



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

Perfil microbiológico de un alimento tipo BARF y su efecto en el estado
general de salud de perros adultos

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta:

MVZ Juana Karla Díaz Hernández

Dirigido por:

Dra. María Concepción Méndez Gómez-Humarán

Co-dirigido por:

Dra. Beatriz Liliana Álvarez Mayorga

Dra. María Concepción Méndez Gómez-Humarán

Presidente

Dra. Beatriz Liliana Álvarez Mayorga

Secretaria

MSPAS Orlando Federico Chávez Moreno

Vocal

M en C Roxana Preciado Cortés

Suplente

Dra. Laura Cristina Berumen Segura

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Agosto 2024

México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

RESUMEN

Se realizó el trabajo de investigación para determinar el perfil microbiológico de una dieta cruda biológicamente apropiada (BARF), para la alimentación de perros adultos, así como sus posibles efectos en el estado general de salud de estos. El estudio arrojó que los conteos de bacterias coliformes de las muestras representativas, en promedio se encuentran en 5.9 Log, lo cual sobrepasa los niveles establecidos en la NOM-213-SSA1-2018. De igual forma, los conteos de bacterias mesófilas aerobias se encuentran en promedio en 7.5 Log, superando los niveles establecidos en la norma NOM-213-SSA1-2018. En cuanto a los indicadores de frescura, los conteos de colonias para la bacteria *Brochothrix thermosphacta*, se encontraron en 6.9 Log y 7.3 Log, superando de igual forma los niveles sugerentes de frescura. Por otro lado, la prueba de número más probable arrojó la presencia de bacterias coliformes, específicamente *Escherichia coli*, indicador por excelencia de contaminación de origen fecal, teniendo prueba positiva a fermentación de la lactosa, indol y la producción de la enzima metil-umbil-glucoronidasa, en al menos un tubo de dilución de cada muestra durante 5 de las 12 semanas de prueba. De las muestras positivas, 6 se encontraron en >1100 NMP/ml, lo cual se coloca muy por encima de la norma NOM 213-SSA1-2018, que establece <10 NMP/ml como límite máximo. En los cultivos específicos de *Salmonella spp.*, se encontraron 7 colonias sospechosas en muestras de alimento y 7 en muestras en las muestras de materia fecal durante el desarrollo de la investigación. En cuanto a los efectos en el estado de salud, los perros tuvieron cambios oscilantes de pérdida de peso entre el 5.5% y el 9.7% durante el desarrollo del proyecto. Presentaron un aumento del tiempo de ingesta del alimento con el paso de las semanas entre un 50% y un 100% de los minutos iniciales, mostrando cada vez más renuencia. La consistencia de la materia fecal descendió entre 1 y 2 puntos en la escala de Bristol modificada, provocando algunos problemas de estreñimiento. Se obtuvo el perfil microbiológico del alimento y se observó concluyentemente que no se encuentra dentro de lo que establecen las normas para consumo de carne cruda, así como la alteración de las tres variables indicativas de salud, por ello, no es recomendable el uso de este tipo de dietas sin una previa valoración microbiológica y de salud del perro, debido a que la carga microbiológica deterioradora y potencialmente patógena puede generar cambios importantes en la salud de los perros que las consumen.

(**Palabras clave:** *Salmonella*, BARF, contaminación, frescura, coliformes)

SUMMARY

The research work was carried out to determine the microbiological profile of a biologically appropriate raw diet (BARF), for feeding adult dogs, as well as its possible effects on their general state of health. The study showed that the coliform bacteria count of the representative samples, on average, are at 5.9 Log, which exceeds the levels established in NOM-213-SSA1-2018. Likewise, the counts of aerobic mesophilic bacteria are on average at 7.5 Log, exceeding the levels established in the NOM-213-SSA1-2018 standard. Regarding freshness indicators, colony counts for the bacteria *Brochothrix thermosphacta* were found at 6.9 Log and 7.3 Log, also exceeding the suggestive levels of freshness. On the other hand, the most probable number test showed the presence of coliform bacteria, specifically *Escherichia coli*, the quintessential indicator of contamination of fecal origin, with a positive test for lactose fermentation, indole and the production of the enzyme methyl-umbil-glucuronidase, in at least one dilution tube of each sample during 5 of the 12 weeks of testing. Of the positive samples, 6 were found at >1100 NMP/ml, which is well above the NOM 213-SSA1-2018 standard, which establishes <10 NMP/ml as the maximum limit. In the specific cultures of *Salmonella spp.*, 7 suspicious colonies were found in food samples and 7 in fecal matter samples during the development of the investigation. Regarding the effects on health status, the dogs had weight loss changes ranging between 5.5% and 9.7% during the development of the project. They showed an increase in the time of food intake as the weeks went by between 50% and 100% of the initial minutes, showing more and more reluctance. The consistency of the stool dropped between 1 and 2 points on the modified Bristol scale, causing some constipation problems. The microbiological profile of the food was obtained, and it was conclusively observed that it is not within what is established by the standards for consumption of raw meat, as well as the alteration of the three variables indicative of health, therefore, the use of this product is not recommended. type of diets without a prior microbiological and health assessment of the dog, because the deteriorating and potentially pathogenic microbiological load can generate important changes in the health of the dogs that consume them.

(Key words: *Salmonella*, BARF, contamination, freshness, coliforms)

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, por permitirme el desarrollo de mi proyecto de investigación en sus laboratorios y con el apoyo de su personal.

Al Consejo Nacional de Humanidad, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada durante todo el avance del proyecto.

A mi directora de tesis, la Dra. María Concepción Méndez Gómez-Humarán, por acompañarme desde la licenciatura en cada proyecto. Por aceptar ser de nuevo quien dirige mi proyecto, pero en esta ocasión desde el inicio hasta el final. Por ser quién me alentó a hacer todo lo que quise, a no tener miedo a decir lo que siento, a hacer lo que quiero, a seguir adelante. Gracias por ser la única persona que se preocupó más allá de lo esperado por un director de tesis, por preguntarme como estaba, por motivarme a participar en todo lo que quise e incluso en lo que no quería, siempre buscar un buen motivo para hacerlo. Gracias por siempre buscarme, por siempre presionarme, por llevarme al límite de todo para poder llegar al objetivo en tiempo y forma. Gracias por ser la mejor directora de todas.

A los integrantes de mi comité tutor:

La M en C Beatriz Liliana Álvarez Mayorga, por todo su apoyo con su conocimiento, materiales, espacio y tiempo. Por siempre recibirme con una sonrisa.

El MSPAS Orlando Federico Chávez Moreno, por siempre sumarle algo nuevo en cada oportunidad al proyecto.

La M en C Roxana Preciado Cortez, por acceder a estar en este proyecto que inclusive es ajeno a su área.

La Dra. Laura Cristina Berumen Segura, por su invaluable ayuda en la parte más complicada de mi trabajo, por darme su tiempo y espacios para explicarme con lujo de detalle cada paso, cada duda, cada inquietud, por siempre sonreír, por su tono de voz que siempre calmaba mis momentos de frustración y por darme en cada oportunidad nuevos motivos para seguir con el proyecto a pesar de las adversidades que se presentaron.

Agradezco también a otros profesores involucrados que de muchas formas me ayudaron a enriquecer todo lo aprendido y a explicarme pacientemente cosas nuevas todos

los días, como la Dra. Ericka Beatriz Álvarez, por explicarme como hacer un estriado, como interpretar un agar y sus colonias y la Dra. Sofia María Arvizu Medrano, mi querida Dra Sofi, por ver mis resultados cada que podía, por preguntarme en cada oportunidad sobre mi proyecto, explicarme cosas que no entendía, por darle un rumbo a mi camino cuando estaba muy perdida, por escucharme siempre con una sonrisa y alentarme a seguir a pesar de cada pero que puse en el camino.

De igual forma agradezco a Mar Arreola, Celia Conejo y a mis amigos que estuvieron de manera directa e indirecta en este camino, ayudando de diferentes formas, y también a todos los que escucharon muchas negativas por el tiempo que le dediqué a este proyecto.
Mil Gracias

DEDICATORIA

A Tais, mi compañera de vida; por esperarme en casa todos los días, incluidos los que llegué muy tarde del laboratorio y acompañarme en todas las noches de estudio.

A mi hermano Fabricio Díaz Hernández y a mi sobrina Valeria Díaz Santana, por ayudarme y acompañarme muchos días en el laboratorio.

ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
ÍNDICE	Vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Antecedentes.....	2
2.2 Dietas tipo BARF.....	2
2.3 El mercado de las dietas BARF.....	4
2.4 Alimentación del perro doméstico.....	4
2.5 Beneficios de las dietas BARF.....	5
2.6 Efectos adversos de las dietas BARF.....	5
2.7 Contaminación bacteriana.....	6
2.7.1 Microorganismos indicadores.....	7
2.7.1.1 Bacterias mesófilas aerobias.....	8
2.7.1.2 Bacterias ácido-lácticas	8
2.7.1.3 <i>Brochothrix thermosphacta</i>	9
2.7.1.4 Coliformes	9
2.7.2 Microorganismos patógenos.....	9
2.7.2.1 <i>Salmonella spp.</i>	10
2.7.2.2 <i>Escherichia coli.</i>	10
III. HIPOTESIS.....	11
IV. OBJETIVOS.....	11
4.1 Objetivo General.....	11
4.2 Objetivos Específicos.....	11
V. METODOLOGÍA.....	12
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
VII. CONCLUSIONES.....	33
VIII. IMPLICACIONES	34
LITERATURA CITADA.....	36
ANEXOS.....	40
Anexo 1. Consentimiento informado.....	40
Anexo 2. Índice de condición corporal en perros según la WSAVA.....	43
Anexo 3. NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – salud ambiental – residuos peligrosos biológico-infecciosos – clasificación y especificaciones de manejo.....	44
Anexo 4. Panel de puntuación fecal según la escala modifica de Bristol.....	46
Anexo 5. NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecidos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Conteo de coliformes totales.....	20
2. Agar de coliformes totales.....	21
3. Conteo bacterias mesófilas aerobias.....	22
4. Agar de Bacterias Mesófilas Aerobias.....	22
5. Conteo de <i>Brochothryx thermosphacta</i>	23
6. Conteo de bacterias ácido-lácticas.....	23
7. Agar de <i>Brochothryx thermosphacta</i>	24
8. Agar de Bacterias ácido-lácticas.....	24
9. Resultados de la prueba Número Más Probable (NMP).....	25
10. Resultados positivos a la prueba de indol.....	26
11. Número más probable (gas y turbidez).....	26
12. Número más probable (fluorescencia).....	27
13. Número más probable (indol positivo).....	27
14. Agar XLD con colonias sospechosas a <i>Salmonella spp</i>	28
15. Agar ASB con colonia sospechosa a <i>Salmonella spp</i>	28
16. Tiempo de consumo del alimento.....	29
17. Oscilación del peso.....	30
19. Puntuación fecal.....	32

INTRODUCCIÓN

Las dietas crudas biológicamente apropiada o conocidas como BARF, por sus siglas en inglés Biologically Appropriate Raw Food, son dietas caseras o industriales que se realizan a base de alimentos crudos, como derivados de la carne y vísceras crudos, algunos vegetales, cereales y frutas, destinados para la alimentación de perros y gatos.

La tendencia social hoy en día, lleva a los propietarios a considerar que la alimentación de los perros podría ser similar a la de sus antecesores evolutivos, como lo son los lobos, sin tomar en cuenta que la domesticación del perro tiene ya varios siglos y con ella, se han dado cambios evolutivos en los perros que comparten el día a día con ellos, y que los hace distar por mucho de sus antepasados.

Con las dietas BARF, al ser un alimento crudo, se debe tener particular cuidado en el manejo y administración de este a los animales, ya que puede contaminarse muy fácilmente en cualquier etapa de su proceso. A pesar de los posibles riesgos en la salud que implica el simple hecho de considerar una dieta cruda para la alimentación de los animales de compañía, las dietas tipo BARF han tenido una gran aceptación por parte de médicos y propietarios, sin embargo, muchos de estos, presentan diversos trastornos digestivos que derivan en visitas recurrentes a la clínica veterinaria. Es de suma importancia considerar que el sistema digestivo del actual perro doméstico pueda ser capaz de metabolizar y absorber la proteína cárnica cruda, siendo esta menos digestible y pudiendo provocar algunos trastornos digestivos, como mayor fermentación (gases), mayores movimientos peristálticos, estreñimiento o diarrea entre otras.

Por ello es importante identificar a las bacterias presentes y si hay evidencia de deterioro en el alimento, así como su relación con el estado general de salud de

los perros, para prevenir futuros problemas y orientar a los involucrados respecto al uso de este tipo de dietas.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Las dietas BARF (por sus siglas en inglés *Biologically Appropriate Raw Food*) comenzaron su auge en Australia a cargo del médico veterinario Ian Billinghurst alrededor de 1993, quien se encargó de popularizarlas con base en la idea de poder alimentar a perros y gatos con restos de comida que, según su apreciación, se encuentra en buen estado, y al ser ingredientes para consumo humano, tienen buenos estándares de calidad (Freeman *et al.*, 2013).

