

Resistencia antimicrobiana y genotipificación de cepas de *Salmonella* Typhimurium aisladas de cuyes (*Cavia porcellus*) provenientes de granjas de producción intensiva de la ciudad de Lima, Perú

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND GENOTYPING OF *SALMONELLA* TYPHIMURIUM STRAINS ISOLATED FROM GUINEA PIGS (*Cavia porcellus*) FROM INTENSIVE PRODUCTION FARMS OF THE CITY OF LIMA, PERU

Guillermo Salvatierra R.¹, Rocío Rimac B.¹, Ana Chero O.¹, Iván Reyna W.¹, Raúl Rosadio A.¹, Lenin Maturrano H.^{2,3}

RESUMEN

El objetivo del estudio fue caracterizar 20 cepas de *Salmonella enterica* a nivel molecular y de resistencia antimicrobiana. De estas, 15 fueron obtenidas de cuyes infectados y cinco de cuyes clínicamente sanos, procedentes de dos centros de producción intensiva ubicados en Lima, Perú. Mediante una técnica de PCR múltiple se detectaron los genes *invA*, *prot6E* y *fliC*, correspondientes al género *Salmonella* y serovares Enteritidis y Typhimurium, respectivamente. Se detectó la variabilidad genética mediante la técnica BOX-PCR utilizando el primer BOXA1R. La resistencia fue evaluada utilizando la técnica de Kirby Bauer en base a eritromicina, nitrofurantoína, estreptomycin, penicilina, enrofloxacin, fosfomicina, amoxicilina con ácido clavulánico, sulfatrimetoprim y ciprofloxacina. Se evidenció la serovariedad Typhimurium en el 100% de los aislados. La evaluación de los perfiles electroforéticos obtenidos por la técnica de BOX-PCR demostró alta homogeneidad, con patrones de bandas de ADN similares. Se detectaron cepas resistentes a eritromicina 60% (12/20), nitrofurantoína 40% (8/20), estreptomycin 30% (6/20), penicilina 25% (5/20), y enrofloxacin 10% (2/20). La detección de cepas resistentes puede ocasionar problemas en el tratamiento de salmonelosis en cuyes y la presencia de un solo grupo genético sugiere una dispersión clonal.

Palabras clave: salmonelosis; cuyes; Typhimurium; BOX-PCR; resistencia antimicrobiana

¹ Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, ² Laboratorio de Zootecnia y Producción Agropecuaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ E-mail: amaturrano@unmsm.edu.pe

Fuente financiera: Proyecto N.º 362 PNICP-PIAP 2014 «Desarrollo de una vacuna para el control y prevención de la salmonelosis en la producción cuyes»

Recibido: 12 de mayo de 2017

Aceptado para publicación: 22 de septiembre de 2017

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize 20 strains of *Salmonella enterica* at molecular level and antimicrobial resistance. Of these, 15 strains were obtained from infected guinea pigs and five from clinically healthy guinea pigs from two intensive production centers located in Lima, Peru. The *invA*, *prot6E* and *fliC* genes corresponding to the genus *Salmonella* and serovars Enteritidis and Typhimurium, respectively, were detected by a multiple PCR technique. Genetic variability was detected using the BOX-PCR technique using the first BOXA1R. Resistance was evaluated using the Kirby Bauer technique based on erythromycin, nitrofurantoin, streptomycin, penicillin, enrofloxacin, fosfomicin, amoxicillin with clavulanic acid, sulfatrimetoprim and ciprofloxacin. Serotype Typhimurium was determined in 100% of the isolates. The evaluation of the electrophoretic profiles obtained by the BOX-PCR technique demonstrated high homogeneity, with similar DNA bands patterns. Strains resistant to erythromycin 60% (12/20), nitrofurantoin 40% (8/20), streptomycin 30% (6/20), penicillin 25% (5/20), and enrofloxacin 10% (2/20) were detected. The detection of resistant strains may cause problems in the treatment of salmonellosis in guinea pigs and the presence of only a genetic group suggests a clonal dispersion.

