío experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

En marzo de 2020 se obtuvieron 58 cuyes hembras de 15 días de edad provenientes de un centro de crianza experimental ubicado en el distrito de Huaral, Lima, Perú. Los animales fueron transportados a la Unidad de Biología y Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Los cuyes fueron distribuidos en tres módulos de crianza de tres pisos cada uno, los cuales contaban con comederos, bandejas recolectoras de heces, tubos PVC recolectores de orina y un dispensador de agua conectado a bebederos accionados mediante niples.

Dos de estos módulos contuvieron a 24 animales cada uno distribuidos equitativamente en cada piso (8 animales por piso). Cada piso correspondía a una concentración de inóculo diferente (10^7 , 10^8 y 10^9 UFC/ml). Asimismo, un módulo correspondía al grupo «Con estreptomycinina», mientras que el otro módulo correspondía al grupo «Sin estreptomycinina». El tercer módulo contó únicamente con 10 animales, distribuidos equitativamente en dos pisos (5 animales por piso). Este módulo correspondía al grupo de animales No Desafiados. Al grupo de animales ubicados en el piso inferior se les denominó «Blanco con estreptomycinina» y al grupo de animales ubicados en el piso superior se les denominó «Blanco sin estreptomycinina».

Diseño Experimental

La crianza tuvo una duración total de 45 días, iniciando con un periodo de 15 días de adaptación a las nuevas condiciones de crianza y poder observar potenciales signos clínicos que sugieran una enfermedad pre-existente. Asimismo, en este periodo inicial

se realizó un descarte de salmonelosis mediante un protocolo de aislamiento microbiológico modificado a partir de lo descrito por la OMS (2010) y Díaz (2016), siguiendo el estándar ISO-6579. Para ello se tomaron 8 *pellets* de heces frescas de cada módulo de experimentación los días 0, 7 y 15. Las muestras fueron homogeneizadas y se tomó 0.5 g del *pool* de heces, siendo puesto en 4.5 ml de agua peptonada. Tras 18 h de incubación a 37 °C se transfirió 20 µl del agua peptonada a 2 ml de caldo de Rappaport - Vassiliadis Soya e incubados durante 24 h a 41.5 °C. Luego, los caldos fueron sembrados en agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) mediante sembrado por agotamiento e incubados durante 24 h. Finalmente, se observaron las placas sin encontrar crecimiento de colonias compatibles con *Salmonella* sp.

En el primero de los 30 días del estudio se administró estreptomycin (Sigma) por vía oral mediante sonda intragástrica de acuerdo con el protocolo descrito por Vishwakarma *et al.* (2012), a dosis de 50 mg diluido en 1 ml de NaCl a los individuos de los grupos correspondientes. Los animales de los grupos blanco recibieron 1 ml de NaCl por vía oral mediante sonda intragástrica. Los animales pasaron por un ayuno de 24 h al término de este procedimiento. Además, se midió el consumo de alimento diario mediante la diferencia del peso del alimento ofrecido y el alimento recolectado al finalizar el día.

Cepa Patógena

El desafío experimental se realizó en el segundo día del estudio experimental. Para ello se utilizó una cepa de *Salmonella* Typhimurium de patogenidad conocida. La obtención de esta cepa se realizó 7 días previos a la inoculación experimental. Para ello se utilizaron dos cuyes provenientes del mismo centro de crianza a los cuales se inoculó vía intraperitoneal 10^7 UFC de *Salmonella* Typhimurium. Uno de los animales murió súbitamente al día siguiente de la inoculación, mientras que el otro se mantuvo asintomático

y murió luego de 7 días. El patógeno fue aislado del hígado, contenido intestinal y contenido biliar de ambos animales. Esta cepa reactivada fue cultivada en 500 ml de Caldo Luria Bertani (LB) por 18 h. Tras la incubación, el caldo de cultivo fue homogenizado y dispensado en 10 tubos de 50 ml. Los tubos fueron centrifugados a 16 500 g por 5 min. Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el material sedimentado en 2 ml de glucosa al 20%. Se combinó el contenido de cada uno de los 10 tubos en uno solo, obteniendo 20 ml de inóculo. Se midió la absorbancia de la solución mediante espectrofotometría y realizando los ajustes correspondientes se llegó a la concentración deseada de 10^9 UFC/ml. Se obtuvieron diluciones hasta obtener inóculos con concentraciones de 10^7 , 10^8 y 10^9 UFC/ml.

