

Respuesta histomorfométrica de la mucosa del intestino delgado en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella enterica* var. Typhimurium

Histomorphometry response of the small intestine mucosa in fattening guinea pigs (*Cavia porcellus*) challenged with *Salmonella enterica* var. Typhimurium

Sandra Gracia Bezada-Quintana^{1*}, Fernando Demetrio Carcelén-Cáceres¹, Sofía López-Guerra¹ y Jorge Ernesto Guevara-Vásquez²

¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal. Lima, Perú.

²Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Lima, Perú.

*Correo electrónico: sbezadaq@unmsm.edu.pe

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la respuesta histomorfométrica de la mucosa del intestino delgado en cuyes (*Cavia porcellus*) desafiados con *Salmonella enterica* var. Typhimurium (SeVT) (2×10^6 UFC-0,5mL⁻¹ por cuy) se tomaron 40 cuyes machos de 15 días (d) de edad, distribuidos aleatoriamente en cuatro tratamientos SeVT; 1.- cuyes que recibieron dieta base (DB) y se desafiaron con SeVT (T₁); 2.- cuyes que recibieron DB con 50 ppm de zinc bacitracina y se desafiaron con SeVT (T₂); 3.- cuyes que recibieron DB con 50 ppm de zinc bacitracina, sin desafío (T₃) y 4.- cuyes que recibieron únicamente DB, sin desafío (T₄, Grupo Control). Cada T estuvo conformado por 10 repeticiones. Al finalizar la fase experimental en la 8va semana (sem) se colectaron muestras de las secciones duodeno, yeyuno e íleon y se procesaron con hematoxilina y eosina (H-E) para el análisis histomorfométrico. Los parámetros evaluados fueron longitud de la vellosidad (LV), ancho de la vellosidad (AV), profundidad de la cripta de Lieberkühn (PC) y la relación longitud/cripta (LV/PC). Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y la prueba de Tukey. Los resultados (promedio \pm DE) fueron significativamente diferentes a $P < 0,05$ en todos los T indicando vellosidades reducidas en longitud, ancho y con una relación LV/PC, menor de 2:1 en el T₁, observando vellosidades hasta 40 % más largas en duodeno, 39 % en yeyuno y 55 % en íleon en los cuyes que no fueron desafiados con SeVT, concluyendo que existe un efecto negativo de este enteropatógeno sobre la histomorfometría de las vellosidades del intestino delgado en esta especie.

Palabras clave: Cuyes; *Salmonella enterica* var. Typhimurium; histomorfometría intestinal; intestino delgado

ABSTRACT

In order to evaluate the histomorphometric response of the mucosa of the small intestine in guinea pigs challenged with *Salmonella enterica* var. Typhimurium (SeVT) (2×10^6 CFU-0.5mL-guinea pigs⁻¹), Fifteen-day-old guinea pigs (n=40) divided at random into four treatment (T) groups: 1.- guinea pigs that received a standard feed (SF) and were challenged with SeVT (T₁); 2.- guinea pigs that received a SF with zinc bacitracin (50 ppm) and were challenged with SeVT (T₂); 3.- guinea pigs that received a SF and were given zinc bacitracin (50 ppm) without challenge (T₃), and 4.- guinea pigs that only received a SF, without challenge (T₄, Control Group). Each T consisted of 10 repetitions. At the end of the experimental phase in the eighth week, samples of duodenum, jejunum and ileum from each T group were collected and stained with hematoxylin-eosin (H-E) for histomorphometry analysis. The parameters examined included villus length (VL), villus width (AVL), Lieberkühn's crypt depth (PC) and length/crypt ratio (LV/PC). Procured data were statistically analyzed using ANOVA and Tukey's test. The results (mean \pm SD) were significantly different at $P < 0.05$ in all T indicating villus reduced in length, width and with a LV/PC ratio less than 2:1, observed villus up to 40 % longer in duodenum, 39 % in jejunum and 55 % in ileum in the guinea pigs that were not challenged with SeVT. It is concluded that there is a negative effect on the villus histomorphometry to infection with SeVT guinea pigs.

Key words: Guinea pig; *Salmonella enterica* var. Typhimurium; villus histomorphometry; small intestine

INTRODUCCIÓN

La especie *Cavia porcellus*, perteneciente al suborden Hystricomorpha (llamada cobayo, cuy, conejillo de indias o guinea pig [nombre en inglés]) es muy apreciada por su carne, que se consume especialmente en los países de América del Sur (de donde es originaria) como Perú, Colombia, Ecuador y Bolivia [27, 37, 38]. Su población en el Perú mantiene un crecimiento constante reportando en el último censo agropecuario más de 17 millones de ejemplares [23], distribuidos en todo el país, con mayor proporción en la región altoandina. Esta demanda en su crianza ha favorecido la presentación de enfermedades infecciosas de importancia comercial y de salud pública por ser una enfermedad zoonótica, como la salmonelosis, que causa una alta morbilidad y mortalidad en estas poblaciones [2, 16, 29], reportándose una prevalencia superior al 27 % en un estudio realizado en el departamento de La Libertad [30], y con una frecuencia de cuyes portadores asintomáticos de hasta 7 % [7].

El agente causal más frecuentemente aislado en infecciones por *Salmonella* en cuyes es la especie *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (SeVT) [7, 11, 25, 28, 30], patógeno Gram negativo de la familia Enterobacteriaceae, que se transmite principalmente por la vía fecal-oral a través del alimento contaminado con heces de cuy infectados, de roedores o pájaros silvestres [21, 25, 45], desarrollando una colonización a nivel intestinal seguida de una infección sistémica [4, 24]. Uno de los signos clínicos más evidente es la presentación de diarreas en animales y postración, seguido de aborto (en hembras), aunque también puede presentarse una infección subclínica convirtiendo al cuy en un portador asintomático de *Salmonella*, transmitiendo la enfermedad a otros animales y al hombre [15]. De la misma manera, aquellos animales que desarrollan la enfermedad y logran sobrevivir pasan a un estado de portadores asintomáticos [11, 14].

En el intestino delgado (id) se realizan los procesos de digestión y absorción de los nutrientes contenidos en los alimentos [9, 36, 48], existiendo una correlación directa entre el buen aprovechamiento de nutrientes con la citoarquitectura de las vellosidades intestinales -Vi - [41, 42], en consecuencia, el estudio de la histomorfometría de las Vi a nivel de la mucosa del id es un parámetro indispensable cuando se evalúa la eficacia de los procesos digestivos en animales [47]. Además de la absorción de nutrientes, el id cumple funciones de barrera física por medio de las "uniones estrechas" (tight junctions [nombre en inglés]); de barrera biológica a través de un sistema de detoxificación liderada por las enzimas citocromo; la identificación y transducción de señales y, la producción de compuestos con actividad biológica [43].

