



**UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE PUEBLA**

**DECANATO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

**ESPECIALIDAD EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE PERROS
Y GATOS**

**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO EN LOS ALIMENTOS
CRUDOS BIOLÓGICAMENTE APROPIADOS
COMERCIALES EN LA CIUDAD DE PUEBLA, PUEBLA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGIA DE PERROS
Y GATOS**

PRESENTA:

MVZ. FERNANDO VALENCIA CAMPOS

DIRECTOR:

DRA. LAURA CONTRERAS MIONI

CO-DIRECTOR:

Q.F.B. MARCO ANTONIO REYES RAMOS

PUEBLA, PUEBLA, FEBRERO 2024



Derechos de Autor

Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Secretaría General

Vicerrectoría de Investigación

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - Karol Wojtyła

ANEXO 1. Liberación de Tesis

Dra. en C. Alicia Pamela Pérez Sánchez

Coordinadora de la Especialidad en Medicina y Cirugía en Perros y Gatos

Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla

PRESENTE

Por este medio hago de su conocimiento que la tesis con título: **“ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO EN LOS ALIMENTOS CRUDOS BIOLÓGICAMENTE APROPIADOS COMERCIALES EN LA CIUDAD DE PUEBLA, PUEBLA.”** que presenta el (la) egresado (a) **Fernando Valencia Campos** de la Especialidad en Medicina y Cirugía en Perros y Gatos con número de ID 237804 y número de matrícula 16440053 ha sido revisada y cuenta con la metodología adecuada, además se ha comprobado que la información de este trabajo es original, salvo la información aportada de las fuentes bibliográficas, este escrito fue revisado por el programa anti plagio Turnity y se anexa reporte a este documento, a fin que el alumno realice el examen correspondiente para la obtención de su Diploma de Especialista.

Sin otro particular, envío un cordial saludo

ATENTAMENTE
Dra. Laura Contreras Mioni
Decano de Ciencias de la Vida y la Salud. UPAEP



Nombre y firma del director de tesis

•Indicar si son profesores de UPAEP, de lo contrario la institución a la que pertenecen.

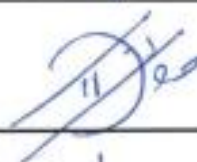
Puebla, Pue., 27 de febrero del 2024

El presente documento titulado “**ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO EN LOS ALIMENTOS CRUDOS BIOLÓGICAMENTE APROPIADOS COMERCIALES EN LA CIUDAD DE PUEBLA, PUEBLA.**” fue supervisado y aprobado por el comité asignado para el examen de posgrado, por lo que no hay inconveniente para que la sustentante **Fernando Valencia Campos** con ID 237804 y número de matrícula 16440053, quien ha sido dirigida y orientada por la Dra. Laura Contreras Mioni, promueva la obtención del título profesional de **ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE PERROS Y GATOS.**

Dra. Laura Contreras Mioni *

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'L. Contreras Mioni', written over a horizontal line.

Dra. Alicia Pamela Pérez Sánchez *

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Pérez Sánchez', written over a horizontal line.

QFB. Marco Antonio Reyes Ramos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. A. Reyes Ramos', written over a horizontal line.

* Catedráticos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UPAEP.

“LA CULTURA AL SERVICIO DEL PUEBLO”

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ileana Zorhaya Martínez Amos', written over a horizontal line.

DRA. ILEANA ZORHAYA MARTÍNEZ AMOS

DIRECTORA D ELA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ileanazorhaya.martinez@upaep.mx

PUEBLA, PUEBLA, NOVIEMBRE 2023

AGRADECIMIENTO

Para construir algo grande se requieren de cimientos fuertes y firmes, después de los cimientos vienen las columnas, los cuales brindan un gran apoyo y resistencia.

Agradezco mucho a Dios porque en mi caso no pude tener mejor cimiento que mi familia, mis padres crearon un hombre con principios y valores fuertes que sabe que no hay objetivo que con dedicación y esfuerzo no se pueda cumplir. No tengo las palabras suficientes para agradecer a mis padres y hermano su gran apoyo y motivación de superación día con día. El saber que atrás de ti hay una familia que te respalda brinda confianza y fortaleza. Muchas gracias a los tres por siempre apoyarme en mis objetivos y alentarme a crecer en todos los ámbitos.

Dentro de mis múltiples columnas me gustaría agradecer principalmente a mi esposa Jacqueline Helena Martínez Pichardo la cual me acompañó, motivó y cuidó. Ella ha sido pieza importante para mí superación tanto en lo personal como lo profesional y para hacer de todo algo más bonito.

Me considero una persona afortunada por tener cerca a personas que siempre me han brindado su apoyo, a mis amigos de la especialidad Irving, Einar, Omar, Abiel y Hyun que más allá de ser amigos los veo como hermanos por que durante toda esta aventura me compartieron sus conocimientos, apoyo y amistad.

A los académicos que al final todos aportaron conocimientos nuevos y procuraron enseñarme lo mejor posible. Sin embargo, me gustaría agradecer especialmente a:

Doctora Alicia Pamela Pérez Sánchez por siempre procurar lo mejor para mí, ayudarme y confiar en mi potencial dentro y fuera de la especialidad. Por algo se ganó el título de Mamá Pamela.

Doctora Laura Contreras Mioni principalmente por su tiempo invertido en este proyecto y su apoyo desde el primer día.

Doctores Luis Arturo Flores Alonso y Mario Enrique León García por el apoyo brindado para la resolución de casos clínicos, así como la disponibilidad y amistad brindada.

Doctora Daniela Belem Vázquez Briones por su abundante aportación de conocimientos dentro y fuera del área de patología clínica, así como el apoyo en diversos casos clínicos de interés académico.

Química Jazmín Cisneros Hernández por su apoyo dentro del laboratorio, por su paciencia y disposición.

Por último, pero no menos importante agradecer a los residentes con los que compartí el hospital, por la enseñanza y la exigencia. Cada uno aportó conocimientos y técnicas nuevas que me ayudaron a mejorar en lo profesional.

Sin duda alguna la especialidad fue una hermosa etapa donde pasaron momentos felices, tristes, enojados, sorprendentes, desanimados, pero siempre aprendiendo y mejorando día a día.

INDICE

1. Introducción.....	1
2. Marco Teórico.....	2
2.1 Dietas BARF.....	3
2.2 Bacterias de importancia clínica.....	6
2.2.1 <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	6
2.2.2 <i>Salmonella</i>	6
2.2.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
2.3 Normas Oficiales Mexicanas para valores permisibles microbiológicos.....	8
2.3.1 Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.....	8
2.3.2 Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.....	9
2.4 Medios de cultivo.....	9
2.4.1 Agar MacConckey.....	9
2.4.2 Calco EC.....	9
2.4.3 Caldo EC Mug.....	9
2.4.4 Caldo Rapapport Vassiliadis.....	10
2.4.5 Caldo Muller-Kauffmann Tetratonato Novobiacina (MKKTN).....	10
2.4.6 Agar Entérico de Hektoen.....	10
2.4.7 Agar Verde Brillante.....	10
2.5 Técnica Espectrometría de masas MALDI-TOF.....	11
3.0 Planteamiento del problema.....	12
3.1 Pregunta de investigación.....	12
3.2 Justificación.....	12
3.3 Objetivo.....	13
3.4 Objetivos específicos.....	13
3.5 Hipótesis.....	13
4.0 Materiales y métodos.....	14
4.1 Tipo y diseño de investigación.....	14
4.2 Población y muestra.....	14
4.3 Criterios de Selección.....	14
4.4 Criterios de Inclusión.....	14

4.5 Criterios de exclusión	14
4.6 Cuadro de variables	14
4.7 Delimitación geográfica y periodo de estudio	15
4.8 Materiales.....	15
4.9 Método.....	16
4.10 Técnicas para preparación de medios de cultivo	17
4.10.1 Agar MacConckey	17
4.10.2 Caldo Lauril Sulfato de Sodio	17
4.10.3 Calco EC	17
4.10.4 Caldo EC Mug.....	17
4.10.5 Caldo Rapapport Vassiliadis.....	18
4.10.6 Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato Novobiacina (MKKTN)	18
4.10.7 Agar Entérico de Hektoen.....	18
4.10.8 Agar Verde Brillante	18
4.11 Preparación de muestras	19
4.11.1 Preparación de muestras para detección de <i>E. coli</i>	19
4.11.2 Preparación de muestras para detección de <i>Salmonella Spp</i>	21
4.11.3 Preparación de la muestra para identificación bacteriana por MALDI-TOF	22
4.12 Tabla de valores de Número Más Probable (NMP/g)	24
5.0 Resultados.....	25
6.0 Discusión	27
7.0 Conclusiones	29
8.0 Referencias	31

RESUMEN

Hoy en día han aumentado las familias con mascotas en casa, dichas mascotas son consideradas como miembros más de la familia, por lo que los tutores son más comprometidos y buscan brindar lo mejor a sus compañeros de vida.