Muñoz (2007), realizó un estudio en donde observó que algunas dietas de alimentos procesados para animales de compañía contenían un alto nivel de melamina, lo cual implicaba un riesgo potencial para la salud de las mascotas, por ello, gran parte de los propietarios de Estados Unidos buscó alimentos alternativos para la nutrición de sus perros y gatos.

Según Davies *et al.* (2019), las dietas BARF son defendibles debido a que relacionan la alimentación de los animales domésticos con lo que se obtendría en la vida silvestre, sin embargo, hoy por hoy las diferencias biológicas y el estilo de vida de los animales imponen una limitante considerable en la comparación del perro salvaje y el perro doméstico.

2.2 Dietas tipo BARF

Según Billinghurst (1993), las dietas BARF realizadas a base de carne cruda, son aquellas preparadas con ingredientes de origen animal, provenientes de cualquier especie domesticada o salvaje, y puede incluir órganos, músculos y huesos en proporciones de 60% - 80%, así como frutas y verduras, huevo, vísceras, leche cereales y legumbres de 20% - 40%.

De igual forma, Billinghamurst (2001), describe los principales ingredientes a utilizarse en este tipo de dietas y algunas de sus características, los cuales son:

- Carne: Debe ser cruda y magra de manera idónea de cualquier especie de origen, se debe congelar previo a la alimentación del perro.
- Huesos: Se usan como aporte de minerales y proteína, deben ir triturados (pueden dejarse completos los huesos delgados, exceptuando los de aves) y siempre deben ir crudos.
- Verduras: En proporciones mínimas, ya que solo aportan volumen y fibra
- Frutas: Puede ser cualquiera especie y es para el aporte de carbohidratos.
- Vísceras: Para aporte de proteína, ácidos grasos y algunas vitaminas, de igual forma congeladas.

Estos ingredientes deben ser de buena calidad y el propietario debe realizar un balance del contenido para poder alimentar a al animal de compañía debidamente.

Existen dos categorías principales, que son la comercial, que puede ser comprada en algunos supermercados y clínicas veterinarias, y las caseras, que algunas personas prefieren realizar por ellos mismos con ingredientes a su elección (Dijcker *et al.*, 2012).

De estas, la más comúnmente utilizada es la comercial en presentación congelada, ya que para muchos propietarios es más sencillo su manejo y administración. Existen dietas para mantenimiento o también como intermitentes o suplementarias, las cuales se sugieren para su uso acompañado con alimentos procesados, ya que no contienen la cantidad de nutrientes para cubrir los requerimientos del perro (Freeman *et al.*, 2013).

Según Billinghamurst (1993), el consumo de la dieta BARF para un perro adulto activo de raza pequeña debe tener como base el 8% del peso corporal, y en razas grandes igualmente activas, disminuye a un 3% del peso corporal por día, el cual puede ser servido en una o dos exhibiciones según la rutina del propietario.

2.3 El mercado de las dietas BARF

De-Oliveira *et al.* (2008), indicaron que probablemente la sociedad ve a los animales de compañía como parte de un vínculo familiar, por ello, los propietarios se inclinan por las dietas BARF, buscando que el perro tenga un mejor pelo, dientes fuertes y estado general de salud, pero la eficiencia de este tipo de alimentos no está basada en evidencia científica.

Muchas de las dietas BARF se venden como naturales, inclusive se puede leer esta leyenda en el empaque; sin embargo, según la Asociación de Funcionarios Estadounidenses de Control de Piensos (AAFCO, por sus siglas en inglés *Association of American Feed Control Officials*), los productos clasificados como naturales no pueden contener ingredientes sintetizados químicamente, salvo de algunas vitaminas y minerales que debe ir especificados en la etiqueta (Meyer *et al.*, 1999).

2.4 Alimentación y nutrición del perro doméstico

Los perros han tenido una intensa presión de selección y por ello hay cambios fenotípicos en los perros actuales que genera diferencias abismales entre los antepasados de cada raza (Kukanich, 2011).

Existen 36 regiones del genoma del perro doméstico que difieren del lobo, y dentro de los cuales se encuentran 10 regiones que tienen un papel importante en la digestión de almidones y el metabolismo de las grasas, esto enfocado a la alimentación que tienen los perros desde hace algunas décadas. Estas diferencias genómicas, se sugiere que ayudaron a la rápida domesticación del perro (LeJeune y Hancock, 2001).

Por otro lado, Dijcker *et al.* (2012), mencionan que el perro en estado salvaje, su alimentación era carnívora estricta como los gatos, sin embargo, con la domesticación ha ido cambiando a un organismo omnívoro, y por ende pueden consumir vegetales de igual forma que proteína animal.

Las dietas consumidas en el ambiente natural por perros salvajes pueden permitirles tener una vida óptima para sobrevivir e incluso reproducirse, sin embargo, en perros domésticos, que son más longevos, hay que buscar un equilibrio y bienestar a través de la alimentación correcta (Hazewinkel *et al.*, 1991).

2.5 Beneficios de las dietas BARF

Hazewinkel *et al.* (1991), y Billinghamurst (1993), afirman que las dietas BARF son beneficiosas en muchos aspectos de la salud del perro, algunos de los signos que mencionan son mejora de la condición de la piel y el pelo, mitigan la halitosis, las heces son menos olorosas, disminuye la presencia de algunas alergias, mínimos casos de artritis, baja presentación de enfermedades periodontales, entre otras. Sin embargo, ninguno de estos beneficios se ha sometido a investigación científica que pueda avalarlos.

Un estudio realizado por Hazewinkel *et al.* (1991), demostró que los perros alimentados con dietas crudas tuvieron una menor excreción de calcio en orina, lo cual sugiere un beneficio para su salud.

Valencia (2019), realiza una propuesta para alimentar perros con base a desperdicios de pescado, donde se puede observar que, gracias al aporte nutricional de esta materia prima, se encuentra un alto índice de proteínas, minerales, vitaminas de complejo B, A y D, así como omegas 3 y 6, lo cual podría ayudar significativamente a los perros alimentados con esta dieta, en cuanto a la salud de la piel y calidad del pelo, así como a perros con alergias atípicas al alimento.

2.6 Efectos adversos de las dietas BARF

Dueñas (2018), realizó un estudio con diferentes marcas de dietas BARF, donde pudo concluir que había inconsistencias de lo establecido en las etiquetas del productor con lo encontrado en los análisis de laboratorio realizados, lo cual sugiere que, al tener materia prima cambiante, tanto de origen como calidad, los

valores nutrimentales cambian, y esto puede generar inconsistencias en la alimentación de los perros y que, a su vez, puede derivar en problemas de salud a corto y largo plazo.

También, se ha observado que las dietas crudas cuentan con desequilibrios nutricionales, los cuales pueden afectar la salud del perro en un determinado plazo (De-Oliveira *et al.*, 2008).

2.7 Contaminación bacteriana

Hablando de transmisión de enfermedades, los alimentos tienen un papel muy importante en este tema, ya que son una gran causa de morbilidad y mortalidad referente a muchas enfermedades diferentes. Dependiendo de su origen, puede haber diferentes tipos de agentes contaminantes (Serrano, 2021)

Uno de los principales motivos para oponerse a recomendar las dietas crudas, es la posible contaminación de patógenos en la carne cruda, la cual causa problemas de salud a humanos y animales (Cui *et al.*, 2005).

Para la fabricación de las dietas BARF, se utilizan en la mayoría de las ocasiones, alimentos de consumo humano cotidiano, sobre todo las fuentes de proteína. Se puede encontrar una gran variedad de patógenos en la carne cruda, incluso en la que es destinada para consumo humano (Bohaychuk *et al.*, 2006).

La carne puede contaminarse de diversas formas durante su proceso. Las bacterias que colonizarán pueden provenir de piel, plumas, vísceras, etc. durante la matanza o empaque (Joffe *et al.*, 2002).

Por lo tanto, en los alimentos BARF comerciales, se debe tener en cuenta que la congelación es un proceso que no destruye estas bacterias patógenas, por ende, siempre serán un riesgo el consumo de ellos para los animales y las personas que los manejan (Finley *et al.*, 2007).

La vida de anaquel de los alimentos refrigerados o congelados depende en gran medida de las cargas de microorganismos que contengan las materias primas

con las que son realizados, así como el proceso en el cual fueron fabricados, el ambiente, seguido de su empaque, almacenamiento y transporte. La cadena fría es un eslabón crucial en todo el proceso, debido a que de ella depende que tan estables puedan mantenerse las cargas microbiológicas de un alimento, ya que, si esta tiene variaciones frecuentes y muy disparadas respecto a los grados en su manejo, pueden provocar la proliferación de bacterias deterioradoras y patógenas que pudieron encontrarse desde la materia prima (Tirado *et al.*, 2005).

Según un estudio de Joffe *et al.* (2002), se ha observado una tasa del 21% de prevalencia de *Salmonella spp.* en 166 muestras de alimentos crudos comerciales. Por otro lado, el estudio de Cui *et al.* (2005), sobre dietas crudas caseras, reveló que 8 de 10 dietas preparadas con pollo crudo presentan contaminación por *Salmonella*.

No es difícil encontrar alimentos contaminados como materia prima, en un estudio de muestras de pollo para consumo humano, el 1 - 44% de estas en establecimientos minoristas se encontraban contaminadas con *Salmonella* (Bohaychuk *et al.*, 2006). De igual forma, en un estudio con 240 muestras de alimentos crudos comerciales, el 60% (143), se encontraron contaminadas por *E. coli* (LeJeune y Hancock, 2001).

En los alimentos crudos, se pueden encontrar una variedad muy extensa de microorganismos, algunos indicadores y algunos patógenos, los cuales pueden solo acelerar el proceso de descomposición de este, y otros que pueden llegar a dañar irremediablemente al organismo que los consume. Algunos de ellos se enlistan a continuación:

2.7.1 Microorganismos indicadores

En la industria alimenticia, se utilizan algunos microorganismos para poder obtener datos importantes sobre el estado de un alimento, hablando de condiciones de la materia prima, de almacenamiento, de calidad en el proceso de producción, empaclado y refrigeración. A estos microorganismos se les llama indicadores. La

presencia o ausencia de los indicadores ayuda a predecir la vida útil del producto (Carrillo y Reyes, 2013).

2.7.1.1 Bacterias Mesófilas Aerobias

Son microorganismos muy heterogéneos los cuales ayudan a determinar la calidad y sanidad de un producto considerando su posible contaminación de origen, tomando como punto de partida las materias primas. Se utilizan como indicadores de frescura o como posibles indicadores de la presencia de algunos microorganismos patógenos, sin embargo, no es completamente confiable la presencia o ausencia de estos, a partir de este grupo de microorganismos (Pascual y Calderón, 1999).

Sus altas cantidades en los alimentos pueden sugerir un inadecuado almacenamiento, así como deficiencias en el manejo de la cadena fría por fluctuaciones de temperatura, ya que estos intervalos propician el desarrollo de estos microorganismos y con ello, promueven el deterioro del alimento de manera acelerada (Pascual y Calderón, 1999).

2.7.1.2 Bacterias ácido-lácticas

Son microorganismos anaerobios, tolerantes al aire, que pueden crecer en bajos pH (hasta 4.7) y altas concentraciones de sodio. En gran medida, son de ayuda para los productos cárnicos, debido a que su proliferación inhibe en medida la colonización por parte de bacteria patógenas, ya que producen ácido láctico y este funciona como bacteriostato. Sin embargo, incluso en refrigeración las bacterias lácticas pueden seguir proliferando, lo cual las convertirá en un microorganismo deteriorador de la carne conforme pasan los días de refrigeración (Cárdenas y Giannuzzi, 2005).

2.7.1.3 *Brochothrix thermosphacta*

Se considera un microorganismo de deterioro de la carne y pescado, ya que se ha encontrado en diversos estudios respecto a estas materias primas. Es un bacilo gran positivo, anaerobio facultativo que no genera esporas. Junto con las bacterias ácido-lácticas, pueden estar presentes en alimentos procesados con ingredientes cárnicos en alimentos enlatados, envasados y refrigerados. Produce ácido láctico en condiciones de anaerobiosis y es productor de olores desagradables en los productos debido a su actividad proteolítica y producción de etanol y algunos ácidos grasos de cadena corta (Hayes, 1993).

2.7.1.4 Coliformes

Forman parte de la familia *Enterobacteriaceae*, son fermentadores de lactosa, aerobios y anaerobios facultativos, productores de gas, de rápida incubación y se encuentran presentes en animales, personas y el ambiente. Son poco específicos, sin embargo, tienen una gran importancia en cuanto a identificación de perfiles sanitarios en los alimentos. La presencia de estos microorganismos sugiere un mal manejo de materias primas, contaminación del alimento preparado por parte del operador o del equipo mal lavado. De igual forma, el ambiente puede llegar a ser un espacio propicio para el crecimiento de algunas bacterias deterioradoras y patógenas, como podría ser *Escherichia coli* (Carrillo y Audisio, 2007).