Las células del epitelio de la mucosa del tracto intestinal (Ti) permite al animal interactuar con su medio externo conformando una barrera semipermeable donde se ubica el tejido linfoide asociado al Ti (GALT [siglas en inglés]) que se encarga de proteger y regular la inmunidad innata y adaptativa en la zona, encontrándose permanentemente estimulada por antígenos provenientes del alimento, citoquinas y bacterias [43, 57]. En condiciones fisiológicas normales, las uniones estrechas presentan una actividad dinámica semipermeable para el transporte de moléculas a través de la vía paracelular en los enterocitos, sin embargo, la infección con entero patógenos, como la que se produce en los animales que desarrollan salmonelosis en forma subclínica o crónica, ocasiona un bajo rendimiento productivo que estaría asociado a la alteración a nivel del id por causa de este microorganismo patógeno [41, 47].

La SeVT invade y sobrevive en las células del epitelio intestinal causando inflamación y alterando la estructura de las uniones estrechas incrementando la permeabilidad del epitelio intestinal [46, 64], a través de proteínas efectoras secretadas por la llamada "isla de patogenicidad-1 de *Salmonella*" (SPI1), como SipA, SopE, SopE2 y SopB, que son mediadas por un incremento en la expresión del eje de los factores Gli1-Snail [51, 55]; alterando, de esta manera, el funcionamiento y homeostasis del Ti, originando un desvío de la energía utilizada en la producción de carne, crías, leche y huevo por el animal, hacia la protección y restitución de la homeostasis a costo de la merma en los parámetros productivos [52].

Como agentes promotores del crecimiento en animales de producción se emplean bactericidas y bacteriostáticos con el objetivo de prevenir o minimizar la infección por enteropatógenos, tal es el caso del bactericida zinc bacitracina, de amplio espectro, eficaz contra Gram-negativos y Gram-positivos, utilizado desde hace décadas principalmente en aves [12, 17] y cerdos (*Sus scrofa*), aunque se ha trasladado su uso también para la crianza de cuyes y conejos (*Oryctolagus cuniculus*) [6]. Respecto al uso de antimicrobianos empleados como promotores de crecimiento en animales de producción pecuaria y acuicultura existe evidencia que señala consecuencias potenciales severas para la resistencia a los antibióticos utilizados frecuentemente en Medicina Humana [40, 56, 59]. Esta amenaza para la Salud Pública ha llevado al anuncio de nuevas directrices por parte de la Organización mundial de la Salud sobre el uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo humano y promover además la adopción de políticas de "cero antibióticos" en la crianza de estos animales [33].

Considerando que los estudios sobre el efecto de la *Salmonella* spp. a nivel histológico en el Ti de los cuyes son limitados, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta histomorfométrica a nivel de id en cuyes de engorde desafiados con SeVT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mantenimiento de los animales, dieta y diseño experimental

La investigación fue conducida en la Unidad de Crianza (UC) del laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal (LBNA) de la Facultad de Medicina Veterinaria (FVM) Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, Perú (12°04'54,3" S | 76°59'13,8" W [20]), a una altitud de 170 metros sobre el nivel del mar, durante los meses de octubre y noviembre con una temperatura en el rango de máxima 23 °C y mínima de 15 °C. Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética y Bienestar Animal de la FMV para esta investigación.

Se emplearon 40 cuyes machos destetados, clínicamente saludables de 15 días (d) de edad, cruces de las razas Perú y Andina, con peso vivo (PV) promedio de 300 gramos (g) provenientes de una granja comercial de cuyes ubicada en una zona rural de Lima, sin antecedente de brote de salmonelosis. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 40 pozas individuales de 0,20 m² de área, considerando cada cuy alojado en una poza como una unidad experimental. Las pozas se construyeron de paredes de concreto con techo de malla y se desinfectaron con una solución de 1:200 de glutaraldehído al 20 %; como cama se utilizó viruta blanca de pino (*Pinus sylvestris*).

Adicionalmente, se sacrificaron cuatro cuyes y se colectaron linfonódulos mesentéricos, hígado, vesícula biliar, bazo y pulmón para el descarte microbiológico de *Salmonella* spp. antes de iniciar la fase experimental del estudio. El análisis microbiológico se realizó en el

laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria (LMPV) de la FMV. Los órganos colectados se cortaron en trozos de 1 centímetro cuadrado (cm²) y se colocaron en caldo Rappaport Vassiliadis Soya (RVS) y se incubaron a 42 °C por 24 horas (h) en una incubadora Thelco Precision Scientific Model Z 31480 (Estados Unidos de América-EUA-). Posteriormente, se cultivó en agar XLD (Xilosa-Lisina Desoxicolato) durante 24 h y finalmente los aislados con sospecha de presencia de *Salmonella* spp. (colonias que presentaron centro de color negro) se sometieron a diferentes pruebas de identificación bioquímica: catalasa, oxidasa, agar hierro lisina (LIA), agar hierro triple azúcar (TSI), medio SIM (sulfuro-indol-motilidad), agar urea y agar citrato Simmons [15].

Se establecieron 4 tratamientos (T) con 10 unidades experimentales cada uno siguiendo el esquema que se muestra en la TABLA I. En la UC, todos los animales recibieron 12 h diarias de luz natural y se realizó un manejo de cortinas para evitar cambios bruscos de temperatura en el interior de la UC y garantizar el confort de los animales; la temperatura en el interior estuvo en el rango de 17 - 22 °C con humedad relativa promedio de 70 %.

TABLA I
Esquema de tratamiento empleado en los grupos experimentales

Tratamiento	Esquema
T ₁	Dieta base + desafío con SeVT (2×10 ⁶ UFC·0,5mL ⁻¹).
T ₂	Dieta base + zinc bacitracina (50 ppm) + desafío con SeVT (2×10 ⁶ UFC·0,5mL ⁻¹).
T ₃	Dieta base + zinc bacitracina (50 ppm) + agua de peptona tamponada estéril.
T ₄	Dieta base + agua de peptona tamponada estéril.

Elaboración propia

Los 4 grupos de T recibieron diariamente una dieta base (DB) compuesta de alfalfa fresca (*Medicago sativa* L) y concentrado en polvo formulado mediante el programa comercial DAPP N-utrition v. 2.0 [13], siguiendo las especificaciones nutricionales para la especie, elaborado con afrecho de trigo (*Triticum* spp.) (63,4 %), maíz (*Zea mays*) grano molido nacional (12,1 %), harina integral de soya (*Glycine max*) extruida (12,0 %), torta de soya (9,4 %), premezcla (1,4 %), carbonato de calcio (1,3 %) y sal (0,4 %). El análisis proximal y energía del concentrado se muestran en la TABLA II; se utilizó el método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [3] para determinar humedad, proteína cruda, grasa, fibra cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno (ELN). La ración diaria suministrada a todos los T fue equivalente al 10 % de su PV en materia seca (MS), se utilizaron forrajeras de alambre galvanizado y comederos de arcilla revestidos con esmalte blanco para el alimento, previamente desinfectados; adicional, se brindó a diario agua fresca *ad libitum*. La bacitracina de zinc se utilizó en dosis de 50 partes por millón (ppm) y se suministró mezclado en el alimento de los T₂ y T₃. La fase experimental (periodo de engorde de los cuyes) duró 8 semanas (sem). Todos los animales fueron monitoreados tres veces al día por un profesional médico veterinario y evaluados en sus condiciones generales de salud durante toda la investigación.