Por lo anterior mencionado es que nos encontramos con un mercado muy amplio con gran variedad de tipos y marcas de alimentos para mascotas.

Debido a la alta demanda se ha visto como oportunidad de emprendimiento para diferentes empresas. Sin embargo, una pregunta importante que nos tenemos que hacer como profesionales en el ámbito veterinario es si realmente todas son saludables para las mascotas como para recomendarlas a las personas que depositan su confianza en nosotros.

En el siguiente trabajo de investigación nos dimos a la tarea de someter a un proceso de sanidad e inocuidad diferentes marcas de alimentos crudos biológicamente apropiados (BARF) comercializadas en la ciudad de Puebla, Puebla.

La finalidad de dicho proyecto fue conocer más sobre este tipo de dietas y saber si realmente son una buena opción para las mascotas consumidoras, al menos en dicha ciudad.

Los resultados fueron más sorprendentes de lo que esperábamos, debido a que se aislaron patógenos que no esperábamos encontrar, pero que pueden representar un riesgo para la salud de las mascotas como de los tutores que manipulan dichas dietas.

El propósito no es descartar este tipo de dietas para un futuro. Pero si nos dice mucho sobre la falta de legislación y criterios para la realización de este tipo de dietas. Es importante continuar con investigaciones a futuro y poder desarrollar protocolos establecidos para una adecuada trazabilidad de dichas dietas.

1. Introducción

Actualmente los perros son considerados parte importante de las familias, puesto que son apreciados como un miembro más. Muchos tutores han tenido preferencia sobre las dietas caseras como una base de alimentación para sus mascotas ya que estas son más palatables y las mascotas reflejan gran interés por este tipo de alimentación. En la actualidad se han realizado formulaciones y búsqueda de nuevas formas de alimentación en perros dando lugar a la tendencia de las dietas BARF por sus siglas en inglés, las cuales significan “Alimentos Crudos Biológicamente Apropriados” o “Huesos y Alimentos Crudos” (Billinghurst, 2016). Estas dietas consisten en proporcionar a los perros una alimentación similar a la que anteriormente consumían en vida silvestre, es decir, alimentos frescos y crudos que se pueden conseguir fácilmente en carnicerías y supermercados (Billinghurst, 2016).

Las dietas BARF están compuestas de huesos carnosos y complementos que contienen elementos dietéticos que no se encuentran en los huesos carnosos, buscando generar una dieta balanceada alta en proteínas, grasas, minerales y vitaminas necesarias (Billinghurst, 2016). Sin embargo, este tipo de dietas pueden contener patógenos bacterianos altamente infecciosos si no se respetan los procesos de inocuidad y sanidad, podrían representar un riesgo de bioseguridad para la salud de las mascotas y propietarios de estas (Castañeda et al., 2019). Por lo cual es importante analizar si este tipo de dietas pueden significar un riesgo por crecimiento bacteriano y así determinar la inocuidad con la que estas dietas se elaboran.

2. Marco Teórico

Los canidos (*Canis lupus familiaris*) han sido la primera especie domesticada por el hombre. Dentro de las hipótesis del origen de esta especie, la última desarrollada es que el lobo gris es el único ancestro de los canidos (Boivin, 2020).

Anteriormente los canidos se alimentaban de cualquier tipo de comida disponible a su alcance, dentro de la cual se encontraba carne cruda, leche cruda, huevos crudos, así como cualquier tipo de comida que se encontraba en su habitat natural. Genéticamente los perros son una especie omnívora, es decir, se alimentan de vegetales y carne (Gaviria, 2016).

Los nutrientes se dividen en seis categorías: agua, carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales. A su vez la energía es un nutriente principal, es uno de los componentes más importantes de la dieta (Wortinger & Burns, 2015).

Los animales no son capaces de generar su propia energía, por lo que requieren de una dieta balanceada para un desarrollo óptimo de acuerdo con su etapa de crecimiento (Wortinger & Burns, 2015).

Una mala nutrición puede afectar directamente sobre la salud de las mascotas, desencadenando el desarrollo de ciertas enfermedades, como podría ser un alto nivel de fósforo y proteína, lo cual podría concluir en enfermedades renales (Gaviria, 2016).

En 1860 se registró el primer alimento comercial para mascotas elaborado por James Spratt, el cual consistía en un pastel horneado para perros hecho con carne, vegetales y harina de trigo, alimento que se convertiría en un éxito comercial (López, 2018).

En 1922 se registró el primer producto enlatado para mascotas, elaborado con carne de caballo (López, 2018).

En 1935 Forrest Mars inicia el negocio de alimento para mascotas, creando los productos como Pedigree mealtime y Whiskas (López, 2018).

En 1939 el Dr. Mark L. Morris diseñó la primera dieta especializada para un perro con problemas renales. En 1948 dicho doctor se asoció con Burton Hill para la elaboración de alimento enlatado para mascotas formando entonces la empresa Hill's Pet Nutrition y la producción de dietas de preinscripción médica. Y posteriormente en 1958 Hill's Pet Nutrition lanzan dietas de preinscripción para mascotas sanas, llamadas Science Diet (López, 2018).

En 1957 la empresa Ralston Purina lanzo su alimento Dog Chow, el primer alimento extrudizado para perros (López, 2018).

Al paso de los años la alimentación para perros ha pasado por procesos de evolución en cuanto a calidad, regulación, proceso y tipo de ingredientes. Hoy en día los alimentos para mascotas son fabricados de acuerdo con los estándares mundiales a nivel de seguridad alimentaria y nutrición (López, 2018).

Hoy en día, los perros han pasado de ser un animal doméstico, a ser considerado como un miembro más de la familia. Para muchos tutores, los perros son considerados como un hijo más (Gaviria, 2016). Por lo cual los tutores se preocupan más por la salud de sus mascotas y por lo que deberían comer (Billinghurst, 2016).

2.1 Dietas BARF

La alimentación con dietas BARF, recibió un lanzamiento debido a publicaciones no especializadas en la década de 1990 – 2000, la cual avanzo con la ideología de una dieta natural para los perros y gatos domésticos (Davies et al., 2019).

La dieta BARF es un procedimiento que tiene como objetivo devolver la dieta evolutiva a los animales de compañía (Billinghurst, 2016).

Los tutores, preocupados por la salud y la alimentación de sus mascotas, han optado por no alimentarlas con alimentos procesados o que basan su dieta en cereales. Estos tutores han decidido alimentar a sus mascotas con alimentos frescos, huesos carnosos y crudos, verduras trituradas, vísceras y otros alimentos saludables (Billinghurst, 2016). A pesar de que en un estudio reciente que se realizó

entre los tutores que alimentan a sus mascotas con dietas BARF y los que no lo hacen, reflejo que, los tutores que alimentan a sus mascotas con dietas BARF están menos comprometidos con los especialistas de la salud (Davies et al., 2019).

Las dietas BARF se basan en alimentos naturales, con la finalidad de buscar optimizar la calidad de vida de los perros consumidores, solucionando problemas como halitosis, calidad del pelo, entre otros (Botero & Arias, 2018).

Este tipo de dietas que se basan en sus ingredientes crudos contienen en su mayoría componentes animales como carne, despojos y huesos carnosos, sin embargo, estos son combinados con mínimas cantidades de vegetales como verduras y frutas, adicionadas con diferentes tipos de aceites y suplementos (Schmidt et al., 2018).

La teoría aprobada de la descendencia del lobo ha sido motivo para que los tutores que optan por una dieta BARF expresen la deficiente capacidad de los canidos para digerir carbohidratos, los cuales se encuentran en los alimentos comerciales, sin embargo, los perros a través de su evolución genética han conseguido mayor capacidad para la digestión de almidones debido a diferentes patrones de expresión genética con el lobo (Davies et al., 2019). A pesar de que hay un informe donde reportan que hay 36 regiones del genoma diferentes entre perros y lobos, de los cuales 10 representan un juego importante en la digestión de almidón y metabolismo de grasas (Freeman et al., 2013).

La Asociación Americana de Medicina Veterinaria afirma que los alimentos crudos para mascotas se producen con poca o ninguna supervisión regulatoria por parte del gobierno estatal o federal (Davies et al., 2019). Existe evidencia que las dietas crudas son un factor de riesgo para las mascotas consumidoras y tutores (World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), 2020). Hay estudios que revelan que las dietas BARF pueden ser un riesgo de desequilibrios nutricionales y riesgos para la salud de las mascotas consumidoras (Freeman et al., 2013).

Las infecciones transmitidas por las dietas con alimentos crudos pueden ser altamente graves o hasta fatales, dentro de las que sobresalen *E. coli*, *Salmonella*

spp, entre otros (World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), 2020). Además de los riesgos ya mencionados, en los que sobresalen la desnutrición e infecciones por deficiencias en la producción de estas dietas, un problema importante que se puede desencadenar es introducir bacterias que sean resistentes a los antimicrobianos (Davies et al., 2019).