La inoculación fue realizada mediante *pellets* de alimento, en base a la metodología descrita por Nilsson *et al.* (2019). Los animales fueron observados diariamente días para determinar posibles signos clínicos compatibles con salmonelosis y mortalidad. Este periodo culminó cuando no se observó casos de mortalidad durante al menos 5 días. La última mortalidad se observó al día 25, por lo que el periodo observacional duró 30 días.

Lesiones Macro y Microscópicas

Se realizó la necropsia a los animales que murieron durante el estudio. Se registraron posibles lesiones macroscópicas *in situ*. Luego se procedió a examinar los órganos *ex situ*, tomándose, además, muestras de intestino delgado, hígado y pulmón para diagnóstico histopatológico, así como de bazo, hígado y pulmón para aislamiento microbiológico. En los animales con vesícula biliar distendida se recolectó el contenido biliar mediante punción con aguja fina para aislamiento microbiológico.

Se realizó la eutanasia a los animales supervivientes luego del periodo observacional mediante anestesia con ketamina / xilacina (Ket-A-Xyl®, Agrovét Market) a una

dosis de 0.05-0.1 ml/cuy vía IM y luego se realizó la eutanasia mediante aplicación intracardiaca de 2 ml de pentobarbital sódico a 6.5 g (Halatal®, Montana). Los animales pasaron a la necropsia luego de la eutanasia.

Se obtuvieron cortes histológicos con tinción hematoxilina-eosina (H-E) de las muestras remitidas, a las cuales se les atribuyó un *patoscore* de acuerdo con la metodología utilizada por Vishwakarma *et al.* (2012). El puntaje se basó en la observación de lesiones patológicas microscópicas, específicamente la presencia de edema en la submucosa (0-3 puntos), infiltración de polimorfonucleados (0-4 puntos), pérdida de células caliciformes (0-3 puntos), y ulceración epitelial (0-3 puntos). El puntaje de cada criterio fue sumado, obteniéndose un puntaje máximo de 13 puntos. El puntaje final se define como intestino intacto (0 puntos), inflamación mínima (1-2 puntos), inflamación leve (3-4 puntos), inflamación moderada (5-8 puntos) o inflamación severa (9-13 puntos). Para obtener un puntaje representativo de cada grupo, se promedió el puntaje final de todos los animales pertenecientes a los grupos de distintas dosis.

PCR en Tiempo Real

Se realizó la técnica de PCR cuantitativa o en tiempo real (qPCR) para determinar el momento en días en que los animales excretaban el patógeno por heces. Se recolectaron 8 *pellets* de heces elegidas de diversas zonas de las bandejas recolectoras de heces de cada uno de los módulos experimentales los días 0, 1, 3, 6, 9, 15 y 21 pos-inoculación. Se extrajo el ADN a partir de a partir de 1 g de heces homogenizadas de cada grupo experimental mediante el QIAamp PowerFecal DNA Kit, siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante.

Se realizó una curva standard a partir de diluciones de muestra de ADN obtenida de un cultivo de concentración previamente determinada mediante espectrofotometría con

la finalidad de cuantificar mediante qPCR el ADN obtenido. Los cebadores utilizados para la determinación de *Salmonella* Typhimurium fueron aquellos descritos por Malorny *et al.* (2004), los cuales generan un tamaño de fragmento de 94 bp. Las condiciones de la reacción fueron establecidas de acuerdo con el protocolo descrito por Delibato *et al.* (2006) con un ciclo inicial de 95 °C durante 5 minutos, seguido durante 40 ciclos de amplificación de 95 °C durante 1 min, 60 °C durante 1 min y 72 °C durante 1 min. Los resultados obtenidos fueron colocados en un diagrama XY, obteniéndose la fórmula de la recta con la que se realizaron las cuantificaciones absolutas de *Salmonella*. Se realizó PCR cuantitativo al ADN extraído de las heces, utilizando un protocolo idéntico en cuanto a reactivos y condiciones al utilizado en la fase de estandarización de la curva. Los resultados de Ct obtenidos fueron convertidos a cantidad absoluta de *Salmonella* por gramo de heces mediante la fórmula determinada por la curva estandarizada.

Consideraciones Éticas

La metodología utilizada en el presente estudio fue presentada al Comité de Ética y Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo aprobada, según Constancia de Autorización Ética No. 2020-8.