Key words: salmonellosis; guinea pigs; Typhimurium; BOX-PCR; antimicrobial resistance

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es la enfermedad más grave que afecta a los cuyes, causando alta mortalidad y morbilidad, y puede ir acompañada de casos de abortos (Chauca, 1997). Existen actualmente más de 2610 serovariedades de *Salmonella* reconocidas en el mundo, y casi todas son capaces de causar enfermedad en humanos y animales (Guibourdenche *et al.*, 2010). Los principales serovares aislados de cuyes son Typhimurium y Enteritidis (Richardson, 2000), estando el primero presente en más del 95% de los casos (Chauca, 1997). Asimismo, ambos serovares son los más frecuentes en casos de salmonelosis en el humano (Farsdane *et al.*, 2016).

La discriminación genética entre aislados de *Salmonella* es de gran utilidad como herramienta epidemiológica, proveyendo información para mejoras en programas de prevención y control (Sabat *et al.*, 2013). Los métodos de tipificación basados en rep-PCR utilizan cebadores (*primers*) que hibridan se-

cuencias intergénicas no codificantes dispersas en todo el genoma. Estas secuencias han sido utilizadas para la caracterización de *Salmonella* en la distinción de especies, cepas, serovares, etc. (Lupiski *et al.*, 1992; Versalovic *et al.*, 1994; Rampadarath *et al.*, 2015). Una de las aplicaciones actuales para estas técnicas es la identificación de polimorfismos genéticos para determinar variabilidad y delinear relaciones epidemiológicas en la vigilancia y monitoreo de brotes (Lim *et al.*, 2005; Tunung *et al.*, 2007; Learn-Han *et al.*, 2008; Prasertsee *et al.*, 2016).

El incremento de aislados de *Salmonella* resistentes a antimicrobianos es un serio problema de salud pública en todo el mundo. La detección de cepas resistentes a antimicrobianos usados de manera rutinaria plantea limitaciones graves en las posibilidades de tratamiento eficaz (Su *et al.*, 2004). Las cepas de *Salmonella* resistentes no solo implican un riesgo para la salud animal, pues se ha demostrado la capacidad que tiene la bacteria de transmitirse a humanos por la cadena alimenticia, convirtiéndolo en un verdadero problema de salud pública (Threfall, 2002).

El objetivo del estudio fue la caracterización molecular de 20 aislados de *Salmonella enterica* provenientes de cuyes, mediante una técnica de PCR Múltiple para la serotipificación molecular y la examinación de huellas genéticas y variabilidad usando una PCR de secuencias repetitivas BOX. Asimismo, determinar los perfiles de resistencia a antimicrobianos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Experimental

Se analizaron 20 aislados de *Salmonella enterica* obtenidos de cuyes. Quince aislados fueron recuperados de muestras de hígado de cuyes diagnosticados con salmonelosis y los cinco restantes fueron recuperados a partir de muestras de hisopado rectal de cuyes clínicamente sanos de dos centros de producción intensiva ubicados en los distritos de Huaral y Manchay en Lima, Perú, respectivamente. Ambas granjas, presentan brotes focalizados de salmonelosis de manera continua, con un incremento en las estaciones de mayor temperatura. Todos los aislados fueron identificados según norma ISO 6579:2002.

El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, durante los meses de setiembre y octubre de 2016.

Extracción de ADN Bacteriano

Se realizó la extracción de ADN con el kit «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» de ThermoFisher Scientific™ para bacterias Gram negativas, siguiendo los pasos de lisis nucleica, degradación de RNA, precipitación proteica, lavado con alcoholes y rehidratación del ADN (Thermo Fisher Scientific, 2014).

Serovariedad Typhimurium

Se realizó una PCR múltiple para la detección del gen *invA*, que permite determinar que el DNA extraído corresponde a un microorganismo perteneciente al género *Salmonella*, y los genes *fliC* y *prot6E* que permiten determinar la serovariedad Typhimurium y Enteritidis, respectivamente.