Estudios confirman que la prevalencia de contaminación de las dietas a base de alimentos crudos con *Salmonella* spp. puede ser entre el 20% y 48%. Y que 8 de cada 10 dietas a base de alimentos crudos preparadas en casa de igual manera pueden estar contaminadas con *Salmonella* spp (Freeman et al., 2013). Se ha identificado a las dietas BARF como un factor de riesgo importante para la diseminación de *Salmonella* spp. Estudios sugieren que la ingestión de dietas contaminadas con *Salmonella* spp. conducen a una excreción crónica o amplificada en los perros (Davies et al., 2019).

Las dietas a base de alimentos crudos además de representar un riesgo para la salud de las mascotas representan un riesgo para la salud de las personas que pueden llegar a manipularla o tutores de las mascotas consumidoras, ya que pueden estar contaminadas de microorganismos como *E. coli*, *Salmonella* spp. e incluso en algunas ocasiones por parásitos, como *T. gondii*. El contacto directo con alimentos contaminados, animales infectados o con sus heces resulta en un factor de riesgo para el desarrollo de salmonelosis en humanos (Davies et al., 2019; Freeman et al., 2013).

Pequeños estudios han demostrado que hay mayor diversidad bacteriana fecal en animales que son alimentados con dietas a base de alimentos crudos, en comparación con animales alimentados con alimentos procesados (Davies et al., 2019).

Pero las dietas BARF no solo representan un riesgo de infección para las mascotas consumidoras, estudios han reportado desbalances nutricionales en este tipo de dietas. Un estudio ha demostrado que el 95% de recetas de dietas BARF tenían al menos deficiencia de un nutriente esencial de acuerdo con la AAFCO

(Association of American Feed Control Officials). Y el 84% múltiples deficiencias (Freeman et al., 2013).

2.2 Bacterias de importancia clínica

2.2.1 *Escherichia coli (E. coli)*

Es una bacteria Gram negativo fermentativa, se presenta en forma de bacilo y se desarrolla en medios simples incluido el agar MacConkey (Gyles et al., 2010). Esta bacteria se encuentra normalmente en los intestinos de los humanos y de los animales sanos. Sin embargo, se puede encontrar en alimentos y/o agua que no tienen un proceso adecuado de desinfección, representando un compromiso para la salud de los consumidores (CDC, 2022b) . Dentro de los patotipos más estudiados, podemos encontrar *E. coli enteropatogénica* (EPEC), *E. coli enterotoxigénica* (ETEC), *E. coli enteroagregativa* (EAEC), *E. coli enteroinvasiva* (EIEC) y *E. coli productora de Shiga* (STEC) (Molina et al., 2022).

Los signos clínicos gastrointestinales son lo que predominan en pacientes enfermos por *E. coli*. Sin embargo, también puede generar infecciones urinarias, respiratorias o en torrente sanguíneo (CDC, 2022b).

2.2.2 *Salmonella*

Es una bacteria Gram negativo que forma parte de las Enterobacteriaceae. Se divide en *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*. El 99% de las salmonelosis en humanos y animales de sangre caliente está relacionada con *Salmonella entérica* sub *entérica* (Ilustración 1). En humanos *Salmonella Typhi* y *Salmonella Paratyphi* son principales de causar fiebres entéricas. En animales de sangre fría se han aislado *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori* con menor porcentaje de virulencia. Sin embargo, se han señalado nuevas serovariedades de brotes como *S. Montevideo* y *S. Hadar* (Ministerio de la Protección Social et al., 2011).

La principal fuente de contagio de salmonella es por la ingesta de alimentos contaminados, principalmente carne de pollo, pavo, res y cerdo, huevos, vegetales, frutas y agua contaminada. Sin embargo, el contacto con animales o personas enfermas igual puede ser una fuente de infección (CDC, 2022a).

Las personas y animales afectados por Salmonella van a presentar signos gastrointestinales (CDC, 2022a).

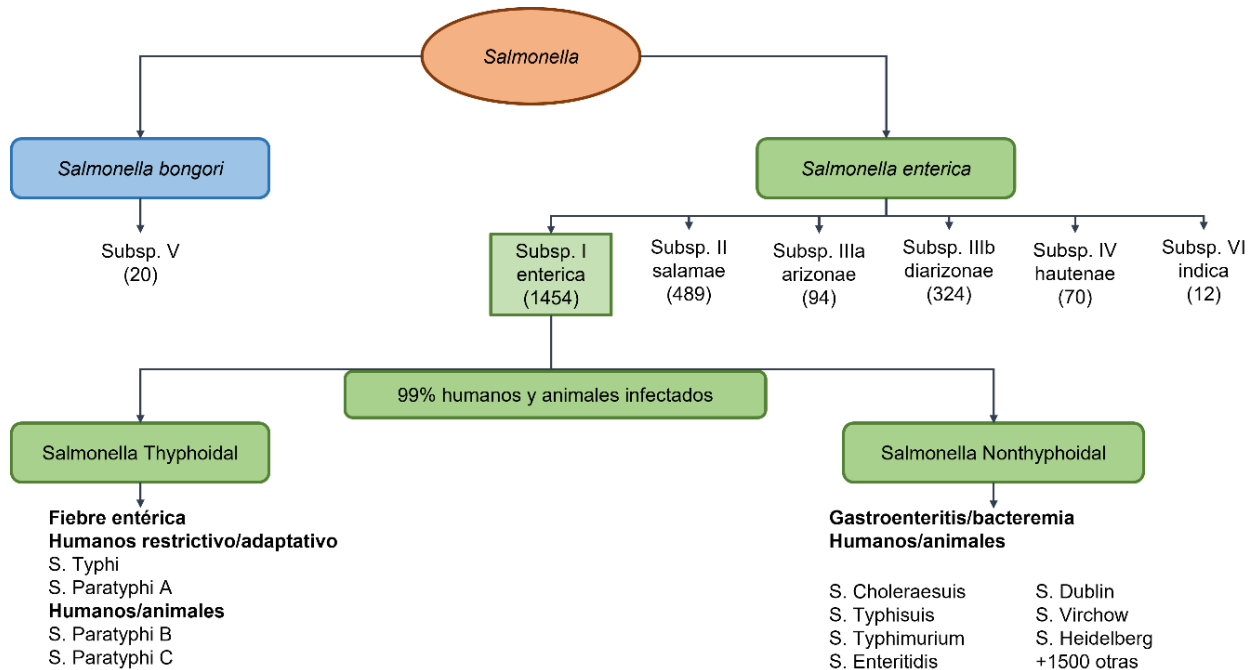


Figura 1. Del género de Salmonella. Tomado de: (Gyles et al., 2010)

2.2.3 Klebsiella pneumoniae

Es una bacteria Gram negativo, se presenta en forma de bacilo. Se caracteriza por ser anaerobia facultativa, inmóvil y comúnmente encapsulada (Toro & Correa, 2010).

Patógenos encontrados comúnmente en medicina veterinaria son *Klebsiella pneumoniae* y *K. oxytoca*, estas bacterias son comensales del tracto intestinal de

los animales. Sin embargo, fuera del tracto gastrointestinal pueden representar un alto riesgo para la salud de las mascotas. *Klebsiella* es una de las bacterias que predominan en los aislamientos de urocultivos de perros y gatos (González et al., 2017). De igual manera, se ha aislado en complejo respiratorio infeccioso canino, probablemente como una bacteria oportunista (Lapisa, 2022) por lo que ambientes contaminados con heces, hospitales contaminados, pacientes con sondeo uretral con más de 24 horas, pacientes inmunodeprimidos, son factores importantes de infección. Los factores de virulencia de *Klebsiella* son similares a las Enterobacteriaceae y generalmente desarrollan resistencia a las β -lactamasas siendo esto una complicación seria en el plan terapéutico (González et al., 2017; McVey et al., 2013).

2.3 Normas Oficiales Mexicanas para valores permisibles microbiológicos

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

Norma que especifica los criterios adecuados para la manipulación, transporte, almacenamiento en puntos de venta para evitar crecimiento bacteriano que supere los límites establecidos. Dicha norma hace referencia a los criterios microbiológicos en los productos cárnicos de acuerdo con la presentación del producto. Tabla 1

Productos	Tipos de Micoorganismos	Criterio microbiológico			
		n	c	m	M
Productos cárnicos cocidos listos para el consumo. Y crudos listos para el consumo	Mesófilos aerobios*	5	3	100 UFC/g	100 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	5	3	<3 NMP/g	<10 NMP/g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Ausente en 25g	-
	<i>Salmonella spp</i>	5	0	Ausente en 25g	-
Productos cárnicos precocidos y crudos no listos para el consumo	<i>Escherichia coli</i> **	5	3	500 UFC/g	500 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7***,1	5	0	Ausente en 25g	-

* Se determinan en el establecimiento de producción o elaboración. Solamente para productos cárnicos cocidos.
 ** Sólo para productos cárnicos precocidos.
 *** Sólo para productos elaborados con carne de bovino.
 1 Determinado por un método rápido disponible en el mercado
 n: número de muestras a ser analizadas
 c: máximo número admisible de unidades de muestras defectuosas en un plan de dos clases, o de unidades de muestras marginalmente aceptables en un plan de tres clases
 m: un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de tres clases
 M: un límite microbiológico que separa, en un plan de tres clases, la calidad marginalmente aceptable de la defectuosa.