RESULTADOS

En el periodo inicial de 15 días de adaptación no se observaron signos clínicos compatibles con enfermedad. La mortalidad observada durante la fase experimental se presenta en el Cuadro 1. Se observó un mayor porcentaje de mortalidad al desafío experimental en los cuyes que recibieron tratamiento previo de estreptomicina, no habiendo diferencia estadística entre los porcentajes de mortalidad según la concentración de inóculo (Fisher Test, $p=0.84$). El uso de curvas de supervivencia reflejó la diferencia obtenida

Cuadro 1. Mortalidad observada en los grupos blancos y grupos experimentales inoculados con diferentes concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium

	Sin Estreptomicina	Con Estreptomicina	Fisher Test (95%)
Blanco	0/5	0/5	1
10 ⁷ UFC	2/8	6/8	0.066
10 ⁸ UFC	0/8	5/8	0.013
10 ⁹ UFC	2/8	7/8	0.027
Total	4/24	18/24	0.00005

Cuadro 2. Lesiones macroscópicas en cuyes inoculados con tres concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium y premedicados con o sin estreptomicina

	Con estreptomicina			Sin estreptomicina		
	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
Pelaje hirsuto	37.5	0	12.5	12.5	0	0
Diarreas	37.5	12.5	25.0	0	0	0
Ascitis	87.5	75.0	62.5	25.0	0	12.5
Distensión en vesícula biliar	75.0	62.5	62.5	37.5	0	25.0
Necrosis multifocal hepática	62.5	37.5	50.0	25.0	12.5	37.5
Pseudomembranas en hígado	37.5	12.5	25.0	12.5	0	0
Focos neumónicos	62.5	38.0	25.0	25.0	12.5	12.5
Ganglios mesentéricos hemorrágicos	62.5	50.0	50.0	25.0	0	25.0
Intestino delgado congestionado	62.5	37.5	37.5	25	12.5	37.5
Meteorismo	25.0	37.5	37.5	0	0	12.5

(Figura 1), donde los animales tratados con estreptomicina tuvieron una tasa acumulada de mortalidad mayor. Por otro lado, se observó una mayor frecuencia de lesiones macroscópicas en los grupos pretratados con estreptomicina (Cuadro 2).

Los *patoscores* con base a las lesiones observadas en intestino delgado (edema en la submucosa, infiltración de polimorfonucleares, pérdida de células caliciformes, ulceración de la mucosa) fueron mayores en los animales pretratados con estreptomicina

(Cuadro 3). Las mayores lesiones se debieron a una inflamación moderada a nivel intestinal. El grupo 10⁸ sin tratamiento previo con estreptomicina mostró el *patoscore* más bajo, siendo común cambios histopatológicos mínimos, mientras que el grupo 10⁹ pretratado con estreptomicina mostró el *patoscore* más elevado.

La cantidad de alimento consumido fue mayor en los animales que no recibieron tratamiento previo de estreptomicina y en cuyes del grupo Blanco ($p < 0.05$; Figura 2). El pro-