TABLA II
Análisis proximal porcentual y energía calculada de la dieta base (tal como ofrecido)¹

Nutriente	Media	CV ²
Humedad %	11,61	0,56 %
Proteína (N x 6,25) %	18,65	0,71 %
Grasa %	5,10	7,72 %
Fibra cruda %	7,88	8,02 %
Cenizas %	5,70	0,20 %
ELN %	51,06	----
Energía Digestible Mcal·Kg ⁻¹	2,89	----

¹Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal. FMV. UNMSM. Método AOAC, 2007. ²CV: Coeficiente de variación

Desafío con SeVT

El día 12 de la fase experimental se desafió vía oral (VO) con ayuda de una sonda de látex estéril a los animales de los T₁ y T₂ con un inóculo de 2×10⁶ unidades formadoras de colonias·0,5 mililitros⁻¹ (UFC·mL⁻¹) por cuyes de SeVT, suspendido en agua de peptona tamponada estéril, cultivado y preparado en el LMPV de la FMV [6]. La cepa utilizada fue aislada, en estudios previos, de hisopados rectales y vaginales de cuyes de cría y reproductores, clínicamente saludables, provenientes de granjas de cuyes con antecedentes de haber presentado brote de salmonelosis. Se identificó mediante biología molecular reacción en cadena de la polimerasa (PCR múltiple) por la presencia del gen *invA* (localizado en cepas virulentas de *Salmonella enterica*) y *flicC* (localizado en el serovar Typhimurium) [11]. La conservación de la cepa se realizó en caldo cerebro-corazón (BHI, nombre en inglés) más la adición de glicerol al 25 %. Para el crecimiento de las colonias, previa a la preparación del inóculo para el desafío, se empleó como medio de cultivo el agar XLD y se incubó por 24 h a 42 °C. La concentración del inóculo se determinó mediante absorbancia (550 nanómetros -nm-) a partir de una suspensión preparada de SeVT [6].

Los animales de los T₃ y T₄ recibieron un desafío simulado con 0,5 mL agua de peptona tamponada estéril VO por única vez. El protocolo de desafío con SeVT se basó en resultados obtenidos en anteriores estudios que concluyeron en que la concentración de 2×10⁶ UFC de SeVT es una dosis infectiva que causa una salmonelosis subclínica (asintomática) en cuyes [6, 19, 26, 39]. Las medidas de bioseguridad y manejo de los animales se mantuvieron óptimos durante el desarrollo de la investigación. Se realizó la restricción de visitas a la UC, se controló el ingreso de animales como pájaros, roedores e insectos; se utilizó un pediluvio con glutaraldehído y cloruro de benzalconio para desinfección de botas y calzado del personal, en la entrada de la UC, además, se dispuso de un área para cambio de ropa y colocación diaria de implementos de protección personal como mascarilla N95, protector (careta) facial, gorro quirúrgico, mandil quirúrgico de uso hospitalario y guantes de látex, previo a la inspección, manejo y alimentación de los cuyes en la UC.

Muestras de intestino y estudio histomorfométrico

Culminadas las 8 sem de la fase experimental, los cuyes fueron sacrificados y se colectaron segmentos de 2 centímetros (cm) de tipo corte tubular del id: duodeno (3 cm del piloro), yeyuno (punto medio de la longitud total de las asas yeyunales) e íleon (3 cm de la

unión ileocecal) [8, 32]. Las muestras fueron fijadas con formalina tamponada al 10 %, luego se redujeron a un largo de 0,5 cm y se colocaron individualmente en casetes, luego se procedió al lavado, deshidratado, aclarado e impregnación en parafina; finalmente se hizo su inclusión en bloques de parafina y se cortaron con ayuda de un micrótopo rotatorio de la marca Microm (Thermo Fisher) modelo HM 355S, Alemania) para obtener cortes de 5 micras (μ) de espesor culminando el proceso con la tinción Hematoxilina-Eosina (H-E) [50] en el laboratorio de Histología, Embriología y Patología Animal de la FMV-UNMSM. Además, se colectaron linfonódulos mesentéricos, hígado, vesícula biliar, bazo y pulmón de 5 cuyes de cada T, en forma aleatoria, para análisis de *Salmonella* spp. en el LMPV de la FMV siguiendo el procedimiento descrito por Espinoza y Morales [15].

Los parámetros histomorfométricos evaluados fueron:

- Longitud (altura) de la vellosidad intestinal (LV), medida desde el ápice de la vellosidad hasta el inicio del ingreso de la cripta de Lieberkühn.
- Ancho de la vellosidad intestinal (AV), medida de la línea perpendicular registrada en la sección media de la LV.
- Profundidad de la cripta de Lieberkühn (PC), medida de la distancia desde el inicio hasta la base de la cripta,
- Relación LV/PC.

El estudio histomorfométrico se realizó con el programa LAS EZ, versión 3.4 (Leica Microsystems, Alemania) vinculado a un microscopio LEICA DM1000 LED con cámara ICC50W (Leica Microsystems, Alemania). Se registraron las medidas en μ seleccionándose seis

campos a un aumento de 40x [5, 58], considerándose para el estudio las V con epitelio completo y estructura íntegra [26, 63]; las medidas realizadas por campo y corte fueron promediadas y se obtuvo un único valor por individuo en cada uno de los T.

Análisis estadístico

La respuesta histomorfométrica a nivel intestinal del desafío con SeVT se evaluó mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con 4 T y 10 repeticiones por T. Para comparar entre medias de T se empleó la prueba de Tukey; el nivel de significación fue de 0,05. Todos los análisis estadísticos se ejecutaron con la ayuda del programa R 3.4.3 [35].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cuatro cuyes sacrificados, previo al inicio de la fase experimental del estudio, resultaron negativos a *Salmonella* spp. confirmando el estado libre de salmonelosis de los animales utilizados en la investigación. Por el contrario, los análisis realizados a los órganos colectados en la 8va sem de engorde post-desafío resultaron positivos a *Salmonella* spp. en el T₁ (5/5) y T₂ (3/5), mientras que en el T₃ (0/5) y T₄ (0/5) se obtuvo un resultado negativo.