Las secuencias de oligonucleótidos están descritas en el Cuadro 1 (Jamshidi *et al.*, 2010). Se trabajó con un volumen de reac-

Cuadro 1. Secuencia y tamaño (pb) de cebadores (Forward-Reverse [F-R]) utilizados en la PCR múltiple

Gen	Cebador	Secuencia cebador 5' – 3'	Producto (pb)
<i>invA</i>	S139-F	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA	284
	S141-R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	
<i>fliC</i>	Fli15-F	CGGTGTTGCCAGGTTGGTAAT	559
	Tym-R	ACTCTTGCTGGCGGTGCGACTT	
<i>prot6E</i>	Prot6e-5-F	ATATCGTCGTTGCTGCTTCC	185
	Prot6e-6-R	CATTGTTCCACCGTCACTTG	

ción de 15 µl que contenía 2 µl de ADN, 7.5 µl QIAGEN Master Mix Multiplex, los cebadores para detección de genes *invA* y *prot6E* en concentración de 1 µM y el cebador para detección del gen *fliC* en concentración de 0.5 µM. Adicionalmente a los aislados, se utilizaron *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 y *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 como controles.

Las condiciones de los ciclos fueron 5 min a 95 °C para una desnaturalización inicial, 35 ciclos de 45 s a 95 °C para desnaturalización, 45 s a 58 °C para hibridación, 45 s a 72 °C para elongación y 7 min a 72 °C para una elongación final. Para la PCR se utilizó un termociclador Bio-Rad MyCycler. Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis utilizando un gel de agarosa al 1.5%, un marcador de peso molecular de 100 bp y TBE como buffer de corrida, a 100V y 100 mA por 2 h. El gel fue teñido con bromuro de etidio (1 µg/ml) y las bandas fueron observadas en un transiluminador UV Cleaver Scientific MUV-245/365 para su fotografiado.

BOX-PCR

Para detectar la diversidad genética entre las cepas se utilizó la técnica de BOX-PCR, empleando el cebador BOXA1R descrito por Versalovic *et al.* (1991): 5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'. Se trabajó con un volumen de reacción de 15 µl que contenía 2 µl de ADN, 7.5 µl QIAGEN Master Mix Multiplex y el cebador BOXA1R en concentración de 2 µM. Se utilizaron, además, como controles a *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* y *Pasteurella multocida*, siendo los dos últimos obtenidos del cepario de este laboratorio.

Las condiciones de los ciclos fueron 5 min a 95 °C para una desnaturalización inicial, 30 ciclos de 3 s a 94 °C para una primera desnaturalización, 30 s a 92 °C para una segunda desnaturalización, 1 min a 50 °C para

hibridación, 8 min a 65 °C para elongación y 8 min a 65 °C para una elongación final. Para la PCR se utilizó un termociclador Bio-Rad MyCycler.

Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis utilizando un gel de agarosa al 1.5%, un marcador de peso molecular de 100 bp y 1000pb y TBE como buffer de corrida a 100V y 100 mA por 3 h. El gel fue teñido con bromuro de etidio (1 µg/ml) y las bandas se visualizaron en el transiluminador UV Cleaver Scientific MUV-245/365 para su fotografiado.

Análisis de Datos

En la PCR múltiple se realizó la identificación de las bandas correspondientes a *Salmonella* spp que fueron de 284 pb y a los serovares Typhimurium y Enteritidis de 559 y 185 pb, respectivamente. Para evaluar la diversidad de los aislados, se realizó el análisis de agrupamiento (*clusters*) para generar un dendrograma usando el programa bioinformático NTSYSpc 2.10, empleando el método UPGMA, basado en el coeficiente de similitud de DICE. La matriz de distancias se construyó a partir de datos binarios (presencia/ausencia de bandas) obtenidos del análisis de BOX-PCR. Las distancias genéticas relativas encontradas fueron utilizadas para elaborar el dendrograma e ilustrar las relaciones genéticas calculadas a partir de los datos.

Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana

Se utilizó la técnica de Kirby Bauer según los métodos recomendados para la prueba de sensibilidad e interpretación de halos de inhibición del CLSI (2009). Se utilizaron nueve antimicrobianos: eritromicina (15 µg), nitrofurantoína (300 µg), estreptomina (10 µg), enrofloxacin (5 µg), penicilina (10 U), amoxicilina con ácido clavulánico (30 µg), sulfatrimetoprim (25 µg), ciprofloxacina (5 µg) y fosfomicina (200 µg). Los puntos de corte se basaron en los especifica-