2.7.2 Microorganismos patógenos

Según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), las enfermedades transmitidas por alimentos de manera más común pueden provenir de alimentos crudos o poco cocidos de origen animal, como lo son la carne, el huevo y elementos lácteos no pasteurizados, así como frutas y verduras crudas, con un mal manejo del lavado y procesado. Dos de los cinco microorganismos patógenos más importantes son *Salmonella* y *Escherichia coli* (CDC, 2023).

2.7.2.1 *Salmonella spp*

Como mencionan Hernández *et al*, (2009)., la salmonelosis es una infección sistémica causada por *Salmonella spp*, la cual es un habitante cotidiano dentro del tracto gastrointestinal de muchos animales, de manera principal aves y humanos. Es de la familia de las enterobacterias, no esporulada, anaerobia facultativa y flagelada; es fermentadora de glucosa y sumamente resistente a las temperaturas de refrigeración, sin embargo, muere a 70°C, por lo cual es de suma importancia el buen manejo de los alimentos y su buena cocción antes de ser ingeridos. Suele tener efectos diversos en los huéspedes finales, que van desde cuadros asintomáticos, diarreas profusas, fiebre, choque hipovolémico, septicemias y la muerte subsecuente de los pacientes. Es un microorganismo de importancia en salud pública debido a que es una zoonosis.

2.7.2.2 *Escherichia coli*

Según la Organización Mundial de Salud (OMS), *E. coli* es un microorganismo de la familia de las enterobacterias, que se encuentra de manera común en el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Cuenta con una serie de cepas altamente patógenas (como el serotipo O157: H7), las cuales son capaces de causar daños irreversibles a la salud humana. Se puede encontrar en alimentos como carne, frutas y hortalizas crudas, las cuales que tengan contacto con aguas no tratadas, con materia fecal o por contaminación cruzada y que, a su vez, no lleven un buen lavado y desinfección así como un tratamiento térmico adecuado para su inactivación (OMS, 2023).

III. HIPÓTESIS

- Las bacterias que se encuentran presentes en las dietas tipo BARF provocan alteración en el estado general de salud de los perros.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Analizar la carga bacteriana en un alimento de tipo BARF para determinar su posible efecto negativo en la salud de los perros.

4.2 Objetivos Específicos

- Cuantificar *Brochotrix thermosphacta* y bacterias lácticas como indicadores de frescura en un alimento tipo BARF.
- Cuantificar *Escherichia coli* como indicadores de calidad sanitaria.
- Identificar la presencia de *Salmonella spp* en el alimento y en las heces de perros alimentados con dieta tipo BARF.
- Evaluar la salud general de los perros alimentados exclusivamente con una dieta tipo BARF.

V METODOLOGÍA

El proyecto de investigación se llevó a cabo posterior a la aprobación del comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, con folio 002FCN2023 y fecha del 30 de enero de 2023.

Lugar: El estudio se realizó en la ciudad de Querétaro, Querétaro, considerando que los pacientes radican en el estado y las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Tipo de muestra poblacional: Se utilizó un muestreo a conveniencia, el cual es una técnica de muestreo no probabilística y no aleatoria. Esto con base a la selección de elementos representativos con conocimiento previo de la población de estudio para poder realizar una categorización de estos.

Se determinó su uso de acuerdo con la facilidad del acceso de los perros, la disponibilidad del propietario, los tiempos de ejecución o cualquier especificación particular que pudiera surgir.

La muestra de estudio consistió en 3 perros adultos cuyo propietario previamente tomó la decisión de alimentarlos con este tipo de dieta. Para su participación, se firmó un consentimiento informado (Anexo 1), cuidando en todo momento la confidencialidad de los datos y los criterios de bioética que resguardan la integridad del propietario y los sujetos de estudio.

- Criterios de inclusión de la muestra: Perros de raza indistinta, de talla chica oscilando entre los 2 y 4 kg, adultos de 3 a 7 años, en buen estado de salud física certificada por un médico veterinario, con un esquema de vacunación completo, que vivieran dentro de casa y con hábitos alimenticios de ingesta de alimento con intervalos de 12 horas y que tuvieran cada uno un plato independiente para su alimentación. Se buscó de igual forma que el propietario contara con solvencia económica para la alimentación de los

perros y con disponibilidad de tiempo para las visitas periódicas del equipo de investigación.

Alimento: Se utilizó una marca comercial de alimento, adquirida en supermercados y fue elegida por el propietario, su presentación es congelada en bolsas de 300 gramos y la cual se conforma comúnmente de: carne molida, hígado, corazón, pulmón y riñón de res, zanahoria, plátano, manzana, calabacita, brócoli, papaya, hueso molido de res, vinagre de manzana, aceite de oliva, aceite de hígado de bacalao, semilla de girasol y linaza molida según las especificaciones del proveedor.

Alimentación de los perros: Fueron alimentados por el propietario dos veces por día, con un espacio de 12 horas entre cada comida. La ración fue el equivalente al 8% del peso corporal de cada perro. El alimento fue descongelado por medio de descongelación pasiva, que consiste en ir aumentando gradualmente la temperatura del producto, colocando el alimento congelado en el refrigerador para esa ganancia progresiva de temperatura. Posteriormente, ya descongelado se presentó al perro en un plato de acero inoxidable limpio para su ingesta. Si no fue consumido en los 6 minutos posteriores a la presentación de este en el plato, el alimento fue desechado.

Manejo de los perros: Se realizó una exploración física general a cada perro, que duró alrededor de 15 minutos. Se determinó el peso del perro con el uso de una báscula de piso calibrada, donde el perro se subió para su pesado, así como la determinación de la condición corporal del mismo, con base en la guía V5 de la WSAVA (por sus siglas en inglés *World Small Animals Veterinary Association*, traducido al español, la Asociación Veterinaria Mundial de Pequeños Animales) y su sistema de índice de condición corporal (Anexo 2), para perros y gatos, donde se buscó que los perros se encontraran en el rango de 4 a 5, considerado como ideal; Posterior a esto, se llevó a cabo la exploración física del perro en presencia del propietario, sobre una mesa de exploración de acero inoxidable limpia, lavada con agua corriente y jabón, para después hacer una desinfección con una solución

de cuaternarios de amonio y agua al 0.005%, dejando actuar por un minuto y secando el excedente con toallas desechables. La contención del perro se determinó dependiendo del entorno, del comportamiento y grado de incomodidad aparente de cada uno; se utilizó la técnica de contención idónea, la cual fue con el perro sentado sobre la mesa, el propietario colocó un brazo por debajo del cuello del perro de manera que el antebrazo sujetó la cabeza del perro de forma segura, colocó el otro brazo alrededor del tren posterior del perro, atrayéndolo cerca de su tórax para mejorar la contención. Esto ayudó a que el perro pudiera sentirse más en confianza con su propietario y permitiera la exploración física detallada. Se observó la apariencia del animal, que se encontraba aseado, sin evidencia de ectoparásitos o lesiones aparentes. Se observaron las mucosas orales en busca de palidez o alguna coloración anormal y dientes para garantizar la salud bucal del perro. Se utilizó un estetoscopio para la medición de la frecuencia cardíaca (FC) y respiratoria (FR), sobre el tórax del perro, a la altura medial del esternón para la FC y en la zona paraesternal entre los espacios intercostales 5 y 6 para la FR, tomando como parámetros de referencia en perros adultos, una FC de 60-180 latidos por minuto (lpm), y una FR de 10-30 respiraciones por minuto (rpm). Posteriormente se utilizó un termómetro digital infrarrojo para la medición de la temperatura corporal del perro. Este se colocó dentro del pabellón auricular del perro por 3 segundos, tomando como referencias de temperatura normal en un perro mayor a 37.5°C y menor a 39.2°C. Se determinó el nivel de hidratación del perro a través de la presencia de elasticidad cutánea; se levantó un poco la piel sin causar dolor, buscando que esta regresara a su posición natural en menos de 1 segundo; y por último se realizó la palpación de linfonodos periféricos, los cuales son retrofaríngeos, pre escapulares, axilares, inguinales y poplíteos en búsqueda de que no se encontraran aumentados de tamaño o reactivos, esto se realizó con los dedos haciendo una ligera presión en la región anatómica donde se localizan.

Seguimiento: Los perros involucrados en el estudio fueron visitados por el médico responsable del proyecto un día a la semana en fecha y horario que fue conveniente para el propietario, a modo de seguimiento de la salud de estos. Se estableció que, en caso de presentarse alguna complicación de salud, los perros

serían atendidos en la clínica veterinaria Vet Spot ®, con dirección en Cordillera 102, Cumbres del Roble, Corregidora, Querétaro, para llevar a cabo el tratamiento necesario, sin embargo, ninguno presentó complicaciones y no fue necesario su traslado.

Muestreo:

Alimento: Se realizó un muestreo del alimento antes de proporcionárselo al perro, se tomaron dos muestras de diferente bolsa y lote en medida de lo posible. Para esto se utilizaron cucharillas desechables y bolsas estériles de plástico para la recolección de muestras. Se identificaron con la fecha y hora de recolección y se colocaron dentro de una hielera de unicel con refrigerantes para su traslado al laboratorio para su análisis.

Heces: Se tomó una muestra de heces de cada perro, se utilizó una cucharilla desechable y un guante de polietileno. La muestra se colocó en una bolsa estéril, se identificó con fecha y nombre del perro; se colocaron todas en una hielera de unicel independiente con refrigerantes para su traslado al laboratorio para su análisis.

Los muestreos se realizaron una vez por semana durante 12 semanas, obteniendo así 12 muestras por cada perro (36 totales para muestras pareadas), y 24 muestras de alimento, dando un total 96 muestras.

Diluciones: Muestras de 25 g de alimento fueron colocadas en 225 ml de caldo lactosado para enriquecer la muestra, se homogeneizaron durante 1 min en Stomacher, y esta solución se identifica como D1 (dilución 1). Se utilizó 1 ml de la solución homogenizada y se diluyó en 9 ml de diluyente de peptona (DP) estéril, se homogenizó con el uso de un vortex y se identificó como D2, haciendo alusión a la dilución 2. De esta dilución homogenizada se utilizó nuevamente 1 ml de la solución para inocular y homogeneizar un segundo tubo, identificado como D3 (dilución 3) y así sucesivamente hasta obtener 6.

Cultivos: Para determinar el crecimiento bacteriano se realizaron cultivos bacterianos en cajas de Petri y con caldos, para poder realizar el conteo de las unidades formadoras de colonias y clasificación de los elementos encontrados.

Bacterias mesófilas aerobias

Se utilizó un agar para cuenta estándar, preparado según las especificaciones del laboratorio, en forma líquida para realizar la técnica de vaciado en placa. Se utilizó 1 ml de las soluciones D2 a D6 en cada cajita Petri identificada, colocando aproximadamente 15ml de agar, haciendo a su vez 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en sentido de las manecillas del reloj, 6 en contra de las manecillas del reloj y 6 atrás y adelante, esto sobre una superficie lisa y horizontal, hasta lograr una homogenización completa del medio y la muestra. Se dejó solidificar. Se invirtieron las placas y se incubaron por 48 horas a una temperatura de 37°C (NOM-092-SSA1-1994).

Brochothrix thermosphacta

De las diluciones preparadas anteriormente, se realizó la inoculación de 0.1 ml de las diluciones D1 a D3 en agar STAA (Streptomycin thallos acetate actidione) aplicando la técnica de extensión en placa. Las cajas se incubaron 24 y 48 h a 35±2 °C. Se seleccionaron las colonias sospechosas en base a la prueba de oxidasa (prueba negativa para *B. thermosphacta*). La carga microbiana se reporta como UFC/g de alimento (APHA, 2001)

Bacterias ácido-lácticas

Con base a las soluciones preparadas para los grupos microbianos anteriores se realizó el aislamiento de las bacterias ácido-lácticas a través de la técnica de extensión en placa, colocando 0.1 ml de las diluciones D3 a D5 sobre

agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe), incubando las cajas 24 y 48 h a 30 ± 2 °C. La carga microbiana se reporta como UFC/g de alimento (APHA, 2001)

Salmonella

Muestras de 25 g de alimento fueron colocadas en 225 ml de caldo lactosado para enriquecer la muestra, se homogeneizaron durante 1 min en Stomacher y se incubaron de 18-24 horas a 35°C. El enriquecimiento selectivo se realizó transfiriendo 1 ml del caldo incubado a 9 ml de caldo Rappaport-Vasiliadis y Caldo Tetracionato para nuevamente ser incubados a 43°C durante 24 h.

Posteriormente el aislamiento selectivo se hizo por estriado con un asa bacteriológica de cada uno de los caldos sobre dos medios selectivos: Agar XLD y Agar Sulfito Bismuto. Se seleccionaron 2 o más colonias sospechosas de *Salmonella* y se confirmarán con pruebas bioquímicas (fermentación de azúcares, producción de ácido sulfhídrico, descarboxilación de la lisina) y aglutinación con antisuero polivalente (NOM-114-SSA1-1994).