Tabla 1 Criterios microbiológicos para productos cárnicos. Tomado de: (NOM-213-SSA1, 2019)

2.3.2 Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores.

Determinación de microorganismos patógenos

Norma que reglamenta los medios de cultivo necesarios para la aislación de microorganismos patógenos, características de crecimiento, así como la metodología de preparación de acuerdo con el alimento a analizar. En este trabajo nos centraremos en el punto A.6.2.18 Carnes, substitutos de carne, productos cárnicos, sustancias de origen animal, glándulas y otros alimentos (pescado, carne y hueso).

2.4 Medios de cultivo

2.4.1 Agar MacConckey

Considerado un medio selectivo, para el aislamiento de bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios que sean de fácil desarrollo. En este agar se pueden desarrollar especies de la familia Enterobacteriaceae. Este agar se encontrarán peptonas que a su vez aportarán los nutrientes necesarios para que las bacterias se puedan desarrollar, lactosa que servirá como el hidrato de carbono fermentable y mezcla de sales biliares y cristal violeta que darán la función de selectividad para inhibir el crecimiento de bacterias gram positivas (Laboratorio Britania, 2011).

2.4.2 Caldo EC

Medio utilizado para coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*. Contiene lactosa que es hidrato de carbono fermentable que favorece el desarrollo de bacterias coliformes (Laboratorio Britania, 2021).

2.4.3 Caldo EC Mug

Medio selectivo que inhibe bacterias gram positivas, bacilos y enterococos, esto debido a las sales biliares que actuarán como agente selectivo, permitiendo el desarrollo de *E. coli*. La triptosa va a proporcionar nutrientes que favorecen el crecimiento y la lactosa es el carbohidrato fermentable que será la fuente de carbono y energía. *E. coli* es capaz de producir la enzima β -D-glucuronidasa que hidroliza el MUG para producir fluorescencia que se puede detectar bajo la luz UV de onda larga (366 nm) (Condalab, 2019).

2.4.4 Caldo Rapaport Vassiliadis

Caldo utilizado para el enriquecimiento de especies de *Salmonella* spp. (excepto *Salmonella typhi* y *paratyphi A*) a partir de alimentos, medicamentos y otros materiales de importancia sanitaria.

2.4.5 Caldo Muller-Kauffmann Tetracionato Novobiacina (MKKTN)

Caldo utilizado para el enriquecimiento selectivo y detección de *Salmonella* spp. en todos los tipos de alimentos.

2.4.6 Agar Entérico de Hektoen

Es un medio selectivo para el aislamiento de *Salmonella* spp. y *Shigela* spp. a partir de muestras de heces y alimentos (Britania, 2021).

2.4.7 Agar Verde Brillante

Agar utilizado para el enriquecimiento selectivo y aislamiento de *Salmonella* spp., excepto *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* a partir de muestras de alimentos.

2.5 Técnica Espectrometría de masas MALDI-TOF

MALDI-MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry) TOF (Time Of Flight). Sistema de espectrometría de masas que utiliza la ionización y desorción por láser asistida por una matriz de tiempo de vuelo. Efectivo para las identificaciones de microorganismos cultivados a partir de muestras. Permite detectar moléculas en un amplio rango de masas moleculares (BIOMÉRIEUX & Martínez, 2021). Ilustración 2

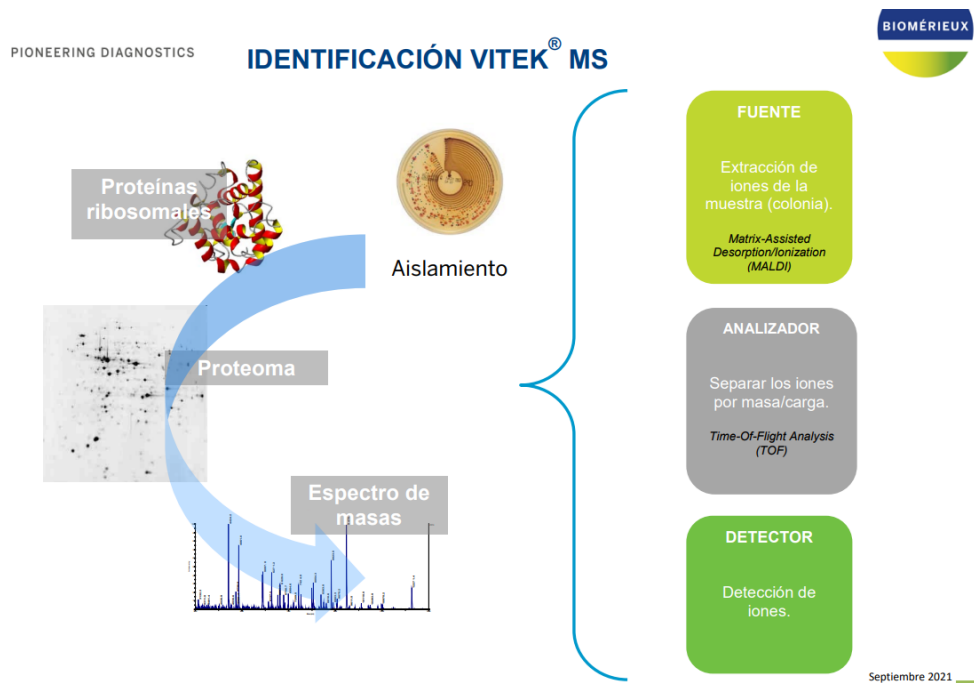


Figura 2 Técnica de espectrometría MALDI-TOF. Tomado de (BIOMÉRIEUX & Martínez, 2021)

3.0 Planteamiento del problema

3.1 Pregunta de investigación

¿Qué especies bacterianas patógenas se encuentran presentes en las dietas BARF crudas comerciales para consumo de cánidos en la ciudad de Puebla, México en el periodo de marzo a julio del 2022?

3.2 Justificación

El perro es un animal carnívoro, cazador, vegetariano y oportunista (Billingham, 2016). Por lo cual las dietas BARF se han introducido al mercado con la finalidad de alimentar a los animales con una dieta similar a la de la vida salvaje, que sean palatables y compuestas con las necesidades nutricias de estas especies. En un estudio realizado en dietas BARF por (van Bree et al., 2018) reportan presencia de bacterias patógenas como: *Salmonella* spp. y *E. coli*, motivo por el cual es importante determinar si las dietas BARF en la ciudad de Puebla, Pue. pueden contener contaminación microbiológica que pudiera afectar la salud de las mascotas consumidoras. Si no se respetan los procesos de sanidad e inocuidad en la elaboración, este tipo de dietas pueden representar un riesgo de contaminación bacteriana que pudiera afectar la salud de las mascotas consumidoras e incluso para los tutores que manipulan las dietas y heces de sus mascotas y es importante determinar si son aptas para el consumo de los canidos.

Actualmente existen diferentes opiniones tanto de médicos veterinarios como de tutores sobre las dietas BARF, si son aptas para el consumo de canidos o no. Es por esto por lo que es de vital importancia realizar los estudios pertinentes para determinar si este tipo de dietas de venta en la ciudad de Puebla pueden contener cantidades superiores de bacterias de acuerdo con los criterios microbiológicos para productos cárnicos establecidos en la NOM-213-SSA1-2018 que pudieran afectar la salud de las mascotas consumidoras y tutores compradores de este tipo de dietas.

3.3 Objetivo

- Determinar en las dietas BARF crudas disponibles para consumo de cánidos en la ciudad de Puebla el cumplimiento de los límites microbiológicos para productos cárnicos establecidos en la NOM-213-SSA1-2018 mediante la realización de cultivos y la identificación de patógenos.

3.4 Objetivos específicos

- Determinar la carga bacteriana a partir de muestras de dietas BARF de venta en la ciudad de Puebla con la intención de conocer su inocuidad alimentaria por medio de la técnica del número más probable.
- Identificar bacterias patógenas como *Salmonella* spp. y *E. coli* que representen un riesgo para mascotas consumidoras de dietas BARF, utilizando técnica de Maldi TOF y pruebas bioquímicas con equipo automatizado.

3.5 Hipótesis

Hi: Las dietas BARF disponibles de venta en la ciudad de Puebla contienen bacterias como: *Salmonella* spp. y *E. coli* en cantidades mayores a los criterios microbiológicos estipulados en la NOM-213-SSA1-2018.