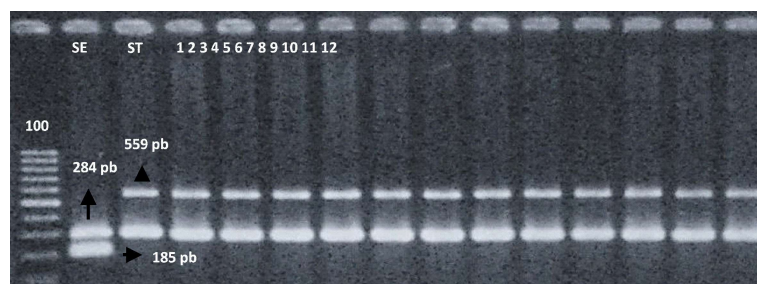


Figura 1. PCR múltiple utilizando tres cebadores. Los productos amplificados de 559 pb del gen *fliC* específico para la serovariedad Typhimurium, de 284 pb del gen *invA* específico para género *Salmonella* spp y de 185 pb del gen *prot6E* específico para la serovariedad Enteritidis. 100 = marcador de peso molecular de 100 pb; SE = *Salmonella* Enteritidis; ST = *Salmonella* Typhimurium; 1-12 = aislados analizados

dos por CLSI (2009). Las cepas que presentaron resistencia a tres o más fármacos no relacionados se consideraron como resistentes a múltiples drogas (MDR).

RESULTADOS

Todos los aislados amplificaron las secuencias *invA* de 284 pb y *fliC* de 559 pb, correspondientes al género *Salmonella* y serovariedad Typhimurium, respectivamente. No hubo amplificación de la secuencia *prot6E* de 185 pb correspondiente a la serovariedad Enteritidis (Figura 1). Todos los aislados (20/20) fueron identificados como *Salmonella* Typhimurium.

Los aislados de *Salmonella* Typhimurium fueron analizados mediante rep-PCR. Los patrones de las huellas genéticas generadas con el uso de primer BOX1AR mostraron alta homogeneidad entre los aislados. Cada aislado presentó un total de 10 bandas con un tamaño en rangos de 300 pb a 2500 pb. El diseño de un dendrograma permitió detectar la presencia de un solo grupo genético, con 100% de similitud (Figura 2).

La evaluación de resistencia a antimicrobianos fue realizada mediante la técnica de Kirby Bauer. Se detectaron aislados resistentes principalmente a eritromicina 60% (12/20), seguido por nitrofurantoína 40% (8/20), estreptomycin 30% (6/20), penicilina 25% (5/20), y enrofloxacin 10% (2/20). No se detectó resistencia para amoxicilina con ácido clavulánico, sulfatrimetoprim, ciprofloxacina y fosfomicina (Cuadro 2).

El 25% (5/20) presentó resistencia a tres o más antimicrobianos, considerándose como cepas MDR (multidrogo-resistente). Entre ellos, eritromicina-penicilina-nitrofurantoína (2), eritromicina-nitrofurantoína-estreptomycin (1), eritromicina-enrofloxacin-nitrofurantoína-estreptomycin (1) y eritromicina-penicilina-nitrofurantoína-eritromicina (1).

DISCUSIÓN

Todos los aislados fueron identificados como *Salmonella* Typhimurium mediante el uso de una PCR múltiple. Si bien existen estudios que han identificado la presencia de varias serovariedades de *Salmonella* en