Coliformes totales

Se utilizar un Agar Bilis Rojo Violeta preparado según las especificaciones del laboratorio, se dispone en su forma líquida para su utilización en la técnica de vaciado en placa. Se coloca 1 ml de las diluciones D1 a D5 y se realiza el vaciado de aproximadamente 15 ml del agar, haciendo a su vez 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en sentido de las manecillas del reloj, 6 en contra de las manecillas del reloj y 6 atrás y adelante, esto sobre una superficie lisa y horizontal, hasta lograr una homogenización completa del medio y la muestra. Se dejó solidificar y se agrega una segunda capa que recubre el medio por completo y se deja solidificar nuevamente. Ya solidificado se invirtieron las placas y se llevaron a incubar por 24 horas a 35°C para su posterior conteo (NOM-113-SSA1-1994).

Escherichia coli

Para el análisis de *E. coli*, se utilizó la técnica de número más probable (NMP). Para la prueba presuntiva se empleó una batería de 9 tubos con caldo lactosado (3 inoculados con 0.1 gr, 3 con 0.01 gr y 3 con 0.001 gr). De los tubos que presentaron producción de gas dentro de las 24 a 48 h de incubación a 35°C, se inocularon tubos con caldo lauril sulfato con MUG (CLS-MUG) (Castillo, 2014) púrpura de bromocresol (0.001 gr/ 100 ml) y tubos con agua peptonada al 1%, se incubaron a 44.5°C en un baño de precisión durante 48 h. Se consideraron los tubos positivos cuando se observó producción de gas por fermentación de la lactosa y fluorescencia ante luz UV (365 nm) debido a la producción de la enzima β -glucoronidasa (GUD). GUD es comúnmente producida por *E. coli* y ha sido utilizada como característica diferencial en los medios de recuperación de coliformes, que contienen varios sustratos de ácido β -D-glucorónicos. La producción de indol se verificó adicionando reactivo de Kovac al agua peptonada después de la incubación. La combinación de la prueba de indol, producción de gas y GUD nos aumentó la especificidad y la rapidez para determinar *E. coli* (Pouch, 2001 y otros).

Análisis estadístico: Los datos obtenidos de los cultivos fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de T de Student y con prueba de jerarquía de Wilcoxon. Para los parámetros de salud se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores para los valores normales y la prueba de Friedman. Los programas utilizados fueron Microsoft Excel 365 y R Studio.

Desecho de materiales de laboratorio: Se realizó conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo (Anexo 3), donde se establece dentro del punto 4. Clasificación de los Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI), que de acuerdo con el punto 4.2, los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos, todos aquellos cultivos que se produzcan en el desarrollo del proyecto, serán

manejados como RPBI. Por lo tanto, fueron envasados de acuerdo con lo especificado en el punto 6 de la norma, colocando los cultivos y todo lo utilizado para su siembra en bolsas rojas de polietileno con las especificaciones marcadas en el inciso a). El contenido de la bolsa fue inactivado previamente en autoclave a 15 libras de presión, 121°C y por 15 minutos, posterior a esto las bolsas fueron selladas y amarradas para evitar la salida de cualquier elemento y se mantuvieron en resguardo en el área designada por la facultad, para su posterior recolección y destrucción por la empresa contratada para este fin, la cual lleva por nombre Trirsa SA de CV y recolecta el material cada dos semanas.

Las muestras de heces y alimento no son clasificadas como RPBI según el punto 4.3.2 de esta norma. Por lo cual, estas y sus materiales de transporte, fueron adicionados con hipoclorito de sodio para su desinfección y posterior disposición como residuo municipal.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perfil Bacteriano

Con base en los resultados obtenidos en los conteos durante las 12 semanas de desarrollo, se observó que todos los microorganismos analizados, superan el nivel máximo que marca cada referencia respecto a las normas o publicaciones científicas.

De acuerdo a la NOM-213-SSA1-2018, los alimentos crudos deben encontrarse en un número no mayor de 3.6 log UFC/g, en el análisis de los coliformes totales, la media fue de 5.9 log UFC/g, con un mínimo de 4 log UFC/g y un máximo de 9 log UFC/g como se muestra en la Figura 1, donde la caja muestra el total de los resultados de las muestras obtenidas en logaritmos, con una línea roja, el límite máximo permitido por la norma, utilizando la T de Wilcoxon y obteniendo diferencias significativas, se puede enfatizar en la alta desviación de los logaritmos encontrados en el alimento.

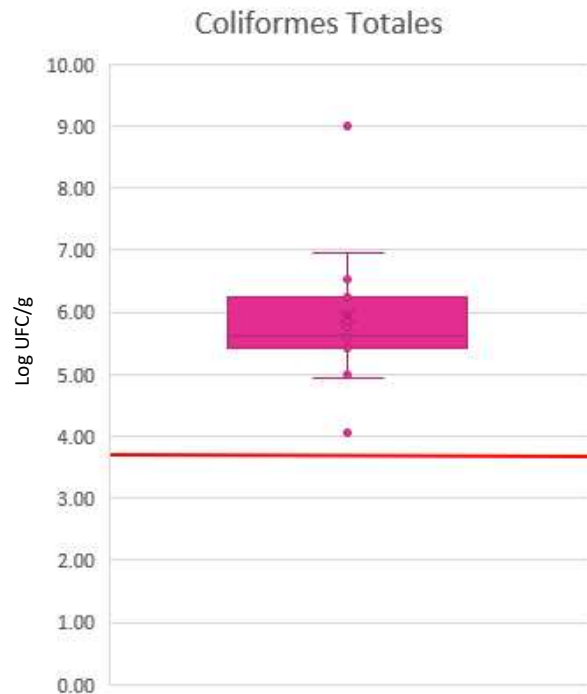


Figura 1. Conteo de coliformes totales de las muestras durante las 12 semanas de prueba, en comparación con el nivel máximo establecido por la NOM-213-SSA1-2018.

El conteo de UFC/g de coliformes se vió sobrepasado en la totalidad de las muestras, un ejemplo de ello lo da la Figura 2, donde se observa una caja de Petri de agar BRV posterior a 24 horas de incubación. Considerando que la



Figura 2. Agar en caja Petri de coliformes totales de la muestra analizada el 30/04/2023, dilución 2.

contaminación por coliformes se da principalmente por agua, malas prácticas sanitarias o en dado caso por contacto de las vísceras contaminadas, se puede determinar que el proceso de producción del alimento se realiza con pocas normas de higiene, ya sea que el agua no sea tratada de manera correcta o no se encuentre purificada y sea de uso común para todo el proceso, lo cual permite la colonización y proliferación de este grupo de bacterias en el alimento a pesar de su proceso de conservación como es la

congelación, ya que el estar en promedio 2.3 log UFC/g superior a lo que cita la norma para alimentos, deja mucho a consideración la calidad del proceso productivo y sobre todo el consumo de este.

Por otro lado, las bacterias mesófilas aerobias que se encuentran presentes en las muestras oscilan entre 3.9 y 9 log UFC/g, teniendo un promedio de 7.5 log UFC/g, superando lo establecido por la NOM-213-SSA1-2018, que establece un límite máximo de 4 log UFC/g, lo cual se representa en la Figura 3, donde la caja de resultados de los conteos semanales encuentra muy por encima de la barra de referencia, confirmado de igual forma la prueba de Wilcoxon.

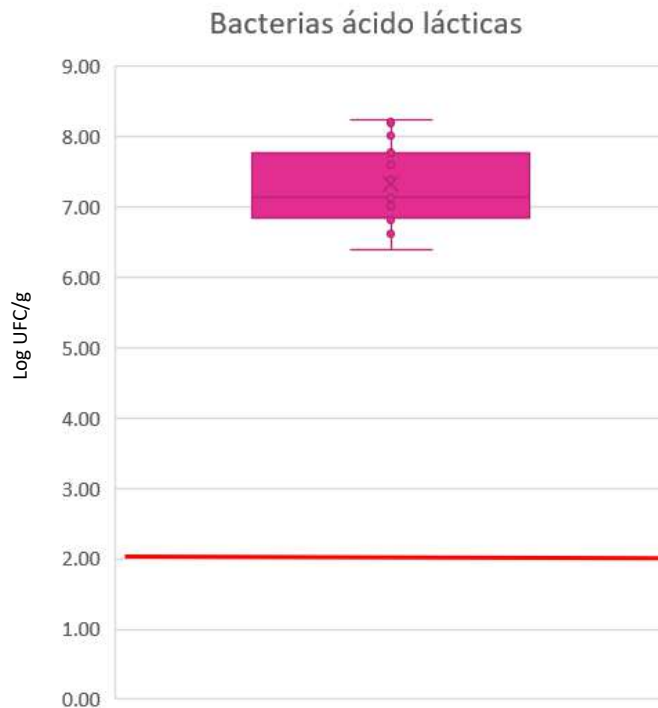


Figura 3. Conteo bacterias mesófilas aerobias de las muestras durante las 12 semanas de prueba, en comparación con el nivel máximo establecido por la NOM-213-SSA1-2018.

Las bacterias mesófilas aerobias, si bien se pueden encontrar en altas concentraciones en alimentos crudos como cita la norma NOM-213-SSA1-2018, que el 100% de los conteos obtenidos durante la prueba superen en más de 3 log UFC/g a lo establecido por la misma, es sugerente a la poca calidad de la materia prima con la que es realizado el producto, tanto la carne como los vegetales, pueden encontrarse contaminados y al no tener un proceso térmico de inactivación o eliminación de microorganismos, estos persisten durante todo el proceso hasta el consumo del producto final, como se pueden observar en la Figura 4, donde las colonias

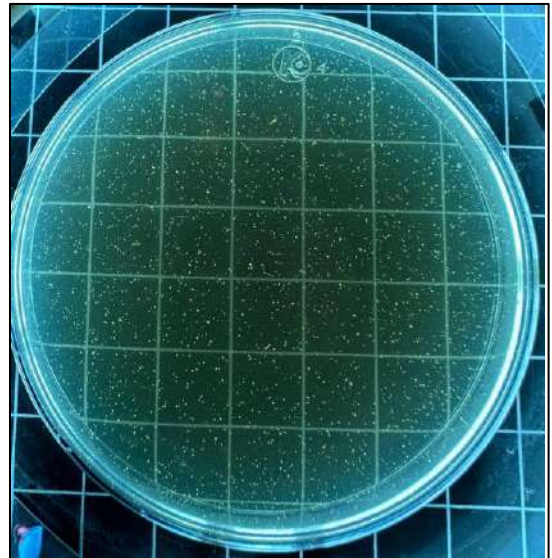


Figura 4. Agar en caja Petri con bacterias mesófilas aerobias de la muestra analizada el 30/04/2023, dilución 2.

desarrolladas en el medio de cultivo sobrepasan de manera exagerada lo citado anteriormente.

De igual forma, los indicadores de frescura presentaron una tendencia al alza, ya que se espera encontrar en alimentos de hasta 60 días (Delgado y Quartino, 2013), *Brochothryx thermosphacta* en 3 log UFC/g y bacterias ácido-lácticas 2 log UFC/g. Sin embargo, en el 100% de las muestras evaluadas, se encontró un promedio de 6.9 log UFC/g para *Brochothryx thermosphacta* como se observa la Figura 5, comparada con la barra roja de referencia y 7.3 log UFC/g para las bacterias ácido-lácticas de la Figura 6, comparada de igual forma con su referencia, teniendo diferencias estadísticamente significativas, tanto por t de Student como por Wilcoxon. Por otro lado, en la Figura 7 se observa un cultivo de *Brochothryx thermosphacta* y en la Figura 8 uno de bacterias ácido-lácticas, donde se puede observar a detalle la cantidad de UFC desarrolladas en el periodo de incubación.

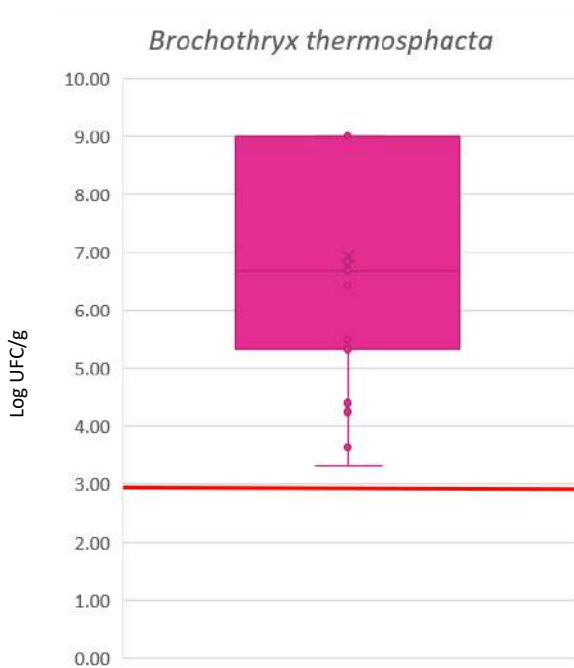


Figura 5. Conteo de *Brochothryx thermosphacta* de las muestras durante las 12 semanas de prueba, en comparación con el nivel máximo obtenido en una prueba de frescura de 60 días (Delgado y Quartino, 2013)

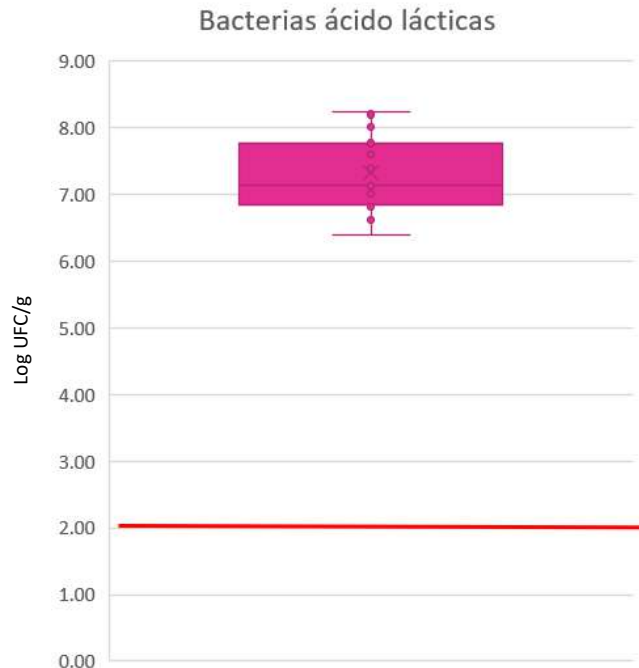


Figura 6. Conteo de bacterias ácido-lácticas de las muestras durante las 12 semanas de prueba, en comparación con el nivel máximo obtenido en una prueba de frescura de 60 días (Delgado y Quartino, 2013).