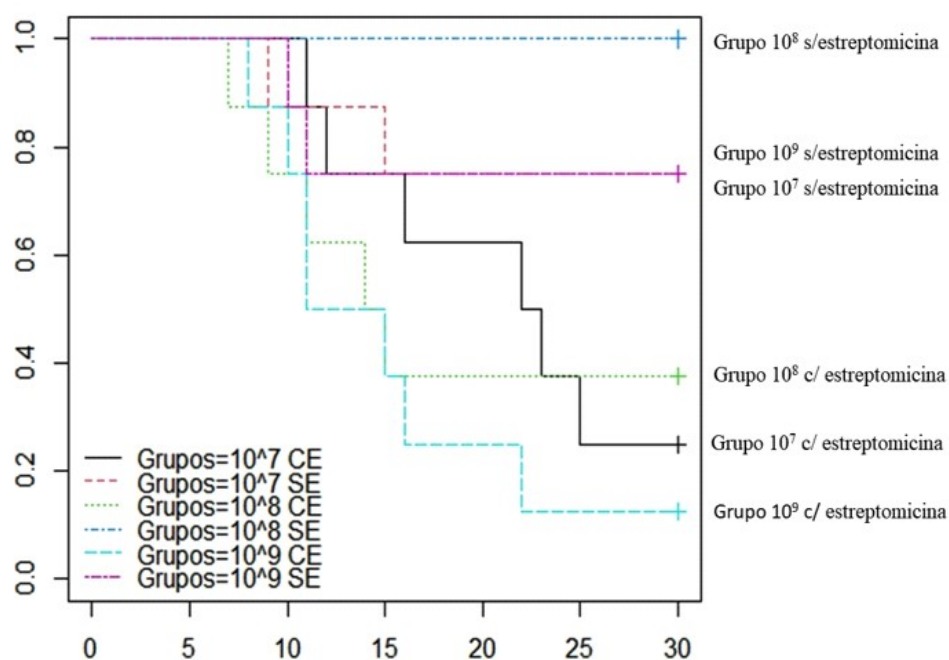


Figura 1. Curva de supervivencia obtenida a partir de la mortalidad registrada en cueros inoculados con diferentes concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium. El eje y denota el porcentaje de animales supervivientes. El eje x denota los días pos-desafío

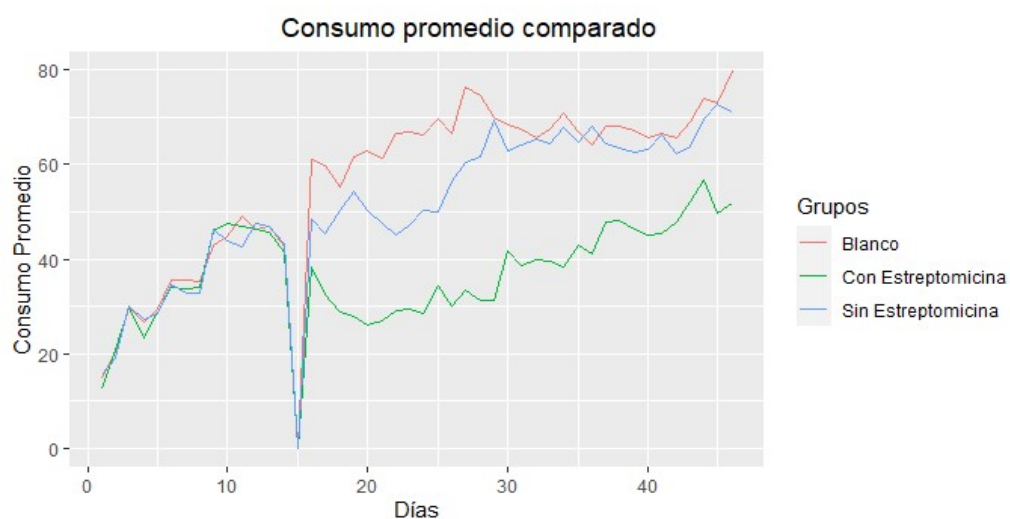


Figura 2. Consumo promedio comparado de grupos sometidos a tratamiento con estreptomicina, grupos sin tratamiento, y grupos blanco

Cuadro 3. Promedio de *patoscores* obtenidos de las muestras de intestino delgado de cuyes inoculados con diferentes concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium y premedicados con (CE) o sin (SE) estreptomicina

Grupos	Sin Estreptomicina		Con Estreptomicina	
	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
Blanco	0.80 ^c	0.27	0.50 ^c	0.35
10 ⁷	4.25 ^b	1.83	6.19 ^c	1.39
10 ⁸	2.13 ^a	1.03	6.69 ^c	1.16
10 ⁹	5.75 ^{bc}	1.79	8.00 ^d	0.81

^{a,b,c} Índices diferentes denotan diferencia significativa (p<0.05)

Cuadro 4. Peso promedio inicial, al desafío y final (29 días pos-desafío) en cuyes inoculados con diferentes concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium y premedicados con (CE) o sin (SE) estreptomicina

	Peso inicial (g)	Peso al desafío (g)	Peso final (g)
Blanco CE	266 ± 14.6	473.6 ± 40.5	872.4 ^{cd} ± 82.5
Blanco SE	298.4 ± 15.5	503.6 ± 12.6	917.2 ^d ± 50.2
10 ⁷ SE	263.8 ± 8.6	436.9 ± 66.0	765.5 ^b ± 58.2
10 ⁸ SE	285.8 ± 18.2	488.9 ± 49.5	824.4 ^b ± 55.5
10 ⁹ SE	270.5 ± 17.0	451.0 ± 40.9	790.3 ^{bc} ± 47.8
10 ⁷ CE	268.9 ± 23.5	443.0 ± 27.9	632.0 ^a ± 86.0
10 ⁸ CE	258.6 ± 22.1	389.5 ± 48.6	596.0 ^a ± 28.4
10 ⁹ CE	265.4 ± 15.7	418.9 ± 22.1	604.0 ^a ± 9.2