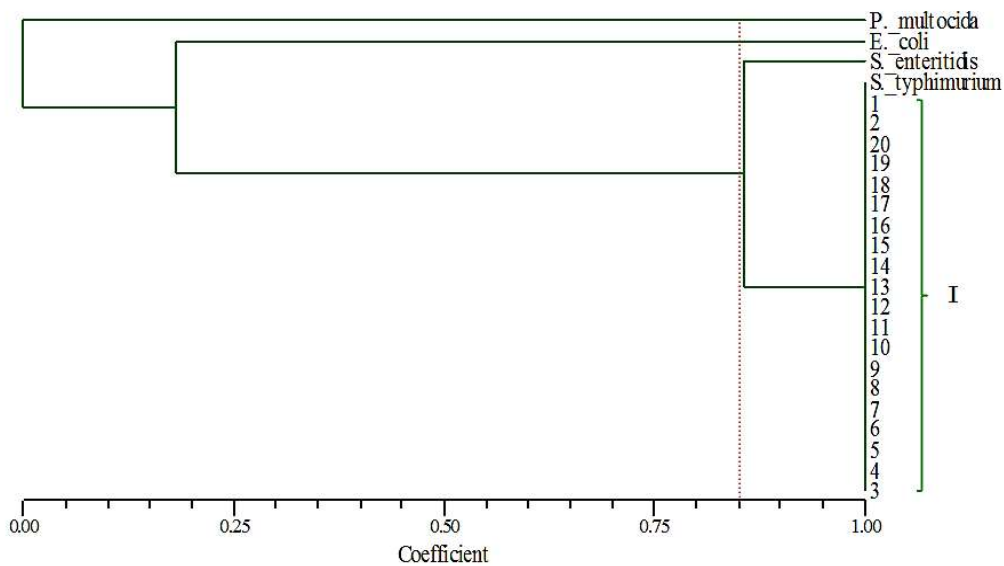


Figura 2. Dendrograma que muestra los resultados de BOX-PCR de 20 aislados de *Salmonella Typhimurium*, así como de aislados de *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 y *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028. Se observa una similitud del 100% utilizando el coeficiente de DICE entre los aislados

cuyes, tales como Typhimurium, Enteritidis y Abortusequi entre otras, *Salmonella Typhimurium* es la serovariedad aislada con mayor frecuencia y está asociada a casos clínicos con altas tasas de mortalidad e inclusive con la ocurrencia de casos crónicos (Pivnick *et al.*, 1966; Chauca, 1997; Richardson, 2000; Singh *et al.*, 2005; Casart y Falconí, 2016).

Los aislados de *Salmonella Typhimurium* fueron genotipificados mediante el uso de una reacción en cadena de la polimerasa de elementos repetitivos (rep-PCR) conocida como BOX PCR. Esta técnica hibrida secuencias intergénicas no codificantes dispersas en el genoma, produciendo múltiples amplicones de distinto peso molecular, los cuales son caracterizados mediante una electroforesis y los patrones de bandas son comparados para determinar la relación genética entre los aislados (Lupiski *et al.*, 1992; Versalovic *et al.*, 1994; Rampadarath *et al.*, 2015).

El uso de una BOX-PCR y el diseño de un dendrograma con base a la presencia o ausencia de bandas demostró una alta homogeneidad de todos los aislados de *Salmonella Typhimurium* del estudio. Existen estudios que han reportado el poder discriminatorio de los métodos de tipificación basados en secuencias repetitivas, que permiten identificar la serovariedad e inclusive subclasificar dentro de un mismo serovar (Botteldoorn *et al.*, 2004; Prasertsee *et al.*, 2016). Por ello, la detección de un solo grupo genético con una similitud total entre los aislados podría sugerir una dispersión clonal entre los centros de producción.

El mayor porcentaje de resistencia obtenido en la prueba de sensibilidad antimicrobiana fue para eritromicina. Los macrólidos no son el tratamiento de elección para la salmonelosis en cuyes porque puede resultar en toxicidad por alteración de la flora Gram positiva del intestino, permitiendo la proliferación de las bacterias Gram negati-

Cuadro 2. Frecuencia y porcentajes obtenidos en la prueba de sensibilidad antimicrobiana de 20 aislados de *Salmonella enterica* obtenidos de cuyes

Antimicrobianos	Resistente		Intermedio		Sensible	
	n	%	n	%	n	%
Eritromicina	12	60	8	40	0	0
Enrofloxacin	2	10	9	45	9	45
Amoxicilina con ácido clavulánico	0	0	0	0	20	100
Penicilina	5	25	0	0	15	75
Sulfatrimetoprim	0	0	0	0	20	100
Ciprofloxacina	0	0	0	0	20	100
Nitrofurantoína	8	40	1	5	11	55
Fosfomicina	0	0	0	0	20	100
Estreptomina	6	30	5	25	9	45

vas potencialmente patógenas, ocasionando enterocolitis y muerte (Matsuura *et al.*, 2010). Sin embargo, la presencia de aislados de *Salmonella* resistentes podría deberse a mecanismos propios de la bacteria, y no debido a su uso en la producción de cuyes. Existen estudios que han demostrado la importancia de mecanismos propios de *Salmonella* como bombas de eflujo en la resistencia a eritromicina (Braoudaki y Hilton, 2005).