Figura 7. Caja Petri con agar STAA y colonias de *Brochothryx thermosphacta* de la muestra analizada el 07/05/2023, dilución 3.

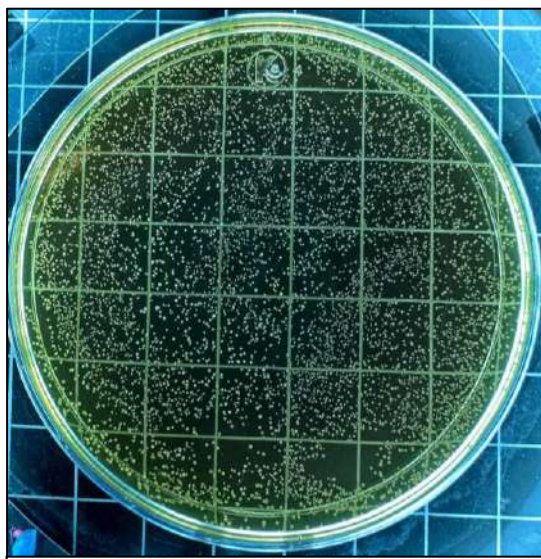


Figura 8. Caja Petri con agar MRS para bacterias ácido-lácticas de la muestra analizada el 07/05/2023, dilución 4.

Tanto *Brochothryx thermosphacta* como las bacterias ácido-lácticas, son microorganismos presentes en los alimentos que ayudan a determinar la frescura de estos, principalmente asociados con su empaque y la vida de anaquel. Al encontrar logaritmos que sobrepasan los niveles que en trabajos previos (Delgado y Quartino, 2013) se encontraron en alimentos empacados al vacío y almacenados durante 60 días, pone en duda la frescura y calidad de la materia prima del alimento evaluado, ya que el desarrollo de ambos microorganismos no podría suceder si la carne utilizada fuera de pocos días de procesamiento. En los diferentes lotes utilizados a lo largo del proyecto, se observaron diferentes características organolépticas del producto final, lo cual pudo deberse al origen de la frescura de la materia prima.

La prueba de número más probable (NMP) es utilizada para determinar la presencia de bacterias coliformes como indicadores sanitarios y, utilizando el medio

de cultivo EC-MUG, se puede confirmar la presencia de *E. coli* al dar positivas las reacciones de fermentación de la lactosa (formación de gas), indol y fluorescencia bajo luz UV; y con base en la norma NOM-213-SSA1-2018, la prueba NMP tiene como referencia que las muestras de alimentos crudos deben estar por debajo de los 3 NMP/g o ml, y ser negativas a la prueba de indol. En la Figura 9, se puede observar que, durante el desarrollo del proyecto, se encontraron el 91% de las muestras positivas, las cuales superan el nivel máximo permitido de puntuación NMP/g, teniendo como mínimo 4 NMP/g y máximo <1100 NMP/g.

De igual forma, de estas 21 muestras positivas, 8 fueron positivas a la prueba de indol, confirmado la presencia de *E. coli*, teniendo como mínimo 7 NMP/g y máximo 39 NMP/g, lo cual se representa en la Figura 10, donde se observan las semanas donde la prueba fue positiva y su puntuación en NMP/g.

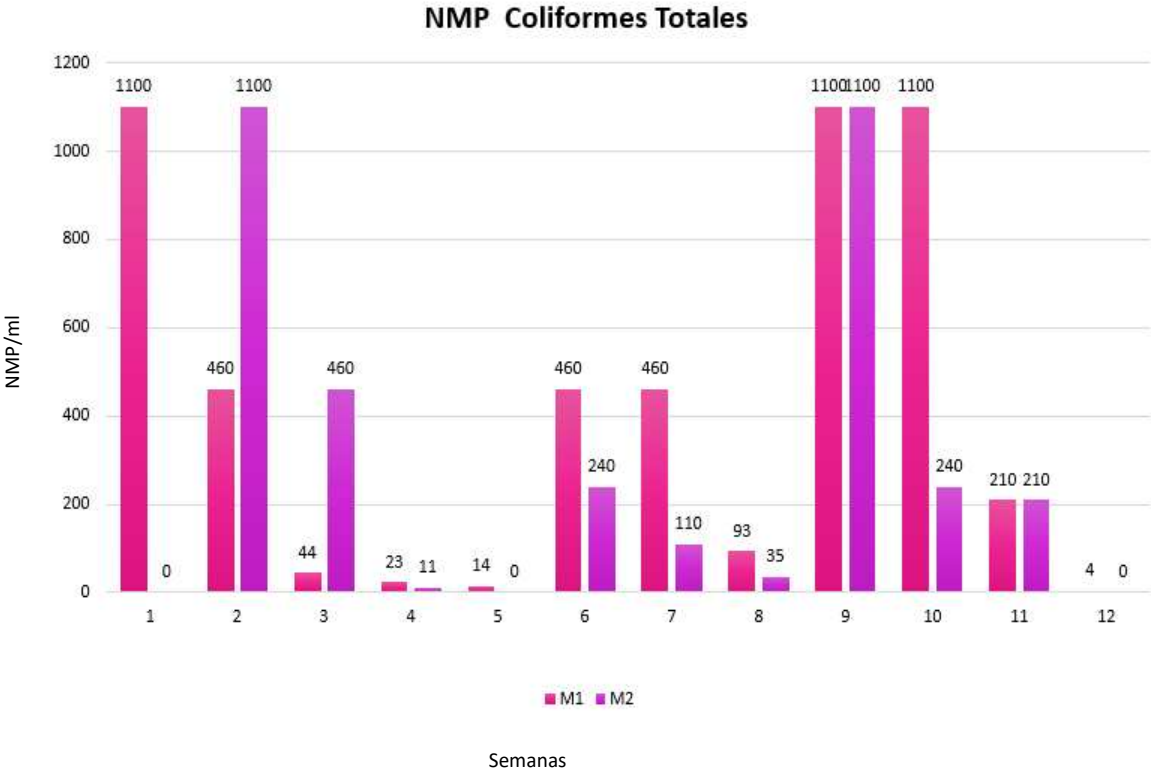


Figura 9. Resultados de la prueba Número Más Probable (NMP) durante las 12 semanas de desarrollo de la prueba.

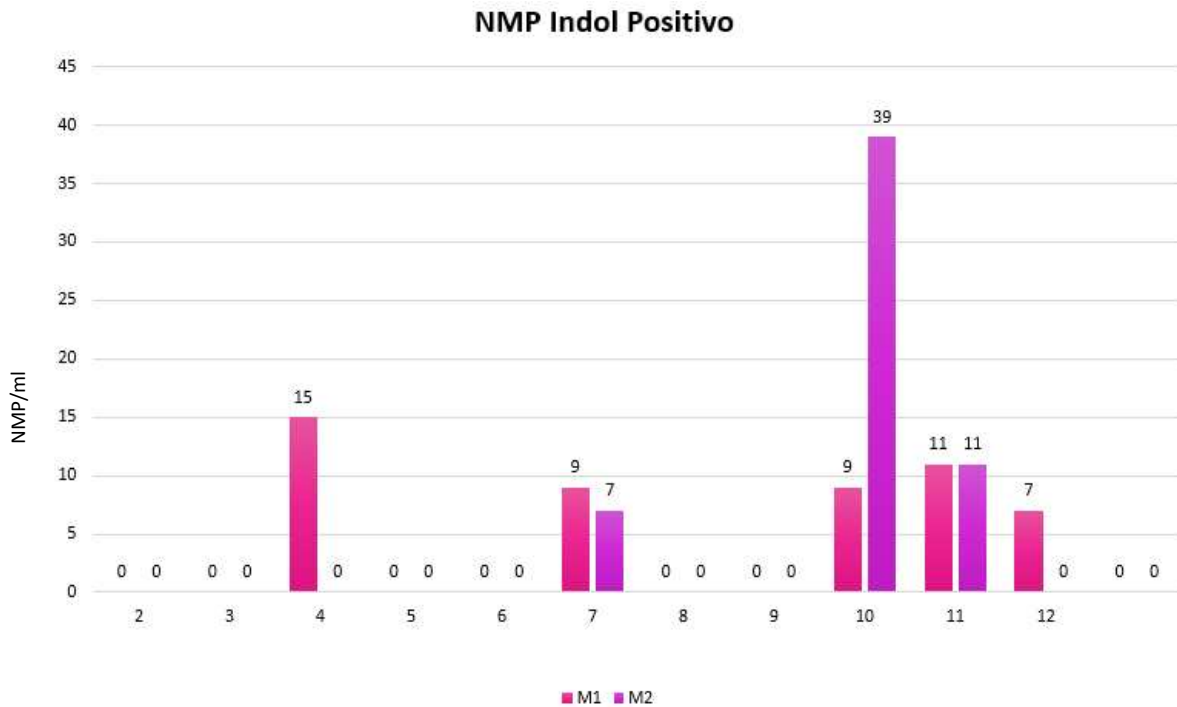


Figura 10. Resultados positivos a la prueba de indol, representados como NMP/ml, aplicado solamente a las muestras positivas a NMP.

Con base en la norma NOM-213-SSA1-2018, las muestras que desarrollen turbidez y presencia de gas en el medio EC-MUG incubado a 44.5°C, como se observa en la Figura 11, confirman la presencia de coliformes fecales cuando son sometidas a la prueba de fluorescencia positiva, como se evidencia en la Figura 12, confirma la presencia de *E. coli*, junto con la prueba de indol. La misma norma sugiere que los coliformes obtenidos por la prueba de NMP deben estar por debajo de 3 logaritmos. El 8.6% del total de las muestras analizadas se encontraron dentro de los límites permisibles. Esto es un claro ejemplo de que la contaminación por coliformes puede llegar a ser un problema de calidad sanitaria grave en el producto, lo cual, aunado a tener 34.7% de las muestras positivas

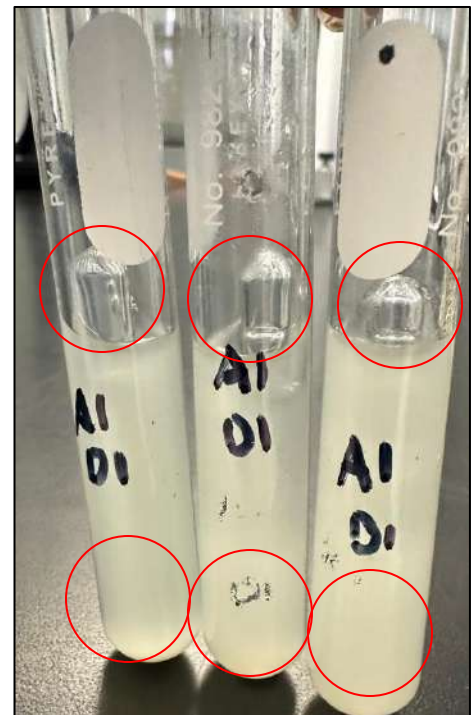


Figura 11 Tubos positivos a producción de gas y turbidez, muestra del 07/05/2023, dilución 1.

a indol, como se observa en la Figura 13, y corroborando así la presencia de *E coli*, es un tema preocupante tanto para el perro, ya que puede verse comprometida la

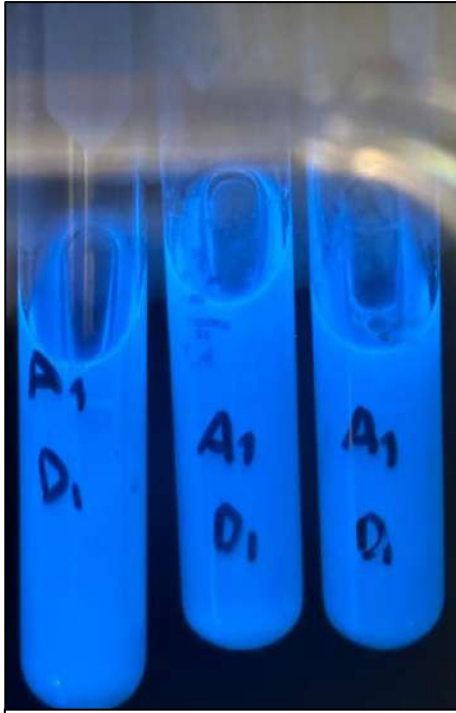


Figura 12. Tubos positivos a la prueba de fluorescencia, muestra del 07/05/2023, dilución 1.

salud de diferentes formas (según sea la serovariedad de la bacteria involucrada), así como para el propietario, ya que según una encuesta realizada en Estados Unidos (Lee *et al.*, 2023) los propietarios no consideran un riesgo potencial para su salud, el alimentar a sus perros. Al no ser conscientes del posible riesgo sanitario que involucra el alimento crudo que manejan al alimentar a sus perros, muy pocos de ellos se lavan las manos después de manipularlo. Correlacionando la presencia de signos de los perros durante el avance de las 12 semanas, en los 3 se pudieron escuchar movimientos peristálticos exagerados en al menos dos ocasiones al día, lo cual puede ser evaluado en un futuro, como una posible

respuesta intestinal ante la presencia de un patógeno.