Ho: Las dietas BARF no representan un riesgo infeccioso para las mascotas consumidoras

4.0 Materiales y métodos

4.1 Tipo y diseño de investigación

El estudio por realizar es de tipo observacional, descriptivo, prospectivo, transversal.

4.2 Población y muestra

Se analizarán dietas BARF de diferentes marcas con diferentes puntos venta en la ciudad de Puebla, Puebla.

4.3 Criterios de Selección

El muestreo se realizará en clínicas veterinarias y expendios de alimento para mascotas dentro de la ciudad de Puebla, Puebla. Donde las dietas permanecieran almacenadas en congelación/refrigeración durante su venta, y las cuales no presenten alguna violación en su sello o empaque.

4.4 Criterios de Inclusión

- Dietas crudas que sean vendidas en expendios o veterinarias de la ciudad de Puebla, Pue.
- Dietas que en el punto de venta permanezcan en congelación o refrigeración.

4.5 Criterios de exclusión

- Dietas con alteración en el empaque, abierto, rasgado, etc.
- Dietas en presentación precocida o cocida.

4.6 Cuadro de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores en este estudio	Tipo de variable
Detección de UFC de <i>Salmonella</i>	NMP/g de <i>Salmonella</i> Spp. en dietas BARF	Capacidad de la bacteria para multiplicarse en condiciones controladas	Enriquecimiento bacteriano y cultivos específicos para su crecimiento	Confirmación automatizada	Dependiente Cuantitativa

Detección de UFC de <i>E. Coli</i>	NMP/g de <i>E. Coli</i> en dietas BARF	Capacidad de la bacteria para multiplicarse en condiciones controladas	Enriquecimiento bacteriano y cultivos específicos para su crecimiento	Confirmación Automatizada	Dependiente Cuantitativa
------------------------------------	--	--	---	---------------------------	--------------------------

Tabla 2 Cuadro de variables. Autoría propia

4.7 Delimitación geográfica y periodo de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Puebla, Puebla, México en el periodo de marzo a julio del 2022. La cual está ubicada en el centro del país. Según el INEGI la temperatura anual del Estado es de 17.5°C, con una temperatura máxima promedio de 28.5°C la cual se presenta en los meses de abril y mayo, y la temperatura promedio más baja es de 6.5°C durante el mes de enero, con coordenadas geográficas de latitud 19.03793 y longitud -98.20346.

4.8 Materiales

Se realizó el estudio con dietas BARF en presentación cruda de la ciudad de Puebla, Puebla, México. Las cuáles fueron recolectadas durante el periodo de marzo a julio del año 2022 en diferentes puntos de la ciudad y se trabajó con diferentes marcas de estas dietas para cánidos.

En total se analizaron 9 dietas de diferentes empresas a las cuales se les realizó un estudio microbiológico en el Laboratorio de Investigación Biotecnoambiental de UPAEP, ubicado en calle 11 poniente número #2316, entre calle 23 sur y 25 sur.

Para el desarrollo de este trabajo se necesitó equipo especializado de laboratorio que se muestra en la figura 3.

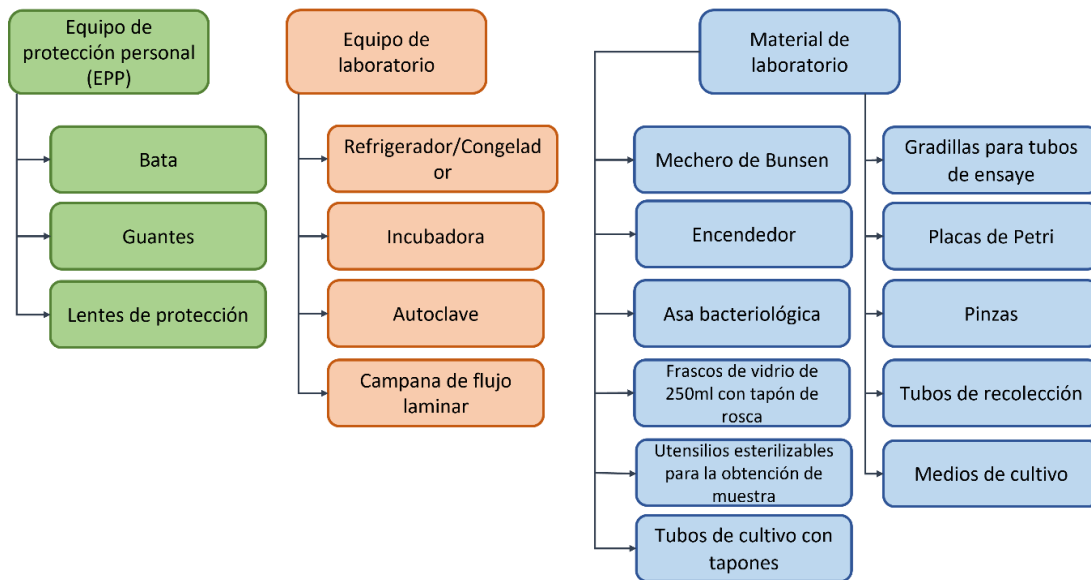


Figura 3 Equipo especializado y de protección personal que fueron empleados en la determinación para el desarrollo del presente trabajo. Autoría propia.

4.9 Método

La metodología del trabajo se basó en cuatro puntos: Elaboración de medios de cultivo, compra de muestras, sembrado de muestras, lectura de resultados e identificación automatizada. Figura 4

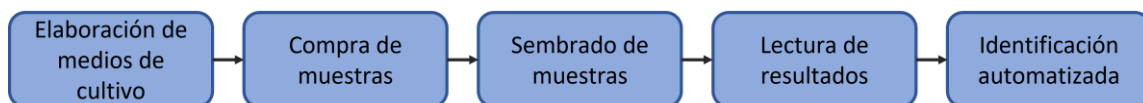


Figura 4 Metodología del trabajo

Para realizar el análisis microbiológico, se prepararon los reactivos necesarios para el desarrollo de la técnica de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014 Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

4.10 Técnicas para preparación de medios de cultivo

4.10.1 Agar MacConckey

Para su elaboración se pasaron 5g del polvo y se mezclaron con 100ml de agua destilada tibia, se dejó reposar 5 min y se calentó con agitación frecuente hasta disolver en su totalidad, posteriormente se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 min.

Para la detección de coliformes fecales y *E. coli*, se utilizaron Solución Reguladora de Fosfatos, Caldo de Lauril Sulfato de Sodio, Caldo EC y Caldo EC Medium with Mug.

4.10.2 Caldo Lauril Sulfato de Sodio

Para su elaboración se rehidrató 35.6g del medio en 1L de agua destilada. Se calentó hasta el punto de ebullición hasta disolver el medio por completo. Posteriormente se distribuyeron en tubos de ensayo con campana de Durham en porciones de 9ml para muestras de 1ml. Subsiguientemente se esterilizaron en autoclave por 15min a 121°C.

4.10.3 Caldo EC

Para su elaboración se rehidrataron 37g del medio en 1L de agua destilada. Se calentó ligeramente hasta disolver el medio por completo. Posteriormente se esterilizaron en autoclave por 15min a 121°C.

4.10.4 Caldo EC Mug

Para su elaboración se rehidrataron 37.5g del medio en un litro de agua destilada. Se mezclaron hasta disolver por completo. Posteriormente se distribuyeron en tubos de ensayo con campanas de Durham.

4.10.5 Caldo Rapapport Vassiliadis

Para su elaboración se requieren 42.5 gramos del polvo en 1 litro de agua purificada. Se dejó reposar 5 minutos y se mezcló hasta uniformar. Posteriormente se calentó con agitación frecuentemente hasta la disolución. Se distribuyeron en recipientes y se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a 115°C

4.10.6 Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato Novobiacina (MKKTN)

Para su elaboración se rehidrataron los ingredientes en agua, posteriormente se puso a hervir durante 5 minutos. Se ajustó el pH a 8.2 ± 0.2 a 25°C. El caldo se puede almacenar por 4 semanas a temperaturas de $3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

4.10.7 Agar Entérico de Hektoen

Para su elaboración se requirieron 76 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Se dejó reposar de 10 a 15 minutos. Posteriormente se calentó con agitación frecuente y se puso a hervir hasta disolver. Una vez enfriado se distribuyó en placas Petri estériles.

4.10.8 Agar Verde Brillante

Para su elaboración se requirieron 58 g del polvo en 1 litro de agua purificada, se dejó reposar 5 minutos y se calentó con agitación frecuente, se puso a hervir hasta disolver. Posteriormente se distribuyeron en recipientes apropiados y se esterilizaron en autoclave a 118-121°C durante 15 minutos. Una vez enfriado se distribuyó en placas Petri estériles.