^{a,b,c,d} Índices diferentes denotan diferencia significativa (p<0.05)

Cuadro 5. Unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces observados tras una reacción de PCR en tiempo real en las muestras de ADN extraídas de heces recolectadas de cuyes de experimentación pos-inoculación con diferentes concentraciones de una cepa patógena de *Salmonella* Typhimurium y premedicados con (CE) o sin (SE) estreptomicina

	Con Estreptomicina				Sin Estreptomicina			
	Blanco	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	Blanco	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹
Día 0	--	--	--	--	--	--	--	--
Día 1	--	--	1.29x10 ³	0.93x10 ³	--	--	--	--
Día 3	--	--	2.48x10 ³	1.11x10 ⁴	--	1.22x10 ⁴	--	--
Día 6	--	1.32x10 ⁴	3.65x10 ⁴	3.33x10 ⁵	--	1.23x10 ⁴	--	--
Día 9	--	--	1.3x10 ³	2.4x10 ⁴	--	--	--	--
Día 15	--	--	--	2.05x10 ⁴	--	--	--	--
Día 21	--	--	--	--	--	--	--	--

El límite de detección fue de 10³ UFC por gramo de heces

medio de peso inicial y al desafío fue similar entre grupos, en tanto que al final del pos-desafío los grupos blanco presentaron el mayor peso, seguido de los grupos SE y CE ($p < 0.04$, Cuadro 4).

La cantidad de UFC por gramo de heces más alta se observó al día 6 en el grupo 10^9 con tratamiento previo de estreptomicina. Así mismo, este grupo presentó el mayor tiempo de excreción de *Salmonella* Typhimurium en heces (15 días). Dos de los grupos experimentales (10^8 y 10^9 SE) no amplificaron en ninguna reacción (Cuadro 5).

DISCUSIÓN

La elección de estreptomicina se basó en un modelo murino ampliamente usado tanto para el estudio de patogénesis de *Salmonella* spp como para el análisis de candidatos vacunales de serotipos de *Salmonella*, siendo el principal *Salmonella* Typhimurium (Kaiser *et al.*, 2012; Higginson *et al.*, 2016). Pesciaroli *et al.* (2011) fueron los primeros que sugirieron el uso del modelo llamado «Ratón tratado con estreptomicina» con la finalidad de probar tanto la efectividad como la seguridad de un candidato vacunal contra *Salmonella* Typhimurium en ratones.

En el presente estudio, la relación encontrada entre la aplicación de estreptomicina y la mortalidad producida por una cepa de *Salmonella* Typhimurium muestra una clara evidencia que apoya a la hipótesis de que los animales pretratados con estreptomicina presentarían una mayor mortalidad producida por salmonelosis a comparación de animales sin tratamiento. Kaiser *et al.* (2012) encontraron que la microbiota de los ratones es reducida hasta en un 90%, tanto en densidad como en composición, 24-48 h después de una sola dosis de 20 mg de estreptomicina por vía oral. Esta depleción produce una mayor susceptibilidad a la infección producida por *Salmonella* Typhimurium y, por consiguiente, un porcentaje de mortalidad elevado.

Los cuyes con adecuada microbiota intestinal se muestran usualmente resistentes a la infección experimental. Diversos autores obtuvieron mortalidades nulas tras una infección por vía oral con 2×10^6 UFC de *Salmonella* Typhimurium luego de 49 días de crianza (De la Rosa, 2018; López, 2018; Saldarriaga, 2018; Bazán *et al.*, 2019). En el presente estudio se obtuvo una mortalidad de 75% (18/24) para cuyes pretratados con estreptomicina y de 16.7% (4/24) para cuyes sin tratamiento luego de 45 días de crianza. La mortalidad observada en cuyes sin tratamiento previo de estreptomicina, en comparación con otros estudios donde no se presentó mortalidad pudo deberse a la procedencia de la cepa, a la dosis utilizada, a las condiciones ambientales de la crianza e incluso a características innatas de resistencia o susceptibilidad propias de cada individuo.