En este estudio el 25% (5/20) de aislados fueron resistentes a penicilina y ninguno a amoxicilina con ácido clavulánico. Si bien Matsuura *et al.* (2010) señalan que está contraindicado el uso de betalactámicos en cuyes por su toxicidad, de manera similar a los macrólidos, se consideró importante evaluar la resistencia a betalactámicos por la posible presencia de betalactamasas, enzimas que degradan betalactámicos y se encuentran involucradas en resistencia y fracasos terapéuticos (Shaikh *et al.*, 2015). La presencia de aislados resistentes a penicilina y la ausencia de ellos a amoxicilina con ácido clavulánico podría deberse a que este último es un inhibidor de betalactamasas, permitien-

do la acción antimicrobiana de la amoxicilina (Navarro *et al.*, 2011).

El 40 y 30% de aislados fueron resistentes a nitrofurantoína y estreptomina, respectivamente. Estas frecuencias fueron mayores a los hallados por Matsuura *et al.* (2010), quienes no encontraron aislados resistentes a estreptomina y solo el 15% (6/40) de resistencia a otro nitrofurano, la furazolidona. Según Chauca (1997), los nitrofuranos y la estreptomina son drogas de elección para el tratamiento de salmonelosis en cuyes. La aparición de cepas resistentes podría explicarse por el uso rutinario y no controlado para el control de la enfermedad en la producción de cuyes. Por otro lado, los resultados obtenidos para fosfomicina y sulfatrimetoprim son similares a los obtenidos por Matsuura *et al.* (2010).

Finalmente, no hubo aislados resistentes a ciprofloxacina, una quinolona de segunda generación, pero se detectó 10% (2/20) de resistencia y 45% (9/20) de sensibilidad intermedia para enrofloxacin, una quinolona de tercera generación. En el Perú, es común

utilizar enrofloxacin como tratamiento de salmonelosis en cuyes (Matsuura *et al.*, 2010), por lo que su uso rutinario podría conducir a la aparición de aislados resistentes.

CONCLUSIONES

- Todos los aislados de *Salmonella* (20/20) fueron identificados como *Salmonella* Typhimurium mediante una técnica de PCR múltiple, debido a la amplificación de los genes *invA* y *fliC*, de 284 y 559 pb, respectivamente.
- La técnica BOX PCR identificó un patrón genético similar y de alta homogeneidad en todos los aislados de *Salmonella* Typhimurium.
- Se detectaron cepas de *Salmonella* Typhimurium MDR aisladas de cuyes con fenotipos resistentes a eritromicina, penicilina, nitrofurantoína, estreptomina o enrofloxacin.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad – Innóvate Perú, fuente financiadora del Proyecto «Desarrollo de una vacuna para el control y prevención de la salmonelosis en la producción de cuyes», Contrato N.º 362-PNICP-PIAP-2014, y a los propietarios de los centros de crianza de cuyes por brindar las facilidades para realizar el estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Braoudaki M, Hilton AC. 2005.** Mechanisms of resistance in *Salmonella enterica* adapted to erythromycin, benzalkonium chloride and triclosan. *Int J Antimicrob Agents* 25: 31-37. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.07.016
2. **Casart Y, Falconí M. 2016.** Tipificación molecular de *Salmonella* aislada de cuyes (*Cavia porcellus*) de Loja, Ecuador. *Rev Científ Ecuatoriana* 3: 38-42.
3. **Chauca L. 1997.** Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO. 78 p.
4. **[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility M2-A10. 10th ed. Pennsylvania, USA: CLSI. 172 p.
5. **Fardsanei F, Nikkhahi F, Bakhshi B, Zahraei T, Asfari I, Soltan MM. 2016.** Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from food and human samples by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profiling, (GTG)₅-PCR and ERIC-PCR. *New Microbe New Infect* 14: 24-30. doi: 10.1016/j.nmni.-2016.07.016
6. **Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemuhl J, Grimont PAD, Weill FX. 2010.** Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res Microbiol* 161: 26-29.
7. **Jamshidi A, Kalidari G, Hedayati M. 2010.** Isolation and identification of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium from the eggs of retail stores in Mashhad, Iran using conventional culture method and multiplex PCR assay. *J Food Safety* 30: 558-568. doi: 10.1111/j.1745-4565.2010.00225.x
8. **Learn-Han L, Yoke-Kqueen C, Salleh NA, Sukardi ES, Jiun-Horng ES, Chari-Hoon EK, Radu ES. 2008.** Analysis of *Salmonella* Agona and *Salmonella* Weltevreden in Malaysia by PCR fingerprinting and antibiotic resistance profiling. *Antonie van Leeuwenhoek* 94: 377-387. doi: 10.1007/s10482-008-9254-y
9. **Lim H, Lee, KH, Hong CH, Bahk GJ, Choi WS. 2005.** Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of *Salmonella* spp. *Int J Food Microbiol* 105: 411-418. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.019