Se encontró diferencia estadística ($P < 0,05$) entre los T en todos los parámetros evaluados, presentados en la TABLA III. A nivel de duodeno se observó diferencia significativa ($P < 0,0001$) en la LV mostrando V más altas los T que no fueron desafiados con SeVT (T₃ y T₄) vs. los T que fueron desafiados con SeVT (T₁ y T₂), mostrando la mayor y menor longitud los T₄ ($992,31 \pm 23,80 \mu$) y T₁ ($594,70 \pm 11,32 \mu$),

TABLA III
Respuesta¹ sobre longitud de vellosidad, ancho de vellosidad, profundidad de la cripta de Lieberkühn y relación de la longitud con profundidad a nivel de tres secciones del intestino delgado en cuyes desafiados con SeVT

Medidas	Tratamientos ²				P-valor
	T1	T2	T3	T4	
Duodeno (μ m)					
LV	594,70 \pm 11,32 ^d	779,32 \pm 31,64 ^c	922,48 \pm 3,84 ^b	992,31 \pm 23,80 ^a	<0,0001
AV	91,77 \pm 7,67 ^b	110,32 \pm 5,82 ^{ab}	138,26 \pm 32,54 ^a	121,01 \pm 16,08 ^a	<0,0001
PC	280,54 \pm 14,23 ^b	369,44 \pm 37,73 ^a	387,31 \pm 24,96 ^{ab}	395,78 \pm 41,92 ^a	<0,0001
LV/PC	1,92 \pm 0,11 ^c	2,48 \pm 0,45 ^b	2,89 \pm 0,32 ^a	3,06 \pm 0,76 ^a	<0,0001
Yeyuno (μ m)					
LV	340,55 \pm 18,58 ^c	383,56 \pm 21,28 ^c	501,62 \pm 76,23 ^b	558,94 \pm 17,08 ^a	<0,0001
AV	80,66 \pm 3,92 ^b	82,12 \pm 5,22 ^b	113,88 \pm 22,27 ^a	105,37 \pm 20,31 ^a	<0,0001
PC	174,94 \pm 25,59 ^b	162,98 \pm 19,13 ^{bc}	195,13 \pm 15,49 ^{ab}	206,44 \pm 20,26 ^a	0,0001
LV/PC	1,94 \pm 0,28 ^b	2,38 \pm 0,30 ^a	2,57 \pm 0,36 ^a	2,73 \pm 1,05 ^a	<0,0001
Íleon (μ m)					
LV	201,44 \pm 27,07 ^c	217,57 \pm 40,21 ^c	308,25 \pm 34,95 ^b	455,12 \pm 29,08 ^a	<0,0001
AV	90,41 \pm 7,17 ^b	100,47 \pm 6,21 ^b	105,12 \pm 16,75 ^{ab}	100,98 \pm 10,52 ^b	0,0331
PC	138,78 \pm 7,14 ^c	127,09 \pm 31,39 ^c	180,37 \pm 7,29 ^b	234,67 \pm 14,69 ^a	<0,0001
LV/PC	1,46 \pm 0,26 ^b	1,77 \pm 0,38 ^{ab}	1,71 \pm 0,19 ^{ab}	2,00 \pm 0,20 ^a	0,0027

a, b, c, d Valores medios en la misma fila con diferente letra en superíndice son diferentes ($P < 0,05$). ¹Valores son promedio \pm desviación estándar de 10 repeticiones por tratamiento al terminar la 8va sem. ²T₁: DB + desafío con SeVT; T₂: DB + zinc bacitracina + desafío con SeVT; T₃: DB + zinc bacitracina + agua de peptona tamponada y, T₄: DB + agua de peptona tamponada. LV: Longitud (altura) de la vellosidad, AV: ancho de la vellosidad, PC: profundidad de la cripta de Lieberkühn, LV/PC: relación entre longitud y profundidad de la cripta

respectivamente. En relación al AV, el mayor valor se observó en el T₃ ($138,26 \pm 32,54 \mu\text{m}$), grupo que no fue desafiado con SeVT; mientras que el T₁ (desafiado con SeVT) presentó un significativo ($P < 0,0001$) menor tamaño en el AV ($91,77 \pm 7,67 \mu\text{m}$) vs. el resto de los tratamientos (T₂, T₃ y T₄) mostrando el efecto negativo del desafío con SeVT sobre el desarrollo de las V a nivel de duodeno. En el T₂ (desafiado con SeVT), el empleo de zinc bacitracina en el alimento (50 ppm) tuvo una respuesta positiva significativa ($P < 0,0001$) sobre el desarrollo de la vellosidad comparado con el T₁, pero menor ($P < 0,0001$) que lo observado en los T₃ y T₄, lo que sugeriría un posible efecto favorecedor de este antibiótico sobre el crecimiento de las V ejerciendo su acción bactericida frente a infecciones por microorganismos enteropatógenos, pudiendo además causar cambios en la microbiota intestinal favoreciendo a la microbiota que tiene efecto contra la SeVT en cuyes, pero esta respuesta favorable sería limitada, puesto que al compararse con los resultados de LV y AV de los T₃ y T₄, ambos resultaron significativamente superiores ($P < 0,0001$) al T₂. Por otro lado, la potencial amenaza del incremento de la resistencia a antibióticos de uso humano, sugiere tomar con precaución este resultado preliminar y evaluar el riesgo-beneficio antes de emplear el antibiótico como promotor de crecimiento en cuyes.

La FIG. 1 presenta la estructura histológica del duodeno de cuy de los T evaluados, observando la disposición de las V en forma paralela y el daño a nivel del ápice de las V en el grupo de animales desafiados con SeVT, mostrando V más cortas en comparación al resto de T.

La salmonelosis, que causa SeVT en su presentación clínica, es aguda y produce una alta morbilidad y mortalidad en las granjas comerciales de cuyes en las regiones de costa y sierra en Perú [29, 34]. En la presentación subclínica se ha estudiado sobre el desempeño productivo de los cuyes afectados y el impacto económico reflejado en valores de índice de conversión alimenticia (ICA) = 6,29 en animales infectados con SeVT vs. el ICA = 4,04 de los animales no infectados con SeVT, es decir, una disminución en la retribución económica de 30 % en los cuyes infectados con SeVT [6]. Estos valores elevados de ICA elevados representan mayor gasto en la alimentación de los animales y parecieran estar relacionados directamente a un deficiente desarrollo de las V causado por la infección con SeVT, que origina un área de superficie de absorción menor, comparado con el desarrollo de las V intestinales de animales no infectados con SeVT.