4.11 Preparación de muestras

4.11.1 Preparación de muestras para detección de *E. coli*

El muestreo se realizó en tres etapas. (Figura 5)

Primera etapa: Conservación

La primera etapa fue para mantener la fisiología de las células con solución reguladora de fosfato. Para esto se pesaron 250g de la dieta de los cuales seleccionamos 25g de manera aleatoria para mezclar con 225ml de solución reguladora de fosfatos.

Segunda etapa: Presuntiva

Se prepararon tres diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000. Cada dilución contó con 3 tubos de ensayo con 9ml de caldo Lauril Sulfato de Sodio y 1ml de la solución previamente preparada en la primera etapa. Posteriormente se hizo una incubación de 24-48 horas a 35°C. Observando continuamente los cambios que se pudieran presentar para pasar a la tercera etapa.

Tomamos como positivo o sospechoso una prueba que generó gas y fermentación, lo cual se vio reflejado en la elevación de la campana de Durham y el medio presentó una apariencia turbia.

Tercera etapa: Confirmatoria

En esta etapa tuvimos dos caldos, el caldo EC y EC Mug. Si en la segunda etapa teníamos resultados positivos o sospechosos se realizaba la parte confirmatoria, la cual consiste en la inoculación de estos caldos con 2 asadas y dejamos incubando por un lapso de 24 - 48 horas.

Se tomó como muestra positiva aquella que presentó presencia de gas y turbidez, así como fluorescencia positiva en el caldo EC Mug.

Posteriormente se hizo una inoculación de las muestras positivas anteriormente descritas en agar Mac Conkey y dejamos incubando en un lapso de

24-48 horas. Subsiguientemente realizamos identificación microbiana automatizada con el equipo VITEK®.

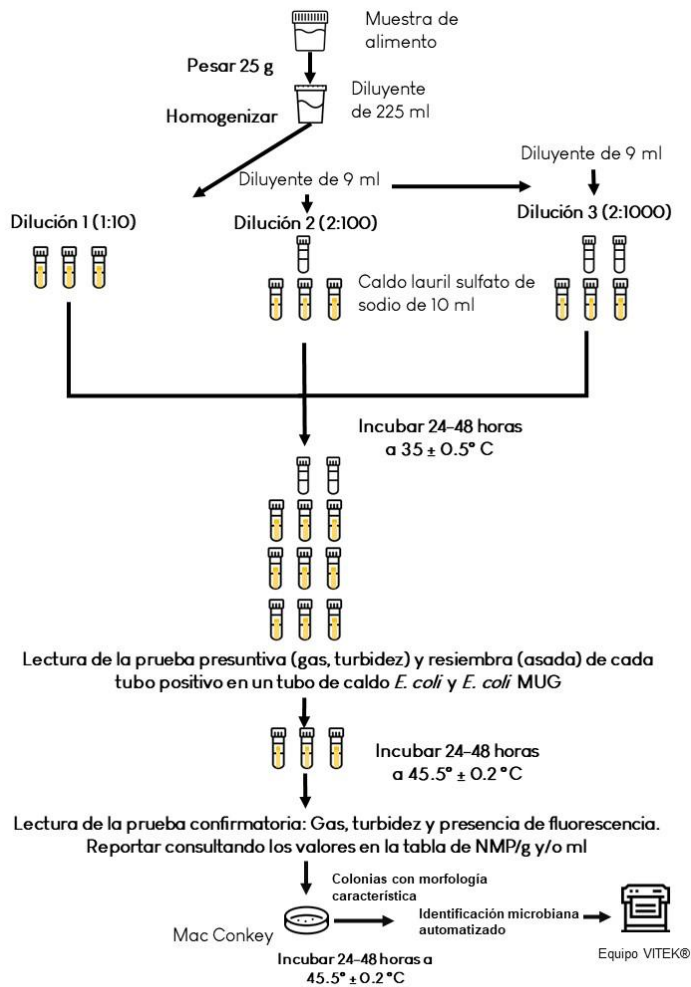


Figura 5 Proceso metodológico para la detección de Coliformes Fecales y *Escherichia coli*. Autoría propia.

4.11.2 Preparación de muestras para detección de *Salmonella* Spp

Para el proceso de detección de *Salmonella* se hizo un desarrollo en 4 etapas. (Figura 6)

Primera etapa: Enriquecimiento

La primera etapa corresponde al enriquecimiento de la muestra con caldo peptonado amortiguado. Para esto se requirieron 225ml y 25g de muestra. Se disolvieron durante 30 seg para posteriormente incubar a 36°C por 18hrs \pm 2.

Segunda etapa: Medios selectivos

En esta etapa se cultivaron las muestras en medios selectivos para el crecimiento de *Salmonella*. En esta etapa se usó caldo Rapaport Vassiliadis (RV) y caldo de Muller-Kauffmann tetratonato novobiocina (MKTTn). Posteriormente incubamos el caldo RV a 41.5°C \pm 1 por 24 \pm 3 horas y el caldo MKTTn a 36°C \pm 1 por 24 \pm 3 horas.

Tercera etapa: Identificación

En la tercera etapa se realizó sembrado en agar Entérico de Hektoen (EH) y agar Verde Brillante y se incubó a 35-36°C. Aquí observaremos el crecimiento de colonias típicas de *Salmonella*.

Cuarta etapa: Confirmatoria

En esta etapa se hizo la confirmación del crecimiento de las colonias típicas anteriormente desarrolladas. Por lo cual se realizó una identificación microbiana completamente automatizada con el equipo VITEK®.

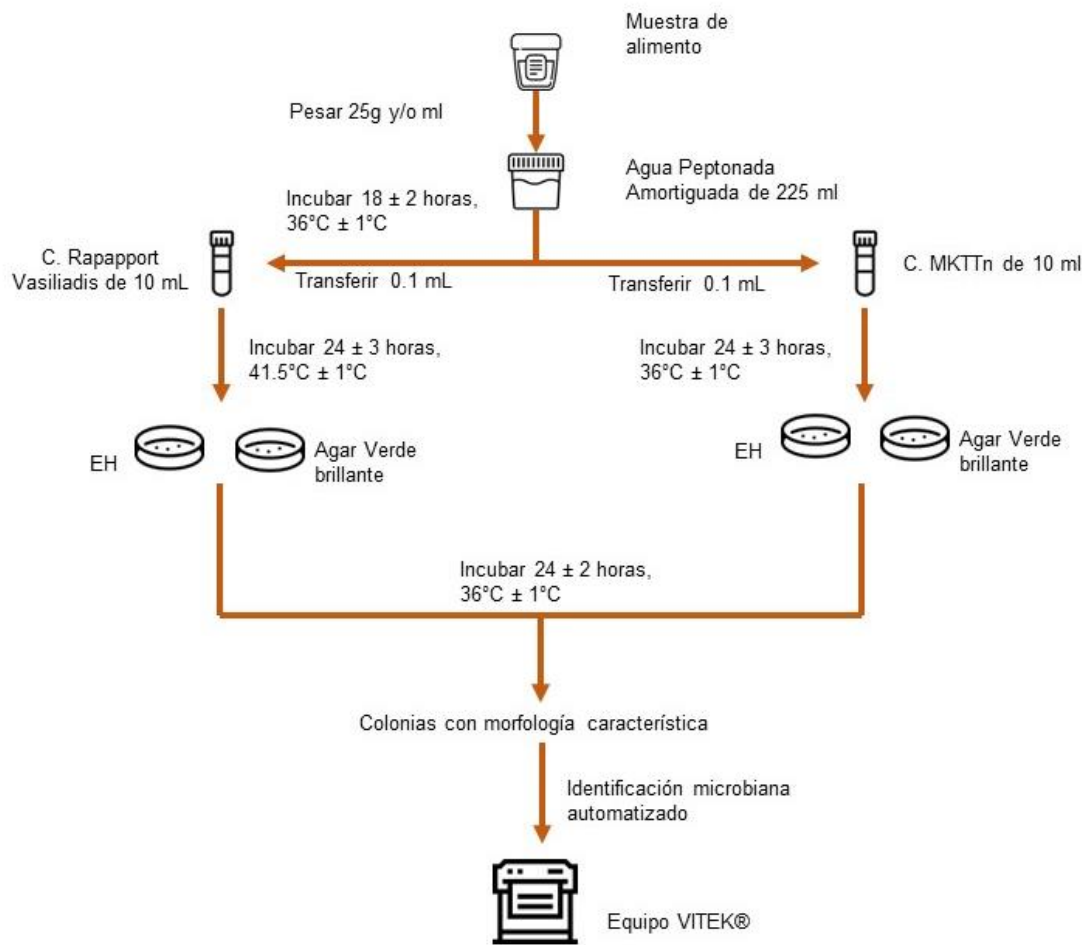


Figura 6 Proceso metodológico para la detección de Salmonella. Autoría propia

4.11.3 Preparación de la muestra para identificación bacteriana por MALDI-TOF

Se requiere una placa de metal la cual está dividida en tres grupos de adquisición, cada grupo está formado por cuatro filas y columnas. Las cuales están con orientación alfanumérica y cuentan con un pozo de calibración. (Figura 7)