El *patoscore* en los grupos con y sin tratamiento previo de estreptomicina fue de 7.125/13 y de 4.208/13. En este sentido, Pesciaroli *et al.* (2011) obtuvieron un *patoscore* de 8.2/17, mientras que Vishwakarma *et al.* (2012) obtuvieron un promedio de 8/13. No obstante, estas diferencias pudieron deberse al día en que se realizaron las evaluaciones, dado que en dichos estudios se hizo entre los 3 y 11 días del desafío, mientras que en el presente estudio fue entre los 7 y 30 días del desafío. A su vez, es importante considerar que la determinación de un *patoscore* es subjetiva.

Los animales que recibieron un tratamiento con estreptomicina denotaron una mayor eliminación de bacterias por heces que los animales sin tratamiento previo, así como también una eliminación por mayor tiempo para los grupos que recibieron una dosis de 10^8 y 10^9 UFC/ml. Lawley *et al.* (2007) observó que ratones pretratados con una dosis de neomicina eliminaban hasta 1000 veces más de UFC por gramo de heces que ratones sin tratamiento previo luego de un desafío con 10^8 UFC de *Salmonella* Typhimurium por vía oral utilizando ratones con predisposi-

ción genética conocida a esta infección. En el presente estudio, la diferencia de la excreción de UFC por gramo de heces entre los grupos no pudo ser definida adecuadamente debido al límite de detección de la prueba de qPCR. No obstante, la cantidad de UFC por gramo de heces observado por dicho autor fue marcadamente mayor a la observada en este estudio, posiblemente debido, además, al empleo del corticosteroide Dexametasona (5 mg/l agua) con la finalidad de causar una mayor inmunosupresión.

Existe una discrepancia entre los datos de mortalidad observados versus los datos de excreción de UFC de *Salmonella* Typhimurium para el grupo 10^7 con tratamiento previo de estreptomicina. En este grupo se observó una mortalidad elevada (6/8), pero sin que se observen niveles detectables de *Salmonella* Typhimurium en heces. Debido a que en el presente estudio se priorizó la observación de mortalidad, se mantuvo a los animales de cada grupo en jaulas colectivas, sin posibilidad de obtener muestras individualizadas de heces, lo cual implica la posibilidad de coleccionar heces de animales sin signos clínicos asociados a salmonelosis (25% de animales en el módulo). Asimismo, se debe considerar el límite de detección de la prueba (10^3 UFC/g de heces). Por otro lado, se observó un *patoscore* menor en este grupo, en tanto que las mortalidades para este grupo fueron espaciadas, siendo el último caso el día 25 pos-inoculación. Ante esto, es posible indicar que una dosis de 10^7 UFC/ml más la dosis de 50 mg de estreptomicina no es suficiente para causar excreción de *Salmonella* Typhimurium en heces mayor a 10^3 UFC/g de heces, a pesar de ser suficiente para provocar un cuadro de salmonelosis sistémico.

CONCLUSIONES

- La mortalidad en cuyes causada por un desafío de *Salmonella* Typhimurium a concentraciones de 10^8 y 10^9 fue mayor en cuyes pretratados con una única do-

sis de 50 mg de estreptomicina por vía oral que en aquellos desafiados con una dosis de 10^7 .

- La frecuencia de aparición de lesiones histológicas asociadas a salmonelosis luego de un desafío a concentraciones de 10^7 , 10^8 y 10^9 de *Salmonella* Typhimurium fue mayor en cuyes pretratados con una única dosis de 50 mg de estreptomicina por vía oral que en aquellos no pretratados.
- Los parámetros productivos de consumo de alimento y ganancia de peso luego de un desafío a concentraciones de 10^7 , 10^8 y 10^9 de *Salmonella* Typhimurium fueron menores en cuyes pretratados con una única dosis de 50 mg de estreptomicina por vía oral que en aquellos no pretratados.
- No fue posible determinar el efecto de la estreptomicina en los niveles de excreción de *Salmonella* Typhimurium en heces.