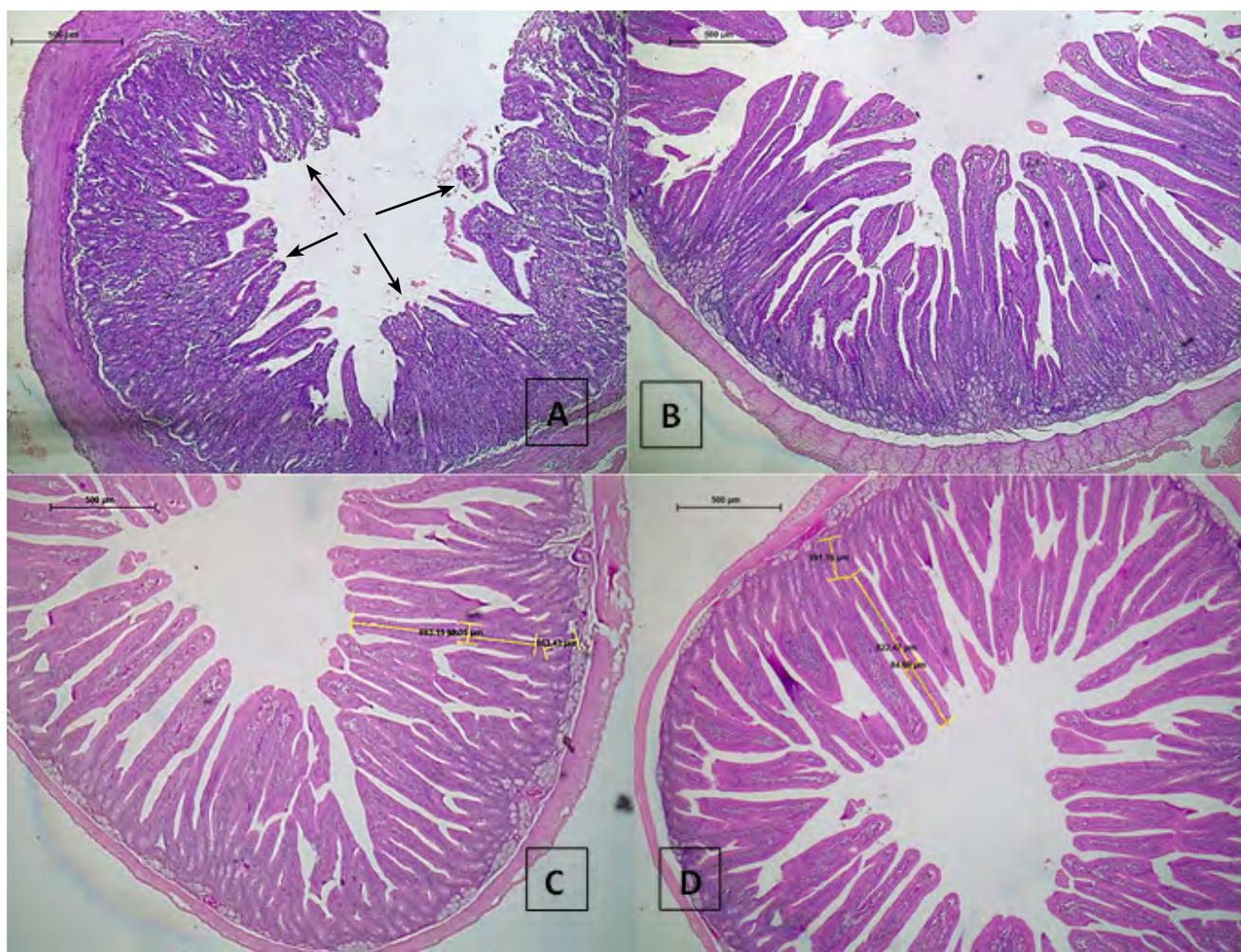


FIGURA 1. Estructura histológica del duodeno de cuyes en diferentes tratamientos a la 8va semana del periodo de engorde. A) T₁: DB + desafío con SeVT; B) T₂: DB + zinc bacitracina + desafío con SeVT; C) T₃: DB + zinc bacitracina + agua de peptona tamponada; D) T₄: DB + agua de peptona tamponada. Flechas en color negro señalan lesión a nivel del ápice de las vellosidades (A). (H-E; 4x)

El empleo de un alimento de alta densidad nutricional que cubra los requerimientos nutricionales para la especie cuy [10] puede aminorar los efectos del estrés causado por la infección con SeVT, aunque el desempeño productivo de los animales puede verse igualmente mermado [6, 31, 54]. La DB empleada en la presente investigación fue una formulación balanceada con los estándares nutricionales óptimos para la especie (TABLA II), por lo tanto, los resultados obtenidos en la histomorfometría no podrían atribuirse a un déficit de nutrientes en la alimentación de los animales del estudio, asimismo los cuyes no presentaron sintomatología clínica de salmonelosis ni se registró mortalidad durante toda la fase experimental en ninguno de los T evaluados, sin embargo se observó menor ganancia de PV en los animales desafiados con SeVT al finalizar el periodo de engorde, lo que evidenciaría el cuadro de salmonelosis subclínica desarrollado en los animales de los T₁ y T₂.

Los hallazgos en el presente estudio coinciden con lo reportado por Andrade y col. [1], quienes encontraron una diferencia significativa ($P < 0,05$) en la PC y una diferencia numérica ($P > 0,05$) con menor longitud de las V del duodeno en los grupos de aves de 21 d de edad nacidas de huevos inoculados con *Salmonella enteritidis* ($1,5 \times 10^2$ CFU·mL⁻¹) vs. el grupo control. Por su parte Sikandar y col. [44] reportaron diferencia significativa ($P < 0,05$) en la LV en duodeno, yeyuno e íleon de pollos de carne (*Gallus gallus domesticus*) de la línea Hubbard en cuya dieta se incluyó el probiótico *Bacillus subtilis* y se desafiaron VO con un inóculo de *Salmonella gallinarum* ($10^7 \cdot 0,2$ mL⁻¹ por ave) a los 3 d de nacidos, encontrando V más altas en duodeno (56 %), en yeyuno (36 %) y en íleon (44 %), comparado con el grupo control desafiado con *S. gallinarum* pero que no recibió probiótico.

En la presente investigación, en los cuyes del T₄ se obtuvieron V más largas en duodeno (40 %), en yeyuno (39 %) y en íleon (55 %) comparado con el T₁, además en el AV se observaron similares resultados con V significativamente ($P < 0,0001$) más anchas en el T₄ del duodeno, yeyuno e íleon ($12,01 \pm 16,08$, $105,37 \pm 20,31$ y $100,98 \pm 10,52$), comparado con el T₁ ($91,77 \pm 7,67$, $80,66 \pm 3,92$ y $90,41 \pm 7,17$), respectivamente, lo que significaría un incremento en la superficie de absorción en el primer grupo por una mayor área de las V. Un trabajo similar realizado por López [26] en cuyes de engorde desafiados con SeVT y tratados con un consorcio probiótico preparado a partir de bacterias obtenidas del T₁ de cuyes, reportó V más largas en duodeno (12 %), en yeyuno (10 %) y en íleon (25 %), comparado con el grupo control, desafiado sin recibir probiótico.