Figura 13. Tubos positivos a la prueba de indol, muestra del 27/05/2023, diluciones positivas (3 D1, 1 D2, 2 D3).

Por otro lado, las siembras de muestras fecales y de alimento para *Samonella spp* realizadas durante el proceso, arrojó un total de 4 muestras con colonias sospechosas en alimento tanto en agar XLD como en ASB, como se observan en las Figuras 14 y 15 respectivamente, en las semanas 3, 4 y 7, y de igual forma 3 muestras sospechosas en heces en las semanas 4 y 9, sin embargo, no se pudieron realizar pruebas de serología ni bioquímicas para la confirmación de dichas colonias, por lo cual solo se manejan como sospechosas.



Figura 14. Colonias sospechosas por morfología en agar XLD del 11/04/2023.

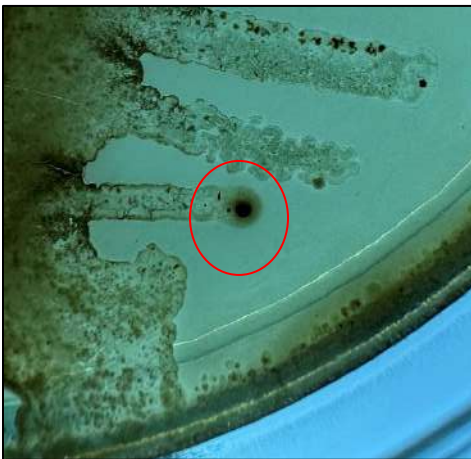


Figura 15. Colonia sospechosa por morfología en agar ASB del 11/04/2023.

Si bien, las colonias sospechosas no pudieron ser corroboradas, en la semana 4 hubo presencia de dichas colonias sospechosas en el alimento y las heces de manera coincidente, cuando de igual forma los perros correspondientes de las muestras sospechosas, presentaron la puntuación fecal más alta de las 12 semanas; por otro lado, el propietario tuvo un cuadro gastroentérico progresivo de 3 días, a la par de los perros. Esto sugiere que, si el microorganismo encontrado en el alimento tuvo un efecto en la salud de los perros, estos pudieron actuar como vectores o medios de transmisión cruzada al propietario y enfermar ambos individuos, debido a la relación estrecha propietario-perro, o, por otro lado, el propietario pudo adquirir directamente el microorganismo del alimento al tener poco cuidado en el manejo de este, por desconocimiento del riesgo sanitario que esto implica (Lee *et al.*, 2023).

Parámetros de Salud

Durante el desarrollo del proyecto se encontró el incremento en los tiempos de consumo del alimento con el paso de las semanas, los perros consumieron el alimento en promedio de 1.3 minutos a la semana 1, a diferencia de la semana 6 con 3.3 minutos y la semana 12 con 3.6 minutos. Si bien, el comportamiento de cada perro fue variable, hubo diferencias estadísticas, con una $p > 0.05$ en la prueba de ANOVA, y la tendencia a aumentar el tiempo fue observada en los 3 perros durante todo el desarrollo. En la Figura 16 se puede observar el alza de dichos tiempos y el no retorno al tiempo inicial.



Figura 16. Tiempo de consumo del alimento expresado en minutos por perro, durante 12 semanas. La tendencia es al alza y no hay retorno a tiempos iniciales.

Se observa que el tiempo incrementa a lo largo de las semanas y sugiere una decadencia del interés de los perros por consumir el alimento con el paso de los días. Esto puede deberse a que, de manera inicial, el alimento novedoso tiene nuevas características organolépticas respecto a su alimentación cotidiana: textura diferente, sabores frescos y olores más atractivos. Pero con el paso de los días, dichas características dejan de ser atractivas, ya que el perro se familiariza con el alimento y se vuelve parte de una rutina, por lo que aumenta paulatinamente el

tiempo de consumo. Por otro lado, se debe minimizar la exposición del alimento al ambiente, debido a las probabilidades de contaminación por vectores (moscas y otros insectos), así como el incremento exponencial de la carga bacteriana al tener las condiciones de temperatura y sustrato suficientes para el crecimiento y desarrollo tanto de microorganismos deterioradores y patógenos (CDC, 2024)

De igual forma, los perros presentaron diferencias en los pesos obtenidos en la semana 1 respecto a los de la semana 12. Durante las semanas de prueba hubo fluctuaciones respecto a la pérdida y ganancia de peso de cada uno, teniendo al final de la prueba una pérdida promedio del 8.5% respecto a su peso inicial. En la Figura 17 se observa la relación de los pesos de los perros durante las 12 semanas y su clara tendencia a la baja y no recuperación ($p > 0.05$).

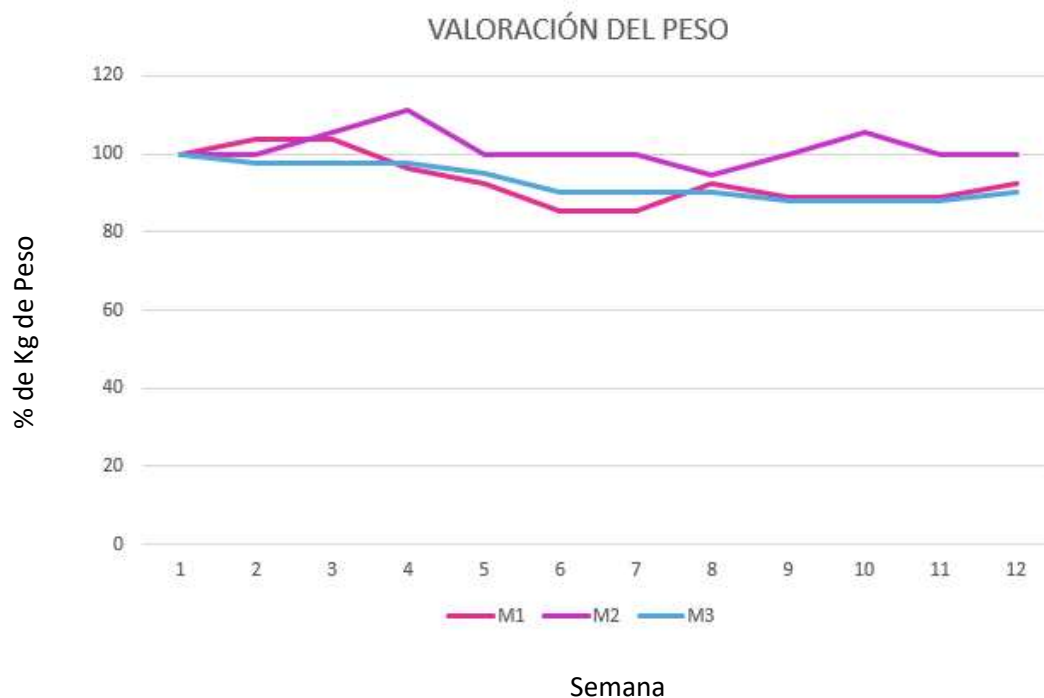


Figura 17. Oscilación del peso de los tres perros en el transcurso de las 12 semanas de prueba, donde la tendencia es a la baja, sin recuperación aparente.

La pérdida de peso es importante, ya que al estar en un peso óptimo, la disminución de la condición corporal puede traer problemas de salud a futuro. Esta puede ser secundaria al cambio de ingredientes de la nueva dieta, ya que, al ser un alimento mínimamente procesado, los elementos nutricionales pueden encontrarse ligeramente menos biodisponibles para ser absorbidos a nivel intestinal, lo cual requiere más energía y un proceso adaptativo diferente por parte del tracto gastrointestinal de cada perro, que tienen más del 90% de su vida consumiendo alimentos altamente procesados de manera térmica. De igual forma, tiene una relación directa respecto al tiempo de consumo, ya que a partir de la semana 5, como se observa la Figura 16, los perros incrementan el tiempo de ingesta debido a la disminución del interés por consumir el alimento fresco, lo cual deriva en consumos auto forzados y que no se llegue a consumir la cantidad idónea por el poco tiempo de exposición que se da al alimento al ambiente (CDC, 2024).

Respecto a la consistencia de las heces de los perros, hubo un cambio gradual y progresivo. La puntuación fecal que se puede observar en el Anexo 4, es una escala modificada de Bristol para perros, la cual da referencias visuales respecto al aspecto morfológico de las heces.

Con base a la escala, se otorgaron puntuaciones semanales a cada muestra de cada perro, la cual varió progresivamente a lo largo de las 12 semanas de prueba. Caso contrario de lo esperado, los perros mostraron un descenso gradual en la puntuación fecal respecto a la puntuación inicial, con diferencias estadísticas significativas con base en la prueba de Friedman.

En la Figura 18, se observan las puntuaciones obtenidas por cada perro y por semana durante la prueba, donde es evidente un descenso de la puntuación, el cual puede ser consecuencia del alto contenido de agua en el alimento, ya que los ingredientes se encuentran crudos y congelados, así como de fibra por las frutas y verduras adicionadas. El tracto gastrointestinal absorbe el agua que llega hasta el intestino grueso, dando lugar a heces con una consistencia seca. Esto puede llegar a ser perjudicial, ya que los perros pueden sufrir episodios de tenesmo y dificultades para defecar por tener un bolo fecal poco hidratado, de igual forma se pueden

desencadenar algunas lesiones largo plazo. Sin embargo, las variaciones que se llegan a observar a lo largo de las semanas, al aumentar la puntuación, coincide con la presencia de colonias sospechosas de *Salmonella spp* en el alimento, lo cual

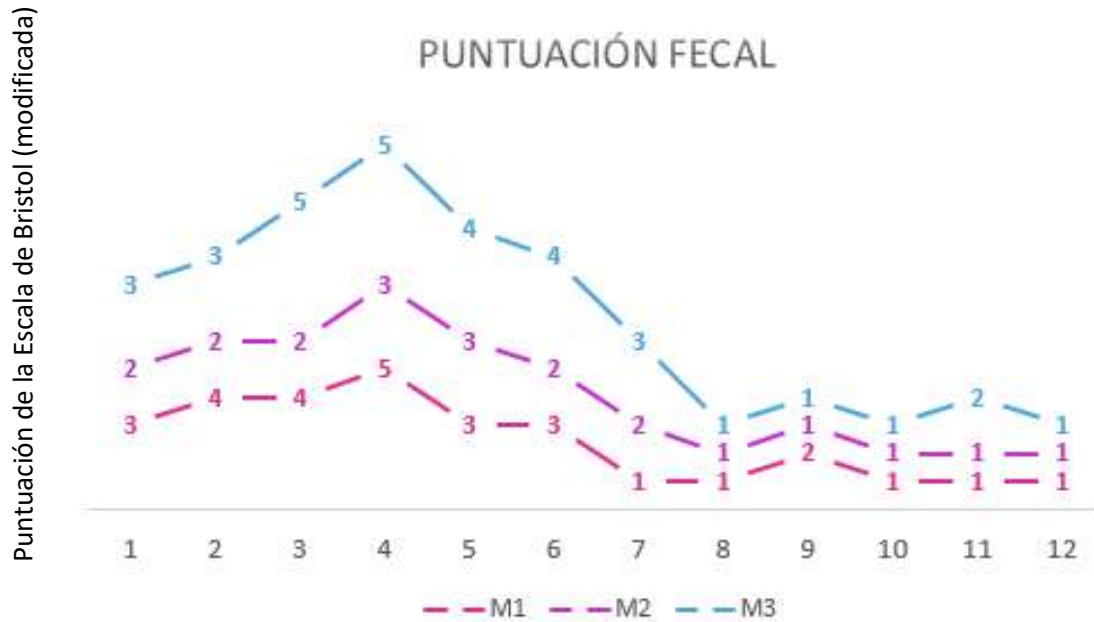


Figura 18. Puntuación fecal de los perros con base a la escala modificada de Bristol durante las 12 semanas de prueba, donde hay variaciones evidentes con tendencia descendente sin recuperación.

puede sugerir que pudo ser causada por una infección bacteriana.