10. **Lupiski JR, Weinstock GM. 1992.** Short, interspersed repetitive DNA sequences in prokaryotic genomes. *J Bacteriol* 174: 4525-4529.
11. **Matsuura A, Morales S, Calle S, Ara M. 2010.** Antimicrobial *in vitro* susceptibility of *Salmonella* enterica isolated from guinea pigs of familiar-commercial breeding systems in the province of Carhuaz, Ancash. *Rev Inv Vet Peru* 21: 93-99. doi: 10.15381/rirep.v21i1.355
12. **Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. 2011.** Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 29: 524-534. doi: 10.1016/j.eimc.2011.03.011
13. **Pivnick SH, Stuart F, Walcroft M. 1966.** Establishment of a *Salmonella*-free guinea pig colony. *Can J Comp Med Vet Sci* 30: 279-281.
14. **Prasertsee T, Khantaprab N, Yamsakul P, Santiyanont P, Chokesajjawatee N, Patchanee P. 2016.** Repetitive sequence-based PCR fingerprinting and the relationship of antimicrobial-resistance characteristics and corresponding genes among *Salmonella* strains from pig production. *Asian Pac J Trop Dis* 6: 390-395. doi: 10.1016/S2222-1808(15)61054-4
15. **Rampadarath S, Puchooa, Bal S. 2015.** Repetitive element palindromic PCR (rep-PCR) as a genetic tool to study interspecific diversity in Euphorbiaceae family. *Electronic J Biotechnol* 18: 412-417. doi: 10.1016/j.ejbt.2015.09.003
16. **Richardson VCG. 2000.** Diseases of domestic guinea pigs. 2nd ed. USA: Blackwell Science. 144 p.
17. **Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, van Dijk JM, Laurent F, Grundmann H, et al. 2013.** Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill* 18(4): 20380.
18. **Singh BR, Alam J, Hansda D. 2005.** Alopecia induced by salmonellosis in guinea pigs. *Vet Rec* 156: 516-518.
19. **Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi S, Kamal, MA. 2015.** Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci* 22: 90-101. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.08.002
20. **Su LH, Chiu CH, Chu C, Ou J. 2004.** Antimicrobial resistance in nontyphoid *Salmonella* serotypes: a global challenge. *Clin Infect Dis* 39: 546-551. doi: 10.1086/422726
21. **Thermo Fisher Scientific. 2014.** Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit. User guide. [Internet]. Available in: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0012663_GeneJET_Genomic_DNA_Purification_Kit_UGpdf
22. **Threfall EJ. 2002.** Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev* 26:141-148. doi: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00606.x
23. **Tunung R, Chai LC, Usha M, Lee HY, Fatimah AB, Farinazleen MG, Son R. 2007.** Characterization of *Salmonella enterica* isolated from street food and clinical samples in Malaysia. *ASEAN Food J* 14: 161-173.
24. **Versalovic J, Schneider M, de Bruijn FJ, Lupski JR. 1994.** Genomic fingerprinting of bacteria using the repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods Mol Cell Biol* 5: 25-40.
25. **Versalovic, J, Koeuth, T, Lupski, J. 1991.** Distribution of repetitive DNA sequence in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genome. *Nucleic Acid Res* 19: 6823-6831.