LITERATURA CITADA

1. **Audisio MC, Terzolo HR. 2002.** Virulence analysis of a *Salmonella gallinarum* strain by oral inoculation of 20-day-old chickens. Avian Dis 46: 186-191. doi: 10.1637/0005-2086(2002)046-[0186:VAOASG]2.0.CO;2Ç
2. **Bazán V, Bezada S, Carcelén F, Yamada G. 2019.** Efecto de la infección subclínica de *Salmonella* Typhimurium sobre los parámetros productivos en la producción de cuyes de engorde (*Cavia porcellus*). Rev Inv Vet Perú 30: 16971706. doi: 10.15381/rivep.v30i4-17274
3. **Canchari A. 1995.** El cuy. Manual práctico para su crianza en la comunidad. Perú: Ministerio de Agricultura. 180 p.
4. **[CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2019.** Typhoid VIS. Vaccine Information Statements (VISs). [Internet]. Available in: <https://www.cdc.gov/vaccines/hcp/vis/vis-statements/typhoid.html>

5. **Chauca L. 1997.** Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Estudio FAO: Producción y sanidad animal. [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/W6562s/W6562s00.htm>
6. **De la Rosa ES. 2018.** Efecto de la suplementación de probióticos de flora natural sobre la calidad de la carne de cuy (*Cavia porcellus*) desafiada con *Salmonella*. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 87 p.
7. **Delibato E, Volpe G, Stangalini D, De Medici D, Moscone D, Palleschi G. 2006.** Development of SYBR-Green Real-Time PCR and a multichannel electrochemical immunosensor for specific detection of *Salmonella enterica*. Anal Lett 39: 1611-1625. doi: 10.1080/00032710600713354
8. **Díaz G. 2016.** Evaluación de una técnica de PCR múltiple para la detección rápida de *Salmonella* Typhimurium y/o Enteritidis en cobayos naturalmente infectados. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 74 p.
9. **Higginson EE, Simon R, Tennant SM. 2016.** Animal models for salmonellosis: applications in vaccine research. Clin Vaccine Immunol 23: 746-756. doi: 10.1128/CVI.00258-16.
10. **[ISO] International Organization for Standardization. 2002.** ISO 6579:2002 (E) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4th ed. Switzerland: ISO. 27 p.
11. **Kaiser P, Diard M, Stecher B, Hardt WD. 2012.** The streptomycin mouse model for *Salmonella* diarrhea: functional analysis of the microbiota, the pathogen's virulence factors, and the host's mucosal immune response. Immunol Rev 245: 56-83. doi: 10.1111/j.1600-065x.2011.01070.x
12. **Lawley TD, Bouley DM, Hoy YE, Gerke C, Relman DA, Monack DM. 2008.** Host transmission of *Salmonella enterica* Serovar typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota. Infect Immun 76: 403-416. doi:10.1128/IAI.01189-07
13. **López BG. 2018.** Efecto de la suplementación oral de una mezcla probiótica en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella* Typhimurium sobre la morfología intestinal. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 57 p.
14. **Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. 2004.** Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. Appl Environ Microb 70: 7046-7052. doi: 10.1128/AEM.70.12.7046-7052.2004
15. **Marcelo G. 2015.** Identificación de *Salmonella* Enteritidis y Typhimurium aislada de cuyes mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa múltiple. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 66 p.
16. **Nilsson OR, Kari L, Steele-Mortimer O. 2019.** Foodborne infection of mice with *Salmonella* Typhimurium. PLoS One 14: e0215190. doi: 10.1371/journal.pone.0215190
17. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2010.** Laboratory protocol isolation of *Salmonella* spp from food and animal faeces. Ginebra: OMS. 17 p.
18. **Ortega G, Jiménez R, Ara M, Morales S. 2015.** La salmonelosis como factor de riesgo de mortalidad en cuyes. Rev Inv Vet Perú 26: 676-681 doi: 10.15381/rivep.v26i4.11203
19. **Pesciaroli M, Aloisio F, Ammendola S, Pistoia C, Petrucci P, Tarantino M, Francia M, et al. 2011.** An attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain lacking the ZnuABC transporter induces protection in a mouse intestinal model of *Salmonella* infection. Vaccine 29: 1783-1790. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.111

20. **Saldarriaga M. 2018.** Efecto del uso de probióticos en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella* Typhimurium sobre los parámetros productivos y sanguíneos. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 80 p.
21. **Vishwakarma V, Pati NB, Chandel HS, Sahoo SS, Saha B, Suar M. 2012.** Evaluation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium TTSS-2 deficient fur mutant as safe live-attenuated vaccine candidate for immunocompromised mice. PLoS One 7: e52043. doi: 10.1371/journal.pone.0052043