Es importante mencionar que los perros evaluados durante el desarrollo del proyecto fueron supervisados semanalmente, donde se midieron los parámetros principales de salud, y se encontraron siempre dentro de los rangos normales para un perro sano, los cuales fueron: frecuencia cardiaca entre 100 y 120 latidos por minuto, frecuencia respiratoria entre 20 y 30 respiraciones por minuto, temperatura corporal entre 37.8 y 38.5°C, corazón y pulmones sin ruidos agregados, hidratación cutánea de retracción de piel menor a 1 segundo y linfonodos periféricos sin cambios aparentes.

VII CONCLUSIONES

Se cuantificó *Brochothryx thermosphacta* y las bacterias ácido-lácticas, las cuales se encontraron hasta 6 log UFC/g fuera de los rangos establecidos, indicando que el producto no es fresco. Se cuantificaron coliformes totales como indicadores de calidad sanitaria, se obtuvieron un 91.3% de las muestras fuera de los límites permitidos por la norma de hasta 1100 NMP/ml, de los cuales el 38% fueron muestras positivas a *Escherichia coli*, como indicador de contaminación fecal. Se identificaron colonias sospechosas de *Salmonella spp* en el alimento y las heces de los perros de manera coincidente en al menos 2 semanas, sin embargo, no se confirmaron por pruebas serológicas o bioquímicas por detalles de logística del proyecto. Se evaluó el estado general de salud de los perros alimentados con la dieta BARF por 12 semanas, encontrando una deficiencia en los tres parámetros medibles: aumento en el tiempo de consumo en 100%, disminución del peso corporal en un 8.5% promedio, así como la disminución de la puntuación fecal de 1 a 2 puntos en la escala modificada de Bristol, lo cual conlleva una pérdida progresiva del estado de salud a largo plazo.

VIII IMPLICACIONES

Las dietas tipo BARF son muy aceptadas en la sociedad actual por propietarios y médicos veterinarios en diferentes situaciones y circunstancias, sin embargo, siempre deben considerarse diversos puntos antes de recomendarlas o acceder a que el perro las consuma de manera cotidiana, ya que para el alimento analizado, se determinó que debido al 100% de las muestras fuera de lo establecido en las normas, no se elabora con las condiciones de higiene adecuadas debido a la carga de microorganismos indicadores de calidad sanitaria como son los coliformes totales y presencia de *E coli*. Por otro lado, sugiere que sus materias primas como la carne, no es meramente fresca, por los altos logaritmos de bacterias ácido-lácticas, mesófilas y *Brochothryx thermospacta*, las cuales son indicadoras de frescuras, y que de igual forma se pueden encontrar en frutas y hortalizas que no han sido lavadas de manera correcta.

El alimento al ser mínimamente procesado y no ser sometido a ningún tipo de proceso térmico, todos los microorganismos evaluados no son inactivados ni eliminados de ninguna forma, lo cual les permite permanecer en el producto terminado aun cuando este es empacado al vacío y congelado. De la misma forma, las bacterias patógenas como algunas serovariedades de *E coli* y *Salmonella spp.* que pueden ser encontradas en frutas, cereales, carne, y cualquiera de los ingredientes del alimento, pueden sobrevivir a la congelación y mantenerse viables en el hasta el consumo por parte del perro, pudiendo generar así enfermedad y a su vez una posible zoonosis, desde el manejo del alimento o a través de la convivencia con el perro como vector, como se pudo observar en una de las semanas correlacionando las colonias sospechosas de *Salmonella spp* entre el alimento, las heces del perro y los signos y síntomas de enfermedad gastrointestinal que presentó el propietario debido a la estrecho contacto que tiene con los perros y hasta cierto punto, el poco cuidado que puede llegar a tener por no considerar que el alimento de los perros es un peligro potencial para su salud.

Por otro lado, el estado general de salud de los perros evaluados, se vio mermado durante el proceso, a través de la alteración de los tres parámetros medibles, ya que aumentó el tiempo de consumo por desinterés, el decrecimiento del peso de 8.5% promedio que puede estar estrechamente relacionado con la pérdida de interés de consumo, y de igual forma la decreciente puntuación fecal a lo largo del desarrollo del proyecto.

Es importante considerar que, la edad de los perros puede ser un factor importante para la toma de decisiones respecto al uso de los alimentos tipo BARF, ya que tiene mejor aceptación por perros adultos jóvenes que por perros adultos mayores. Esto puede, de igual forma, sugerir la posible aceptación o rechazo en caso de que se busque el uso de este alimento para situaciones específicas en casos de perros con enfermedades crónicas, sin embargo, son temas que pueden ser ahondados en un futuro.

Por otro lado, el uso de este alimento llega a tener más desventajas de uso que ventajas en diferentes situaciones. No es completamente recomendable su uso en cualquier tipo de perro. Se debe evaluar previamente la salud de este, considerar su edad y hábitos alimenticios, la disponibilidad de tiempo del propietario, los hábitos de higiene de este, y sobre todo el uso de alimentos comerciales, ya que como se observó con el perfil microbiológico desarrollado, las materias primas pueden no ser las idóneas para su fabricación y los procesos de calidad se pueden ver mermados de muchas formas, teniendo como resultado un alimento con un grado de inocuidad poco confiable, el cual puede descomponerse rápidamente por la carga microbiana que contiene desde su origen respecto a las materias primas, e inclusive ser un portador de microorganismos patógenos que generan enfermedades graves en animales y que son transmisibles a las personas.

Se sugiere de igual forma, a futuro, ahondar en la pérdida de peso de los perros y la baja puntuación fecal en relación con la presencia de bacterias patógenas en el alimento, así como la biodisponibilidad de algunos nutrientes de este.

IX LITERATURA CITADA

American Public Health Assotiation (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4a. ed. Washington, Sheridan Books. 2001.

Billingham I. Give your dog a bone: the practical commonsense way to feed dogs for a long healthy life. Alexandria, NSW, Australia, 1993.

Billingham I. The BARF Diet: Raw Feeding for Dogs and Cats Using Evolutionary Principles. Ed Warrigal Publising, Australia, 2001.

Bohaychuk VM, Gensler GE, King RK, Manninen KI, Sorensen O, Wu JT, Stiles ME, McMullen LM Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. Food Protein, 2006.

CDC, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Página Web. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/foods-linked-illness-es.html> 2023.

Cárdenas, F., Gianuzzi, L. Influencia del envasado en la flora cárnica. Rev. La industria cárnica latinoamericana. Vol 25. Num 137. 2005

Carrillo, L., Audisio, M.C. Manual de Microbiología de los Alimentos. Asoc. Coop. De la Fac. de Ciencias Agrarias. Argentina. 2007

Carrillo, M., Reyes, A. Vida útil de los alimentos. Rev. Iberoamericana de las ciencias biológicas y agropecuarias. UASLP. 2013.

Castillo, A. 2014. Elaboración de queso tipo poro con cultivos iniciadores obtenidos durante la producción artesanal del alimento. Tesis de Grado. Universidad Autónoma de Querétaro. 2014.

Centers for Disease Control and Prevention (05/05/2024) *How food gets contaminated – The food production chain.* <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/production-chain-es.html>

Cui S, Ge B, Zheng J, Meng J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp and *Salmonella* serovars in organic chicken from Maryland retail stores. *Environmental Microbiology*, 2005

Davies, RH., Lawes, JR., Wales, AD. Raw diets for dogs and cats: a review, with particular reference to microbiological hazards. *JSAP* 2019. Dueñas, N. Análisis químico nutricional de 10 marcas comerciales de pienso para gato adulto en el mercado colombiano. Bogotá. Universidad de la Salle 2018.

Delgado, VL, Quartino, L. Evaluación de la calidad microbiológica de cortes bovinos envasados al vacío y mantenidos a temperatura de refrigeración. Universidad de la República. Uruguay. 2013.

De-Oliveira LD, Carciofi AC, Oliveira MC, Vasconcellos RS, Bazolli RS, Pereira GT, Prada FI. Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin response in cats. *J Anim Sci*, 2008.

Dijcker JC, Hagen-Plantinga A, Everts H, Bosch G, Kema IP, Hendriks WH. Dietary and animal related factors associate with the rate of urinary oxalate and calcium excretion in dogs and cats. *Vet Rec*, 2012.

Dueñas, N. Análisis químico nutricional de 10 marcas comerciales de pienso para gato adulto en el mercado colombiano. Bogotá. Universidad de la Salle 2018.

Finley R, Ribble C, Aramini J, Vandermeer M, Popa M, Litman M, Reid-Smith R. The risk of salmonellae shedding by dogs fed *Salmonella*-contaminated commercial raw food diets. *Can Vet J*, 2007.

Freeman LM, Chandler MI, Cesta BA, Weeth LP. Current knowledge about the risk and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Vet Med today*. Vol 243, 2013.

Hayes, P. Microbiología e higiene de los alimentos. Zaragoza, Acribia. 1993. Hazewinkel HA, Van Den Brom WE, Van' T Klooster AT, Voorhout G, Van Wees A. Calcium metabolism in Great Dane dogs fed diets with various calcium and

phosphorus levels, *Journal Nutrition*, 1991. Dijkstra JC, Hagen-Plantinga A, Everts H, Bosch G, Kema IP, Hendriks WH. Dietary and animal related factors associated with the rate of urinary oxalate and calcium excretion in dogs and cats. *Vet Rec*, 2012.

Hernández, C., Fonnegra, L., Londoño, L. Prevalencia de *Salmonella* spp en perros del centro de bienestar animal “La pera” en Medellín, Colombia. *Rev. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2009.

Joffe DJ, Schlesinger DP. Preliminary assessment of the risk of *Salmonella* infection in dogs fed raw chicken diets. *Can Vet*, 2002.

KuKanich KS. Update on *Salmonella* spp contamination of pet food, treats, and nutritional products and safe feeding recommendations. *J Am Vet Med Assoc*, 2011

Lee, A., Maks, N., Aguilar, V., Piszczor, K., Swicegood, B., Ye, M., Warren, J., O’Neill, E., Fleck, M., Tejeyadi, S. Inactivation of *Salmonella*, Shiga Toxin-producing *E. coli*, and *Listeria monocytogenes* in Raw Diet Pet Foods Using High-Pressure Processing. *Journal of Food Protection*. Elsevier. 2023.

LeJeune JT, Hancock DD. Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *Vet Med A*, 2001.

Meyer H, Zentek J, Habernoll H, Maskell I. Digestibility and compatibility of mixed diets and faecal consistency in different breeds of dog. *Zentralbl Veterinarmed*, 1999

Muñoz, S S. Amid the recall of dozens of brands of pet foods, many dog and cat owners are grappling with a tough question: “What can they safely feed their pets?” New York, New York: Wall Street Journal, 2007.

NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Ciudad de México. 1994.

NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Ciudad de México. 1994.

NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *salmonella* en alimentos. Ciudad de México. 1994.

NOM-213-SSA1-2018. Productos y Servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Ciudad de México. 2019.

OMS. Organización mundial de la salud. Página web. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli#:~:text=graves%20intoxicaciones%20alimentarias.-.E.,hortalizas%20contaminadas%20por%20materia%20fecal>. 2023

Pascual, M., Calderón, V. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Ed Diaz de Santos. España. 1999.

Pouch F., Ito K. Compendium of methods for microbiological examination of foods. 4 Ed: American Public Health Association. 2001.

Serrano, K. Dieta BARF: Ventajas y Desventajas de su formulación en diferentes patologías. Bogotá. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. 2021.

Tirado, J., Paredes, D., Velazquez, G., Torres, J.A. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. Rev. Ciencia y tecnología alimentaria. Vol 5. 2005.

Valencia, S. Propuesta producción de alimento para perros a base de pescado de desperdicio en México. Tesis de ESIQI 2019.

Wayne, WD. Bioestadística : base para el análisis de las ciencias de la salud. 4a ed. México. Limusa. 2002.

ANEXOS

Anexo 1

Consentimiento informado

Fecha: 00/00/0000

Las dietas BARF tienen un auge en el mundo moderno, ya que buscan ser lo más semejante a la alimentación natural de los perros. Los propietarios hoy en día buscan que sus mascotas tengan una mejor alimentación y este tipo de dietas se menciona que son muy prometedoras en cuanto a beneficios nutritivos.

El objetivo del trabajo de investigación a desarrollar es observar a un grupo de pacientes alimentados con dietas tipo BARF, para identificar si existen cambios en su salud intestinal. Busca de igual forma, recolectar muestras de heces y del alimento para realizar análisis bacteriológicos, para tratar de identificar la presencia o ausencia de microorganismos.