En relación al parámetro de PC, se ha señalado que la relación LV/PC por encima de 2:1 es signo de una buena salud en el TI, lo que garantizaría una mayor superficie de absorción para asimilar nutrientes a este nivel, existiendo una correspondencia directa en mayor longitud (altura) de las V con una PC menos profunda [18, 19]. Por el contrario, valores por debajo de 2:1 indicarían una mayor proliferación celular, traduciéndose en una mayor PC con el fin de reponer la pérdida de células epiteliales ante la disminución del largo de las V (FIG. 1, A), lo que es observado en infecciones del TI [22]. Esto coincide con lo hallado en el presente trabajo en las tres secciones del id, cuyo valor de la relación LV/PC es menor de 2:1 (duodeno: $1,92 \pm 0,11$, yeyuno: $1,94$ e íleon: $1,46$), en los animales desafiados con SeVT y que no recibieron zinc bacitracina (T₁), sugiriendo el beneficio que aportaría el uso de este antimicrobiano en el control de la infección por SeVT a nivel del TI, sin embargo, como se ha señalado, el peligro latente del incremento de la resistencia antimicrobiana en humanos por el uso de antibióticos en los animales de producción pecuaria [60, 61, 62], ha motivado la investigación acerca del uso de probióticos,

prebióticos y fitobióticos como probables alternativas al uso de antimicrobianos sintéticos en la producción de alimentos de origen animal [8, 49, 53], utilizándolos para mejorar el estatus inmunitario y mantener en equilibrio la microbiota intestinal de los animales mejorando su salud. Los resultados obtenidos en el presente estudio evidenciarían el efecto negativo sobre la histomorfometría intestinal de cuyes de engorde en respuesta al desafío con SeVT.

CONCLUSIONES

Las infecciones subclínicas causadas por SeVT en cuyes infectados a los 27 d de edad tienen efecto negativo e inducen a alteraciones histomorfométricas de las Vid. El poco desarrollo de las Vid a causa de la infección subclínica por SeVT podría contribuir al incremento del ICA. El uso de zinc bacitracina presentó una respuesta limitada en la disminución del efecto negativo sobre las V del TI ante la infección subclínica causada por SeVT. Los resultados obtenidos en la presente investigación contribuyen a un mejor conocimiento acerca del impacto que tienen las infecciones subclínicas en la producción comercial de esta especie para el consumo humano.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existe ningún conflicto de interés en la investigación realizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M.; STRINGHINI, J.; MINAFRA-REZENDE, C.; ANDRADE, L.; DE SÁ JAYME, V. Histomorphometrical evaluation of gastrointestinal tract and performance of Ross broilers hatched from eggs inoculated with *Salmonella enteritidis* phage type 4. **Italian J. Anim. Sci.** 12(3): e652013. 2013. <https://doi.org/gbdmw2>.
- ANGULO, J.; JARA, L.; PACHECO, J.; PEZO, D. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. **Rev. Invest. Vet. Perú.** 32(3): e20415. 2021.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th. Ed. Washington, DC. 2007. En línea: <https://bit.ly/3YBWoqj>. 01/08/2022.
- AZRIEL, S.; GOREN, A.; RAHAY, G.; GAL-MOR, O. The stringent response regulator DksA is required for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium growth in minimal medium, motility, biofilm formation, and intestinal colonization. **Infect. Immun.** 84: 375-384. 2016.
- BATISTA DE OLIVEIRA, P.; MURAKAMI, A.E.; DE MORAES, E.R.; MACARI, M.; SCAPINELLO, C. Influence of antinutritional factors of *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* and *Leucaena cunninghamii*) and pigeon bean (*Cajanus cajan*) on the intestinal epithelium and performance of broiler chickens. **Rev. Bras. Zoot.** 29: 1759-1769. 2000.
- BAZÁN, V.; BEZADA, S.; CARCELÉN, F.; YAMADA, G. Efecto de la infección subclínica de *Salmonella Typhimurium* sobre los parámetros productivos en la producción de cuyes de engorde (*Cavia porcellus*). **Rev. Invest. Vet. Perú.** 30(4): 1697-1706. 2020.