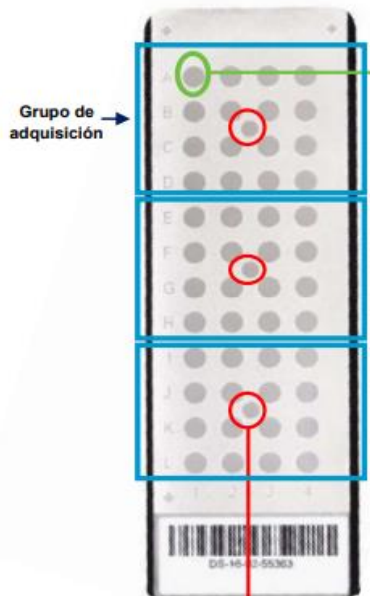


Figura 7 Placa para técnica MALDI-TOF. Recuperada de (BIOMÉRIEUX & Martínez, 2021)

De cada colonia a analizar se tomó una pequeña muestra con el VITECK PICKME y se dispersó en el pocillo disponible. Posteriormente se utilizó una cepa de calibración de la cual se hizo el mismo procedimiento anteriormente descrito únicamente que esta muestra se coloca en el pozo de calibración.

A continuación, se colocó 1µl de CHCA (Reactivo que absorbe la energía del láser y la transfiere a los microorganismos para la ionización) en cada pocillo preparado y se dejó secar antes de meterlo al equipo.

Subsiguientemente se ingresó al software Prep Station para escanear el portaobjetos, elegir el protocolo, escribir el número de muestra y validar cada muestra.

Para finalizar se ingresa al software Acquisition para escanear el portaobjetos, se coloca sobre la platina, se introduce y se cierra. Antes de empezar el proceso se tiene que verificar que la presión de la fuente llegue a -6mbar, una vez verificado esto se arranca el proceso.

4.12 Tabla de valores de Número Más Probable (NMP/g)

Esta tabla ayuda a tener datos cuantitativos a partir de datos de incidencia negativa o positiva. Sirve para determinar la carga de contaminación bacteriana en las dietas a muestrear. (Tabla 3)

NMP por g de muestra e intervalos de confianza del 95%, utilizando tres tubos con 0.1g, 0.01g y 0.001g de muestra											
Tubos positivos			NMP/g	Límite de confianza		Tubos positivos			NMP/g	Límite de confianza	
0.1	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.1	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	< 3.0	-	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	-

Tabla 3 Tabla de Valores de Número Más Probable (NMP/g)

5.0 Resultados

Marca	Muestra	E. coli			Resultados		E. coli MUG			Resultados	
		1:10	1:100	1:1000	NMP/g		1:10	1:100	1:1000	NMP/g	
Pro-Natural BARF	Dieta 1	3	2	0	93	NMP/g	3	2	1	150	NMP/g
Natural's Chef	Dieta 2	3	3	3	>1100	NMP/g	3	2	1	150	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 3	2	2	1	28	NMP/g	3	0	2	64	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 4	2	3	0	29	NMP/g	3	0	0	23	NMP/g
Natural's Chef	Dieta 5	2	0	1	14	NMP/g	1	1	0	7.4	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 6	2	1	1	20	NMP/g	0	0	0	<3	NMP/g
Natural's Chef	Dieta 1	3	2	0	93	NMP/g	2	3	0	29	NMP/g
Natural's Chef	Dieta 2	3	2	0	93	NMP/g	2	2	0	21	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 3	3	3	2	1100	NMP/g	2	3	2	?	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 4	3	2	0	93	NMP/g	3	3	0	240	NMP/g
Natural's Chef	Dieta 5	1	2	1	15	NMP/g	3	2	0	93	NMP/g
Nutricion Canina	Dieta 6	2	1	2	27	NMP/g	2	2	0	21	NMP/g
Kuintli	Dieta 7	2	2	0	21	NMP/g	1	2	1	15	NMP/g
Kuintli	Dieta 8	1	0	2	11	NMP/g	1	2	1	15	NMP/g
Team Barf	Dieta 9	1	2	1	15	NMP/g	-	-	-	-	NMP/g

Tabla 4 Se muestran los resultados de los valores obtenidos de Número Más Probable (NMP/g) del análisis de muestras de alimento BARF crudo para cánidos.

De acuerdo con las especificaciones sanitarias de la NOM-213-SSA1-2018, las cuales establecen que los productos cárnicos crudos listos para el consumo tienen un límite microbiológico, el cual separa los productos de buena calidad con la calidad defectuosa. Establece que el microorganismo *Escherichia coli* debe encontrarse en cantidades <3 NMP/g y *Salmonella* spp debe permanecer ausente en 25 gramos de muestra.

En este estudio se realizaron 15 muestreos en nueve dietas diferentes, dentro de las cuales se encontraron valores de *Escherichia coli* fuera de los estándares de buena calidad (Tabla 4), dando como resultado dietas no aptas para su consumo.

En cuanto a los hallazgos de *Salmonella* spp las dietas 2, 6 y 7 fueron positivas a este microorganismo en los agares Entérico de Hektoen y Verde Brillante.

Las bacterias aisladas del proceso establecido con base en los criterios de las normas NOM-210-SSA1-2014 y NOM-2013-SSA1-2018 fueron identificadas con equipo automatizado VITEK® MS conociendo género y especie; esta tecnología permite la identificación de bacterias que no son sujetas de evidenciarse en las normas citadas, sin embargo, cobran importancia clínica dependiendo la condición de la mascota, con un porcentaje de confiabilidad que se enlistan en la Tabla 5.

Resultados VITEK® MS			
Dieta	Microorganismo	Nivel de confianza	
Muestra 1	Escherichia coli	99.9	Alto
	Enterobacter hormaechei	96.5	Alto
Muestra 2	Salmonella enterica ssp enterica	99.9	Alto
	Escherichia coli	99.9	Alto
Muestra 3	Escherichia coli	99.9	Alto
	Klebsiella Pneumoniae	99.9	Alto
Muestra 4	Escherichia coli	99.2	Alto
	Klebsiella Pneumoniae	99.9	Alto
	Proteus mirabilis	99.2	Alto
Muestra 5	Klebsiella Oxytoca	99.9	Alto
	Escherichia coli	99.9	Alto
	Enterobacter cloacae complex	50	Medio
Muestra 6	Escherichia coli	99.9	Alto
	Salmonella enterica ssp enterica	87.3/99.8	Alto
	Klebsiella pneumoniae	99.9	Alto
Muestra 7	Klebsiella pneumoniae	99.9	Alto
	Proteus mirabilis	99.9	Alto
	Salmonella enterica	99.9	Alto
	Escherichia coli	99.9	Alto
Muestra 8	Klebsiella pneumoniae	99.9	Alto
	Escherichia coli	99.9	Alto
Muestra 9	Escherichia coli	99.9	Alto
	Pseudomonas aeruginosa	99.9	Alto

Tabla 5 Identificación de microbiológicos en equipo automatizado VITEK® MS

6.0 Discusión

En la actualidad las dietas BARF han adquirido gran popularidad en el mercado, pero falta mucha investigación, legislación y trazabilidad para poder hacer de estas dietas algo óptimo para el consumo de las mascotas.

En el presente trabajo nos basamos en normas para la identificación y carga bacteriana de acuerdo con el NMP/g. Sin embargo, tratándose de un tema de gran importancia de sanidad e inocuidad llegamos más allá de la norma, apoyándonos de la tecnología VITEK® MS se lograron identificar bacterias de importancia clínica como *Escherichia coli*, *Enterobacter hormaechei*, *Salmonella enterica ssp enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae complex* y *Pseudomonas aeruginosa* dichas bacterias identificadas con técnica MALDI-TOF. Estos hallazgos nos enseñan la importancia de la sanidad e inocuidad durante la elaboración de dichas dietas. Por lo cual es importante que existan actualizaciones periódicas de las normas, si bien la técnica MALDI-TOF no está considerada en la norma, esta tecnología aporta certeza en la identificación de microorganismos.

De acuerdo con la NOM-213-SSA1-2018 bacterias como *E. coli* presentan un rango de límite microbiológico para determinar buena calidad de calidad defectuosa con base en el NMP/g debido a que es una bacteria comensal del tracto gastrointestinal junto con *Klebsiella*. Sin embargo, *Salmonella* es considerada un patógeno de importancia clínica debido a la severa problemática que pudiera representar en mamíferos, por lo que dicha norma establece que esta bacteria debe permanecer ausente de los productos cárnicos para consumo humano. En el presente trabajo tres de nueve dietas (Dieta 2, 6 y 7) fueron positivas a *Salmonella enterica ssp enterica* lo cual corresponde al 27% de las dietas. Aunado a esto es importante mencionar que los hallazgos de *E. coli* sobrepasan los estándares de buena calidad en todas las dietas analizadas, es decir, el 100% de las dietas analizadas representan un gran riesgo para la salud de las mascotas consumidoras y en algunos casos de los tutores que lleguen a manipular dichas dietas o heces de las mascotas.