Los participantes de este proyecto serán perros sanos, que vivan en un hogar sin contacto exterior, cuyo propietario de manera voluntaria ya han querido cambiar la alimentación de su perro, de una dieta convencional a base de croquetas a una dieta natural tipo BARF. Por parte del equipo de investigación, se realizará una exploración física general a cada paciente, que durará alrededor de 15 minutos. Se determinará el peso del paciente con el uso de una báscula de piso calibrada, donde el paciente debe subirse para ser pesado, así como la determinación de la condición corporal del mismo son base al sistema de índice de condición corporal para perros y gatos, donde se espera que los pacientes se encuentre en el rango 4-5, considerado como ideal; Posterior a esto, se llevará a cabo la exploración física del perro en presencia del propietario, sobre una mesa de exploración de acero inoxidable limpia, lavada con agua corriente y jabón. La contención del animal se determinará dependiendo del entorno, del comportamiento y grado de incomodidad aparente del paciente; en caso de ser necesario, la técnica de contención idónea será con el perro sentado sobre la mesa, el propietario deberá colocar un brazo por debajo del cuello del perro de manera que el antebrazo sujete la cabeza del perro de forma segura, colocar el otro brazo alrededor del tren posterior del perro y atraerá a este cerca de su tórax para mejorar la contención. Esto ayudará a que el perro pueda sentirse más en confianza con su propietario y permita la exploración física detallada. Se observará la apariencia del animal, que se encuentre aseado, sin evidencia de ectoparásitos o lesiones aparentes. Se observarán las mucosas orales en busca de palidez o alguna coloración anormal y dientes para garantizar la salud bucal del perro. Se utilizarán un estetoscopio para la medición de la frecuencia

cardiaca (FC) y respiratoria (FR) sobre el tórax del paciente; posteriormente se utilizará un termómetro digital infrarrojo para la medición de la temperatura corporal del paciente. Este se colocará dentro del pabellón auricular del perro por 3 segundos. Se determinará el nivel de hidratación del paciente a través de la presencia de elasticidad cutánea; se levantará un poco la piel sin causar dolor, buscando que esta regrese a su posición natural en menos de 1 segundo; y por último se realizará la palpación de linfonodos periféricos localizados en 5 zonas del cuerpo del perro, en búsqueda de que no se encuentren aumentados de tamaño. Los pacientes involucrados en el estudio serán visitados por el médico responsable del proyecto un día a la semana en fecha y horario que sea conveniente para el propietario, a modo de seguimiento de la salud de estos. En caso de presentarse alguna complicación de salud, los pacientes serán atendidos en la clínica veterinaria Vet Spot ®, con dirección en Cordillera 102, Cumbres del Roble, Corregidora, Querétaro, para llevar a cabo el tratamiento que sea necesario para cada uno de ellos. El propietario apoyará al proyecto, alimentando a los animales, como lo especifica la marca comercial de alimento que desee comprar, en tiempos y cantidades a especificar con base a la talla y raza del perro, y recolectando muestras de excremento con base a un calendario que se especificará los días a realizar estas colectas; de igual forma, los días establecidos, el médico veterinario zootecnista (MVZ) responsable del proyecto, realizará la recolección de las muestras en el domicilio del propietario. El propietario también notificara si detecta un cambio en las características de la consistencia del excremento o salud del animal de manera oportuna y cuando lo crea necesario. El MVZ responsable acudirá al domicilio para proceder con una exploración clínica del perro. Este estudio ayudará a identificar la posible relación de la presencia de problemas digestivos con la alimentación de los perros con dietas tipo BARF. Es responsabilidad del equipo de desarrollo del proyecto, informarle a usted que los datos e información obtenidas durante y posterior al desarrollo del proyecto, serán manejados totalmente de manera confidencial.

Se proporciona al propietario participante, información de contacto de 2 elementos del equipo de investigación y uno de parte del Comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, los cuales son:

Investigadora responsable del proyecto: Dra. María Concepción Méndez Gómez-Humarán, con número de teléfono 442 239 5416, correo electrónico conchitamendez@uaq.edu.mx

Estudiante de posgrado y Médico Veterinario clínico responsable: MVZ Juana Karla Díaz Hernández. Con número de teléfono 442 145 8147, correo electrónico Karla.diaz.mvz@gmail.com

Miembro del Comité de Bioética: MSIA Elba Orozco Estrada presidenta de comité de biótica de la FCN, correo electrónico: elba.orozco@uaq.edu.mx

Con base a lo anterior descrito y con la explicación que me fue proporcionada, sobre la participación en este proyecto, Yo _____ el día ____ del mes __ del año ____ siendo propietario y responsable del perro o perros nombre(s): _____, de especie _____ y raza _____ se me ha informado y explicado en forma clara el estado de salud de mis mascotas tras su revisión, por lo que autorizo que, la Médico Veterinario Zootecnista Juana Karla Díaz Hernández con cédula profesional 9428242, realice el seguimiento observacional de mis mascotas como parte de su proyecto de investigación de posgrado, para el cual por voluntad y elección propia decidí alimentarlos con una dieta BARF a partir del mes de enero del año 2023. Por parte de la médico veterinario zootecnista a cargo del proyecto, me fue informado de los posibles efectos benéficos o no de la alimentación que elegí, asumiendo también los gastos que deriven de los tratamientos, procedimientos y exámenes que puedan ser requeridos para el tratamiento de mis mascotas. Así mismo entregare las muestras de excremento y del alimento requeridas para que se proceda a realizar el análisis bacteriológico e informara el estado de salud de los peros de manera oportuna.

La Médico Veterinario Zootecnista Juana Karla Díaz Hernández, no se hará responsable ante el paciente o propietario de los animales por los efectos adversos mismos que le fueron explicados al propietario de las mascotas. No obstante, la Médico Veterinario Zootecnista aplicará todos los medios y conocimientos por parte de la ciencia para salvaguardar la salud y la vida de las mascotas.

Por lo que desde este momento manifiesto que me han sido explicados en forma clara y entendible los alcances del proyecto en el cual estarán participando mis mascotas, autorizando los mismos, no teniendo duda alguna, eximiendo al Médico Veterinario Zootecnista de cualquier responsabilidad civil y/o penal derivado de todo el procedimiento del proyecto que me fue explicado.

Propietario

MVZ Juana Karla Díaz Hernández
Estudiante de Posgrado



Dra. María Concepción Méndez Gómez-Humarán
Investigador

Testigo 1:

Testigo 2:

Anexo 2:

Índice de Condición corporal de los perros según la WSAVA

TOO THIN	1	Ribs, lumbar vertebrae, pelvic bones and all bony prominences evident from a distance. No discernible body fat. Obvious loss of muscle mass.	
	2	Ribs, lumbar vertebrae and pelvic bones easily visible. No palpable fat. Some evidence of other bony prominence. Minimal loss of muscle mass.	
	3	Ribs easily palpated and may be visible with no palpable fat. Tops of lumbar vertebrae visible. Pelvic bones becoming prominent. Obvious waist and abdominal tuck.	
IDEAL	4	Ribs easily palpable, with minimal fat covering. Waist easily noted, viewed from above. Abdominal tuck evident.	
	5	Ribs palpable without excess fat covering. Waist observed behind ribs when viewed from above. Abdomen tucked up when viewed from side.	
TOO HEAVY	6	Ribs palpable with slight excess fat covering. Waist is discernible viewed from above but is not prominent. Abdominal tuck apparent.	
	7	Ribs palpable with difficulty; heavy fat cover. Noticeable fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent or barely visible. Abdominal tuck may be present.	
	8	Ribs not palpable under very heavy fat cover, or palpable only with significant pressure. Heavy fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent. No abdominal tuck. Obvious abdominal distention may be present.	
	9	Massive fat deposits over thorax, spine and base of tail. Waist and abdominal tuck absent. Fat deposits on neck and limbs. Obvious abdominal distention.	
			

The **BODY CONDITION SYSTEM** was developed at the Nestlé Purina Pet Care Center and has been validated as documented in the following publications:

Maijor D, Soriges JW, Meyer J, et al. *Comparison of body fat estimates by dual-energy x-ray absorptiometry and deuterium oxide dilution in diet owned dogs.* *Compendium* 2001; 23 (9A): 70

Lafrenesse DP. *Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs.* *Canine Practice* 2007; 39(3):14.

Anexo 3

NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - salud ambiental - residuos peligrosos biológico-infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo.

3.13 Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI)

Son aquellos materiales generados durante los servicios de atención médica que contengan agentes biológico-infecciosos según son definidos en esta Norma, y que puedan causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.

3.14 Sangre

El tejido hemático con todos sus elementos.

3.15 SEMARNAT

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

3.16 SSA

Secretaría de Salud.

3.17 Separación

Segregación de las sustancias, materiales y residuos peligrosos de iguales características cuando presentan un riesgo.

3.18 Tejido

Entidad morfológica compuesta por la agrupación de células de la misma naturaleza, ordenadas con regularidad y que desempeñan una misma función.

3.19 Tratamiento

El método físico o químico que elimina las características infecciosas y hace irreconocibles a los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

4. Clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

4.1 La sangre

4.1.1 La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).

4.2 Los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos

4.2.1 Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico-infecciosos.

4.2.2 Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.

4.3 Los patológicos

4.3.1 Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.

4.3.2 Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.

4.3.3 Los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios.

4.4 Los residuos no anatómicos

Son residuos no anatómicos los siguientes:

4.4.1 Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.

6.1 Los generadores y prestadores de servicios, además de cumplir con las disposiciones legales aplicables, deben:

6.1.1 Cumplir con las disposiciones correspondientes a las siguientes fases de manejo, según el caso:

- a) Identificación de los residuos.
- b) Envasado de los residuos generados.
- c) Almacenamiento temporal.
- d) Recolección y transporte externo.
- e) Tratamiento.
- f) Disposición final.

6.2 Identificación y envasado

6.2.1 En las áreas de generación de los establecimientos generadores, se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la tabla 2 de esta Norma Oficial Mexicana. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

TABLA 2








TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR
4.1 Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.2 Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
4.3 Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
4.4 Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.5 Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos polipropileno	Rojo

- a) Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo traslúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo traslúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (Apéndice Normativo), deberán cumplir los valores mínimos de los parámetros indicados en la tabla 3 de esta Norma Oficial Mexicana.

Las bolsas se llenarán al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no podrán ser abiertas o vaciadas.

Anexo 4

Panel de puntuación fecal según la escala modifica de Bristol para perros.

Puntuación	Muestra	Características
1		<ul style="list-style-type: none">■ Muy duras y secas■ A menudo expulsadas como bolitas individuales■ Requieren mucho esfuerzo para expulsar del cuerpo■ No deja residuos en el suelo cuando se recogen
2		<ul style="list-style-type: none">■ Firmes, pero no secas, moldeables■ Con apariencia segmentada■ Dejan pocos o ningún residuo en el suelo cuando se recogen
3		<ul style="list-style-type: none">■ Forma de tronco; superficie húmeda■ Segmentación mínima o nula■ Dejan residuos en el suelo, pero mantienen la forma cuando se recogen
4		<ul style="list-style-type: none">■ Mucha humedad; pastosas■ Forma de tronco■ Dejan residuos en el suelo y pierden la forma al recogerlas
5		<ul style="list-style-type: none">■ Muy húmeda, pero tiene una forma distinguible■ Presentes en montoncitos en lugar de troncos distinguibles■ Dejan residuos y pierden la forma al recogerlas
6		<ul style="list-style-type: none">■ Tienen textura, pero no una forma definida■ Forma de montoncitos o manchas■ Dejan residuos al recogerse
7		<ul style="list-style-type: none">■ Acuosa■ Sin textura■ Forma plana en el suelo, en charcos

Anexo 5

Anexo 5. NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecidos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

NORMA Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSÉ ALONSO NOVELO BAEZA, Comisionado Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en lo dispuesto por los artículos 39, de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, 4, de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo, 3o., fracciones XXII y XXIV, 13, apartado A, fracciones I y II, 17 bis, 194, fracción I, 197, 199, 201, 210, 212 y 214, de la Ley General de Salud; 38, fracción II, 40, fracciones I, XI y XII, 43 y 47, fracción IV, de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28, del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 3, fracciones I, inciso c y II, así como 10, fracción VIII, del Reglamento de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito expedir y ordenar la publicación en el Diario Oficial de la Federación de la

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-213-SSA1-2018, PRODUCTOS Y SERVICIOS. PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS Y LOS ESTABLECIMIENTOS DEDICADOS A SU PROCESO. DISPOSICIONES Y ESPECIFICACIONES SANITARIAS. MÉTODOS DE PRUEBA

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron:

SECRETARÍA DE SALUD

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria

CONSEJO MEXICANO DE LA CARNE

CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACIÓN

CONFEDERACIÓN DE CÁMARAS INDUSTRIALES DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

ÍNDICE

1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias normativas
3. Términos y definiciones
4. Símbolos y términos abreviados
5. Disposiciones sanitarias
6. Especificaciones sanitarias
7. Muestreo
8. Métodos de prueba
9. Marcado y etiquetado
10. Concordancia con Normas Internacionales
11. Observancia de la Norma
12. Procedimiento de Evaluación de la Conformidad
13. Vigencia
14. Bibliografía
15. Apéndice A Normativo

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma tiene por objeto establecer las disposiciones y especificaciones sanitarias que deben cumplir los productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso.

1.2 Esta Norma es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dediquen al proceso de productos cárnicos o su importación.