- [7] CABALLERO, R. Caracterización fenotípica y genotípica de salmonelosis en *Cavia porcellus* (cuyes) en las Regiones de Cajamarca, Lima y Moquegua. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Tesis de Grado. 48 pp. 2015. <https://bit.ly/3WdglSM>. 01/08/2022.
- [8] CARCELÉN, F.; SAN MARTÍN, F.; ARA, M.; BEZADA, S.; ASENCIOS, A.; JIMENEZ, R.; SANTILLÁN, G.; PERALES, R.; GUEVARA, J. Effect of the Inclusion of Different Levels of Probiotic on the Productive Parameters and Intestinal Morphology in Fattening Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). **Ciën. Rural. Santa Maria**. 51(11): e20200961. 2021.
- [9] CELI, P.; COWIESON, A.; FRU-NJI, S.; KLUENTER, A.; VERLHAC, V. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. **Anim. Feed Technol.** 234: 88-100. 2017.
- [10] CHAUCA, L. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 78 pp. 1997.
- [11] CHERO, O.; ROSADIO, R.; MARCELO, G.; DIAZ, G.; JIMENEZ, R.; CASTRO, Y.; MATURRANO, L. Identificación Molecular de *Salmonella* Typhimurium en Cuyes al Primer Parto mediante la Técnica de PCR Múltiple. **Rev. Invest. Vet. Perú**. 28(3): 679-686. 2017.
- [12] DAGHIGHIAN, P.; WAIBEL, P.E. The efficacy of bacitracin methylene disalicylate and zinc bacitracin in turkey nutrition. **Poult. Sci.** 61: 962-976. 1982.
- [13] DAPP N-UTRITION. Software para formulación de raciones a mínimo costo. Versión 2.0. Argentina. 2003. En línea: <https://bit.ly/3YC5pQw>. 05/05/2019.
- [14] DURAN, C.; LUNA, L.; CARHUARICRA, D.; SALVATIERRA, G.; ROSADIO, R.; MATURRANO, L. Evaluación de factores de virulencia en cepas de *Salmonella* Typhimurium aisladas de cuyes (*Cavia porcellus*) enfermos y sanos. **Rev. Invest. Vet. Perú**. 32(5): e21331. 2021.
- [15] ESPINOZA, K.; MORALES-CAUTI, S. *Salmonella* spp. en aves silvestres que habitan alrededor de una granja de cuyes tecnificada en el distrito de Manchay, Lima. **Rev. Invest. Vet. Perú**. 30(1): 423-429. 2019.
- [16] FOURNIER, J.B.; KNOX, K.; HARRIS, M.; NEWSTEIN, M. Family Outbreaks of Nontyphoidal Salmonellosis Following a Meal of Guinea Pigs. **Case Rep. Infect. Dis.** 2015: e864640. 2015.
- [17] FURLAN, A.C.; SCAPINELLO, C.; MOREIRA, I.; MARTINS, E.N.; MURAKAMI, A.E.; BURANELLO, F.L. Cobre e bacitracina de zinco como promotores de crescimento em rações para coelhos em crescimento. **Anim. Sci.** 24: 1027-1030. 2002.
- [18] GONZÁLEZ, I.P. Evaluación de probióticos sobre los índices productivos y la morfometría de las vellosidades intestinales en pollos de engorde. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. Tesis de Grado. 84 pp. 2016. <https://bit.ly/3FH80Ql>.
- [19] GONZÁLES, L. Efecto de los probióticos, prebióticos y simbióticos sobre la morfología intestinal y parámetros sanguíneos (serie eritrocítica y serie leucocítica) en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella* Typhimurium. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Tesis de Grado. 69 pp. 2018. <https://bit.ly/3BMTKVO>.
- [20] GOOGLE MAPS. 2022. Coordenadas de ubicación. En línea <https://www.google.com/maps>. 10/09/2022.
- [21] HALEY, B.J.; PETTENGILL, J.; GORHAM, S.; OTTESEN, A.; KARNS, J.S.; VAN KESSEL, J.A. Comparison of Microbial Communities Isolated from Feces of Asymptomatic *Salmonella*-Shedding and Non-*Salmonella* Shedding Dairy Cows. **Front. Microbiol.** 7: 691. 2016.
- [22] HOERR, F.J. Intestinal integrity and the impact of losing it. **World Poult.** 17(7): 16-19. 2001.
- [23] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA (INEI). Encuesta Nacional Agropecuaria. Cap. 05: Crianza (ganado y aves) / (población pecuaria y aves). Lima, Perú. 2017. En línea: <https://bit.ly/3G4ARiR>. 02/05/2022.
- [24] KOCZERKA, M.; LANTIER, I.; PINARD, A.; MORILLON, M.; DEPERNE, J.; GAL-MOR, O.; GREPINET, O.; VIRLOGEUX-PAVANT, I. *In Vivo* Tracking of Bacterial Colonization in Different Murine Models Using Bioluminescence: The Example of *Salmonella*. **Methods Mol. Biol.** 2427: 235-248. 2022.
- [25] LAYME, A.; PERALES, R.; CHAVERA, A.; GAVIDIA, C.; CALLE, S. Lesiones anatomopatológicas en cuyes (*Cavia porcellus*) con diagnóstico bacteriológico de *Salmonella* spp. **Rev. Invest. Vet. Perú**. 22: 369-376. 2011.
- [26] LÓPEZ, B. Efecto de la suplementación oral de una mezcla probiótica en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella typhimurium* sobre la morfología intestinal. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Tesis de Grado. 57 pp. 2018. <https://bit.ly/3VfyiKu>. 02/05/2022.
- [27] LORD, E.; COLLINS, C.; DEFRANCE, S.; LEFEBVRE, M.J.; PIGIÈRE, F.; EECKHOUT, P.; ERAUW, C.; FITZPATRICK, S.M.; HEALY, P.F.; MARTÍNEZ-POLANCO, M.F.; GARCIA, J.L.; RAMOS-ROCA, E.; DELGADO, M.; SÁNCHEZ-URRIBAGO, A.; PEÑA-LÉON, G.A.; TOYNE, J.M.; DAHLSTEDT, A.; MOORE, K.M.; LAGUER-DIAZ, C.; ZORI C.; MATISOO-SMITH, E. Ancient DNA of Guinea Pigs (*Cavia* spp.) Indicates a Probable New Center of Domestication and Pathways of Global Distribution. **Sci. Rep.** 10: 8901. 2020.
- [28] MANRIQUE, J.E. Caracterización Fenotípica Y Molecular Del Agente Causal De Salmonelosis En Cuyes (*Cavia porcellus*) De Arequipa. Universidad Católica de Santa María. Tesis de Maestría. 99 pp. 2010. <https://bit.ly/3HOARop>. 02/05/2022.
- [29] MATSUURA, A.; MORALES, S.; CALLE, S.; ARA, M. Susceptibilidad a antibacterianos *in vitro* de *Salmonella enterica* aislada de cuyes de crianza familiar-comercial en la provincia de Carhuaz, Ancash. **Rev. Invest. Vet. Perú**. 21(1): 93-99. 2010.
- [30] MOYA, A. Prevalencia de salmonelosis en cuyes (*Cavia porcellus*) procedentes de granjas del centro poblado Huancaquito Alto - Virú - La Libertad. Universidad Privada Antenor Orrego Trujillo, Perú. Tesis de Grado. 64 pp. 2019. <https://bit.ly/3BK0kVU>. 06/05/2022.
- [31] MURATE, L.S.; FERNANDA, G.P.; DE ALMEIDA, A.M.; BERCHIERI, J.R.; SHIMOKOMAKI, M. Efficacy of prebiotics, probiotics and synbiotics on laying hens and broiler challenged with *Salmonella enteritidis*. **J. Poult. Sci.** 52: 52-56. 2015.