En este trabajo nos basamos en normas para productos de consumo humano, ya que no existe legislación en el ámbito veterinario, pero realmente no existe una variación relevante en el microbiota intestinal de humanos y cánidos, cuando tenemos resultados con bacterias de importancia clínica y abundante carga bacteriana como en el presente trabajo es preocupante para la salud e incluso vida de las mascotas que consumen dichas dietas. Hoy en día el mal uso de antibióticos ha generado una mayor resistencia bacteriana a estos (Davies et al., 2019), por lo cual, un paciente inmunodeprimido que consuma dichas dietas puede llegar a infectarse de alguna sepa altamente resistente y ese sería un gran inconveniente.

La dieta BARF al ser un producto crudo comprende un gran riesgo de contaminación, por lo que es necesario que se trabaje con mayor profundidad en la elaboración, almacenamiento, traslado y manipulación de estas dietas, debido a que hoy en día no existe una norma específica para la elaboración de dichas dietas, por lo cual, no hay un seguimiento de trazabilidad apropiado y especificaciones que garanticen la adecuada elaboración.

Los empaques analizados en el presente trabajo establecen la adición de lactobacilos, los cuales podrían cumplir un papel importante para el control de patógenos, pero no fueron encontrados durante los diferentes muestreos. Como se mencionó anteriormente esto genera muchas dudas respecto a la elaboración adecuada y/o respeto de la cadena fría.

7.0 Conclusiones

Este trabajo se realizó con la finalidad de tener una valoración microbiológica de las dietas BARF del Estado de Puebla, Puebla. Debido a que en los últimos años se ha creado una gran popularidad y controversia entre los propietarios y médicos veterinarios, ya que algunos llegan a recomendar la alimentación con estas dietas y otros la desaprueban.

En este trabajo se esperaba obtener resultados positivos a crecimiento de bacterias como coliformes fecales, *E. coli* y/o *Salmonella* spp, las cuales pueden representar un alto riesgo para las mascotas consumidoras de este tipo de dietas, así como para los propietarios que llegan a manipularlas, afectando directamente a su salud.

En los últimos años se han realizado diversos estudios microbiológicos de las dietas BARF en diferentes países, en los cuales, la mayoría reporta que la carga bacteriana sobrepasa los estándares de calidad.

La finalidad de realizar este trabajo no es conceptualizar mal a las dietas BARF, estas dietas son una variedad de alimentaciones de cánidos que puede tener ciertos beneficios. Sin embargo, falta mucho camino que recorrer y muchos estudios por completar. Sería importante que se establezcan leyes y normas que al igual que en humanos estipulen los seguimientos y estudios a elaborar dentro de una empresa de este tipo de dietas, para tener un control de calidad interno. Empresas que valoren la importancia de una adecuada elaboración que siga pasos establecidos para generar productos de alta calidad para consumo. La finalidad no es juzgar mal a las dietas BARF, la verdadera razón es generar conciencia en productores, tutores y médicos para poder generar productos libres de patógenos que no comprometa la salud de los cánidos y sus tutores, respetando ONE Health.

Al finalizar este trabajo nos podemos dar cuenta que falta mucho camino por delante con la valoración y estudio de este tipo de dietas. Es importante la

capacitación, supervisión y valoración de buenas prácticas durante la manipulación y elaboración de estas.

Las dietas muestreadas en el presente trabajo obtuvieron cargas bacterianas por encima de los estándares de calidad haciendo que estas dietas no sean aptas para el consumo de las mascotas.

8.0 Referencias

- Billinghamurst, I. (2016). *La dieta BARF Alimentación cruda para perros y gatos usando los principios evolutivos*. Helen Fairgrieve.
- BIOMÉRIEUX, & Martínez, L. (2021). VITEK® MS Guía rápida de usuario. In *VITEK® MS Guía rápida de usuario*.
- Boivin, C. (2020). Del lobo al perro: Historia de su origen y evolución de las razas. In *Facultad de Veterinaria y Ciencias Experimentales de la Universidad Católica de Valencia*. <https://riucv.ucv.es/handle/20.500.12466/1228>
- Botero, L. F., & Arias, J. J. (2018). Evaluación bromatológica y microbiológica de tres dietas BARF en caninos. In *Universidad Tecnológica de Pereira*. <http://hdl.handle.net/11059/9510>
- Britania. (2021). *Rappaport Vassiliadis Caldo* (pp. 1–2).
- Castañeda, J., Becerra, L., Molina, V., & Arboleda, E. (2019). Análisis microbiológico de dietas comerciales para caninos, a base de carne cruda. *Universidad de Antioquia*.
- CDC. (2022a). *La Salmonella y los alimentos*. CDC. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-and-food-sp.html#:~:text=La Salmonella es una bacteria,una infección y enfermarse gravemente>
- CDC, C. para el control y la prevención de enfermedades. (2022b). *La E. coli y la seguridad de los alimentos*. CDC. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>
- Condalab. (2019). *Caldo EC con MUG*. https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=8635
- Davies, R. H., Lawes, J. R., & Wales, A. D. (2019). Raw diets for dogs and cats: a review, with particular reference to microbiological hazards. *Journal of Small*

Animal Practice, 60(6), 329–339. <https://doi.org/10.1111/jsap.13000>

Freeman, L. M., Chandler, M. L., Hamper, B. A., & Weeth, L. P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(11), 1549–1558. <https://doi.org/10.2460/javma.243.11.1549>

Gaviria, J. (2016). *Alimentación general y especializada para mascotas en una empresa productora de alimentos balanceados para animales*.

González, S. I. S., Uribe, M. C. A., & Villegas, L. E. (2017). Prevalencia de bacterias que producen infecciones en las vías urinarias en caninos y felinos y su sensibilidad a los antibióticos durante 2014 y 2015. In *Grupo de investigación INCA-CES Línea Medicina y citugía*.

Gyles, C. L., Prescott, J. F., Gonger, G., & Thoen, C. O. (2010). PATHOGENESIS OF BACTERIAL INFECTIONS IN ANIMALS. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 41, Issue 5). <https://doi.org/10.1093/FEMSRE/FUX023>

Laboratorio Britania. (2011). *Mac Conkey Agar*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707267ecda2.pdf

Laboratorio Britania. (2021). *E. C. Medio*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6092dcb116850.pdf

Lapisa, D. T. (2022). Principales enfermedades respiratorias que afectan a los perros: Una revisión actual para el uso de la vacunación como principal método de prevención. *Vanguardia Veterinaria*.

López, M. Á. (2018). *Breve historia del alimento para mascotas*. LinkedIn. <https://es.linkedin.com/pulse/breve-historia-del-alimento-para-mascotas-miguel-angel-lopez-nuñez>

McVey, D. S., Kennedy, M., & Chengappa, M. M. (2013). Veterinary Microbiology. In *Veterinary Microbiology*. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00307-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00307-3)

- Ministerio de la Protección Social, UERIA, U. de E. de R. para la I. de los A., & INS, I. N. de S. (2011). *Perfil de riesgo Salmonella spp. (no tifoideas) en pollo y en piezas*.
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/perfil-salmonella-spp.pdf>
- Molina, N. B., Oderiz, S., Vescina, C., Córdoba, A., Basualdo, J. Á., & Sparo, M. D. (2022). Primer reporte de *Escherichia coli* diarreogénica en población pediátrica ambulatoria con diarrea atendida en la ciudad de La Plata, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, *54*(1), 15–21.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.02.006>
- NOM-213-SSA1. (2019). *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*. 1–15.
- Schmidt, M., Unterer, S., Suchodolski, J. S., Honneffer, J. B., Guard, B. C., Lidbury, J. A., Steiner, J. M., Fritz, J., & Kölle, P. (2018). The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS ONE*, *13*(8), 1–20.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201279>
- Toro, L. M. E., & Correa, J. C. C. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: Epidemiología y resistencia. *Iatreia*, *23*(3), 240–249.
- van Bree, F. P. J., Bokken, G. C. A. M., Mineur, R., Franssen, F., Opsteegh, M., van der Giessen, J. W. B., Lipman, L. J. A., & Overgaauw, P. A. M. (2018). Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *The Veterinary Record*, *182*(2), 50. <https://doi.org/10.1136/vr.104535>
- World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), C. (2020). Raw Meat Based Diets For Pets What. *World Small Animal Veterinary Association (WSAVA)*, *243*(11). <http://www.wsava.org/V5.htm>
- Wortinger, A., & Burns, K. (2015). *Nutrition And Disease Management*.