- [32] NAKANDAKARI, L.; VÍLCHEZ, C. Efecto de la Suplementación con Cobre a Nivel Farmacológico sobre el Comportamiento Productivo, Morfometría Intestinal, Cobre Hepático y Fecal en Cuyes (*Cavia porcellus*). **Rev. Invest. Vet. Perú.** 27(3): 440–447. 2016.
- [33] ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Directrices de la OMS sobre el uso de antimicrobianos de importancia médica en animales destinados a la producción de alimentos: reseña de política. Suiza. 2017. En línea: <https://bit.ly/3PBHPzf>. 08/05/2022.
- [34] ORTEGA, G.; JIMÉNEZ, R.; ARA, M.; MORALES, S. La Salmonelosis como Factor de Riesgo de Mortinatalidad en Cuyes. **Rev. Invest. Vet. Perú.** 26(4): 676–681. 2015.
- [35] R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. 2013. En línea: <http://www.R-project.org/>. 15/04/2020.
- [36] RINNINELLA, E.; CINTONI, M.; RAOUL, P.; LOPETUSO, L.; SCALDAFERRI, F.; PULCINI, G.; MIGGIANO, G.A.; GASBARRINI, A.; MELE, M.C. Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. **Nutrients.** 11(10): 2393. 2019.
- [37] ROFES, J.; WHEELER, J.C. Sacrificio de cuyes en los Andes: el caso de El Yaral y una revisión biológica, arqueológica y etnográfica de la especie *Cavia porcellus*. **Archaeofauna.** 12: 29–45. 2003.
- [38] SALAVERRY, O.; MIKUMUSUMUM, H. La comida en el antiguo Perú. **Rev. Peru Med. Exp. Salud Publ.** 29(3): 409–413. 2012.
- [39] SALDARRIAGA, M. Efecto del uso de probióticos en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde desafiados con *Salmonella* Typhimurium sobre los parámetros productivos y Sanguíneos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Tesis de Grado. 82 pp. 2018. <https://bit.ly/3FHRf7y>. 15/04/2021.
- [40] SCHAR, D.; KLEIN, E.Y.; LAXMINARAYAN, R.; GILBERT, M.; VAN BOECKEL, T.P. Global trends in antimicrobial use in aquaculture. **Sci. Rep.** 10(1): e21878. 2020.
- [41] SEVCIKOVA, Z.; BLANAR, J.; LAUKOVA, A.; REVAJOVA, V.; STROMPFOVA, V.; LEVKUT, M. Effect of *Enterococcus faecium* EF 55 on histomorphometry and proliferative activity of intestinal mucosa in broilers infected with *Salmonella enteritidis*. **J. Vet. Res.** 60: 261–265. 2016.
- [42] SHAO, Y.; LEI, Z.; YUAN, J.; YANG, Y.; GUO, Y.; ZHANG, B. Effect of zinc on growth performance, gut histomorphometry, and caecal microbial community in broilers challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **J. Microbiol.** 52(12): 1002–1011. 2014.
- [43] SHIMIZU, M. Interaction between Food Substances and the Intestinal Epithelium. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 74(2): 232–241. 2010.
- [44] SIKANDAR, A.; ZANEB, H.; NASIR, A.; ADIL, M.; ALI, H.M.; MUHAMMAD, N.; REHMAN, T.; REHMAN, A.; REHMAN, H.F. Effects of *Bacillus subtilis* on performance, immune system and gut in *Salmonella*-challenged broilers. **South Afric. J. Anim. Sci.** 50(5): 654–662. 2020.
- [45] ST. AMAND, J.; CASSIS, R.; KING, R.; ANNETT, C.; COLLEN, B. Prevalence of *Salmonella* spp. In Environmental Samples from Table Egg Barns in Alberta. **Avian Pathol.** 46(6): 594–601. 2017.
- [46] STECHER, B.; HARDT, W. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. **Curr. Opin. Microbiol.** 14(1): 82–91. 2011.
- [47] STEFANELLO, C.; ROSA, D.P.; DALMORO, Y.K.; SEGATTO, A.L.; VIEIRA, M.S.; MORAES, M.L.; SANTIN, E. Protected blend of organic acids and essential oils improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal health of broiler chickens undergoing an intestinal challenge. **Frontiers Vet. Sci.** 6: 491. 2020.
- [48] STEWART, A.S.; PRATT-PHILLIPS, S.; GONZALEZ, L.M. Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the “Leaky Gut” in Health and Disease. **J. Equine Vet. Sci.** 52: 10–22. 2017.
- [49] SUGIHARTO, S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. **J. the Saudi Soc. Agricult. Sci.** 15(2): 99–111. 2016.
- [50] SUVARNA, S.; LAYTON, C. The hematoxylin and eosin. **Bancroft’s theory and practice of histological techniques.** E-book. 8th. Ed. Pp 126–138. 2018.
- [51] TAHOUN, A.; MAHAJAN, S.; PAXTON, E.; MALTERER, G.; DONALDSON, D.; WANG, D.; TAN, A.; GILLESPIE, T.; O’SHEA, M.; ROE, A.; SHAW, D.; GALLY, D.; LENGELING, A.; MABBOTT, N.; HAAS, J.; MAHAJAN, A. *Salmonella* transforms follicle associated epithelial cells into M cells to promote intestinal invasion. **Cell Host Microbe.** 12(5): 645–656. 2012.
- [52] TABLER, T.; GREENE, E.; ORLOWSKI, S.; HILTZ, J.; ANTHONY, N.; DRIDI, S. Intestinal Barrier Integrity in Heat-Stressed Modern Broilers and Their Ancestor Wild Jungle Fowl. **Front. Vet. Sci.** 7: 249. 1–12. 2020.
- [53] TAPIE, J. Evaluación del efecto de EMs (*Lactobacillus* spp. y *Sacharomyces* spp.) como aditivos nutricionales en la alimentación de cuyes. Tulcán, Ecuador: Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Tesis de Grado. 53 pp. 2013. <https://bit.ly/3W9wFUQ>. 08/05/2022.
- [54] TRAN, T.; EVERAERT, N.; BINDELLE, J. Review on the effects of potential prebiotics on controlling intestinal enteropathogens *Salmonella* and *Escherichia coli* in pig production. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl).** 102: 17–32. 2018.
- [55] TRUONG, D.; BODDY, K.; CANADIEN, V.; BRABANT, D.; FAIRN, G.; D’COSTA, V.; COYAUD, E.; RAUGHT, B.; PÉREZ, S.; PARK, W.; HEO, W.; GRINSTEIN, S.; BRUMELL, J. *Salmonella* exploits host Rho GTPase signalling pathways through the phosphatase activity of SopB. **Cell Microbiol.** 20(10): e12938. 2018.
- [56] TUSEVLJAK, N.; DUTIL, L.; RAJIC, A.; UHLAND, F.; McCLURE, C.; ST-HILAIRE, S.; REID-SMITH, R.; McEWEN, S. Antimicrobial use and resistance in aquaculture: findings of a globally administered survey of aquaculture-allied professionals. **Zoonoses Public Health.** 60(6): 426–436. 2013.
- [57] TURNER, J. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nature Rev. Immunol.** 9(11): 799–809. 2009.
- [58] VALLEJOS, P.; CARCELÉN, F.; JIMÉNEZ, R.; PERALES, R.; SANTILLÁN, R.; ARA, M.; CAZORLA, F. Efecto de la Suplementación de Butirato de Sodio en la Dieta de Cuyes (*Cavia porcellus*) de Engorde sobre el Desarrollo de las Vellosidades Intestinales y Criptas de Lieberkühn. **Rev. Invest. Vet. Perú.** 26: 395–403. 2015.

- [59] VAN BOECKEL, T.; BROWER, C.; GILBERT, M.; GRENFELL, B.; LEVIN, S.; ROBINSON, P.; TEILLANT, A.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**. 112(18): 5649-5654. 2015.
- [60] WANG, Z.; ZHANG, J.; LIU, S.; ZHANG, Y.; CHEN, C.; XU, M.; ZHU, Y.; CHEN, B.; ZHOU, W.; CUI, S.; YANG, B.; CHEN, J. Prevalence, antimicrobial resistance, and genotype diversity of *Salmonella* isolates recovered from retail meat in Hebei Province, China. **Inter. J. Food Microbiol.** 364: 1-9. 2022.
- [61] XIN, H.; GAO, M.; WANG, X.; QIU, T.; GUO, Y.; ZHANG, L. Animal farms are hot spots for airborne antimicrobial resistance. **Sci. Total Environ. Part 1**. 851(1): e158050. 2022. <https://doi.org/jqwk>.
- [62] XIN, W.; SUKSAWAT, F.; ANGKITITRAKU, S.; CHUNLIAN, S.; JUN CHAI, Y.; ZHANG, H.; WENGUI, L. A Systematic Review: The Source of Antimicrobial Resistance Pathogenic Bacteria on Slaughtered Meat, Cross-contamination or Self-contamination. **Thai J. Vet. Med.** 52(3): 424-440. 2022.
- [63] ZHANG, A.; LEE, B.; LEE, S.; LEE, K.; LEE C.; AN, G.; SOUGH, B. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. **Poult. Sci.** 84: 1015-1021. 2005.
- [64] ZHANG, Y.; WU, S.; MA, J.; XIA, Y.; Ai, X.; SUN, J. Bacterial protein AvrA stabilizes intestinal epithelial tight junctions via blockage of the C-Jun N-terminal kinase pathway. **Tissue Barrier**. 3(1-2): e972849. 2015.