



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TITULO:

**“EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA
DE CUATRO MARCAS COMERCIALES DE ALIMENTO BARF
PARA CANINOS”**

Autor:

AQUINO OSORIO WALTER ABRAHAM

TUTOR:

DR. PABLO RICARDO TORRES LASSO, MSc.

GUAYAQUIL, MAYO 2020



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TITULO:

**“EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA
DE CUATRO MARCAS COMERCIALES DE ALIMENTO BARF
PARA CANINOS”**

Autor:

AQUINO OSORIO WALTER ABRAHAM

TUTOR:

DR. PABLO RICARDO TORRES LASSO, MSc.

GUAYAQUIL, MAYO 2020



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Presidencia
de la República
del Ecuador



Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología
e Innovación



SENESCYT

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGIA

FICHA DE REGISTRO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO: "EVAUACION BROMATOLOGICA Y MICROBIOLOGICA DE CUATRO MARCAS COMERCIALES DE ALIMENTO BARF PARA CANINOS"

AUTOR(ES) AQUINO OSORIO WALTER ABRAHAM

(apellidos/nombres):

REVISOR(ES)/TUTOR(ES) DR. PABLO RICARDO TORRES LASSO Msc.

(apellidos/nombres)

Dra. GEORGIA MENDOZA CASTAÑEDA Msc.

INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

UNIDAD/FACULTAD: FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MAESTRIA/ESPECIALIDAD: MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

GRADO OBTENIDO: TERCER NIVEL – MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

FECHA DE PUBLICACIÓN: Junio 2020

No. DE PÁGINAS: 123

AREAS TEMÁTICAS: SALUD Y SANIDAD ANIMAL

PALABRAS CLAVES/KEYWORDS: BARF, DIETA NATURAL, UFC-UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS, CRUDO, ALIMENTACION

RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):

El presente estudio se realiza con el fin de evaluar la confiabilidad de los alimentos BARF tomando en cuenta la composición nutricional del alimento, y la seguridad alimentaria o calidad microbiológica de los mismos, se envió al laboratorio para determinar los principales parámetros de la composición nutricional de 4 marcas de alimentos que son comercializados en la ciudad de Guayaquil los cuales iban a medir su composición físico-química en porcentaje de proteínas, grasas y carbohidratos que se encuentren; por otro lado se realizaron pruebas microbiológicas en las que están incluidos los cultivos de microorganismo tales como Aerobios mesófilos, E coli/coliformes, Staphylococcus, salmonella spp y, mohos y levaduras que estén presentes en los alimentos, y basados en la norma INEN 2346 que determina los requisitos microbiológicos para categorizar la calidad del mismo (Buena, aceptable y rechazo) para no ser considerador como un potencial riesgo para la salud de los consumidores, en este caso las mascotas de la población de la ciudad de Guayaquil. Dichos cultivos se evaluaron a lo largo de 3 semanas para determinar si existe una variación significativa en la cantidad de microorganismos que se encuentran dentro de las muestras. En los resultados semanales se pudo observar la presencia de todos estos microorganismos en cada una de las muestras, pero en ciertas marcas resulto tener mayor cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC).

ADJUNTO PDF SI: X NO

CONTACTO CON AUTOR/ES Teléfono: 0978629077 - 0978968386 E-mail: walteraltek@hotmail.com

CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN: Universidad de Guayaquil
 Nombre: Facultad de medicina veterinaria y zootecnia
 Teléfono: 04-211-9498
 E-mail: admin.mvz@ug.edu.ec



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE TITULACION

TRABAJO DE TITULACION
PREVIO A LA OBTENCION DE TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Los miembros del tribunal de sustentacion designados por la comision interna de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia, damos por aprobada la presente investifacion con la nota de _____ Equivalente a _____.

Dr. Pedro Pablo Cedeño Reyes.
Presidente

Dr. Georgia Elena Mendoza Castañeda
Tutor revisor

Dr. Roberto Darwin Coello Peralta
Docente del area



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE TITULACIÓN

Blgo. MARCELO ZAMBRANO
SUBDECANO

Guayaquil, 12 de marzo del 2020

FACULTAD MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. - Guayaquil

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación EVALUACION BROMATOLOGICA Y MICROBIOLOGICA DE CUATRO MARCAS COMERCIALES DE ALIMENTO BARF PARA CANINOS, Del estudiante WALTER ABRAHAM AQUINO OSORIO con C.I.: 0928866623 indicando que ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

El trabajo es el resultado de una investigación.

El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.

El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.

El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el estudiante está apto para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Dr. Pablo Torres Lasso

C.I. 170647999

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114. - De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos. - En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

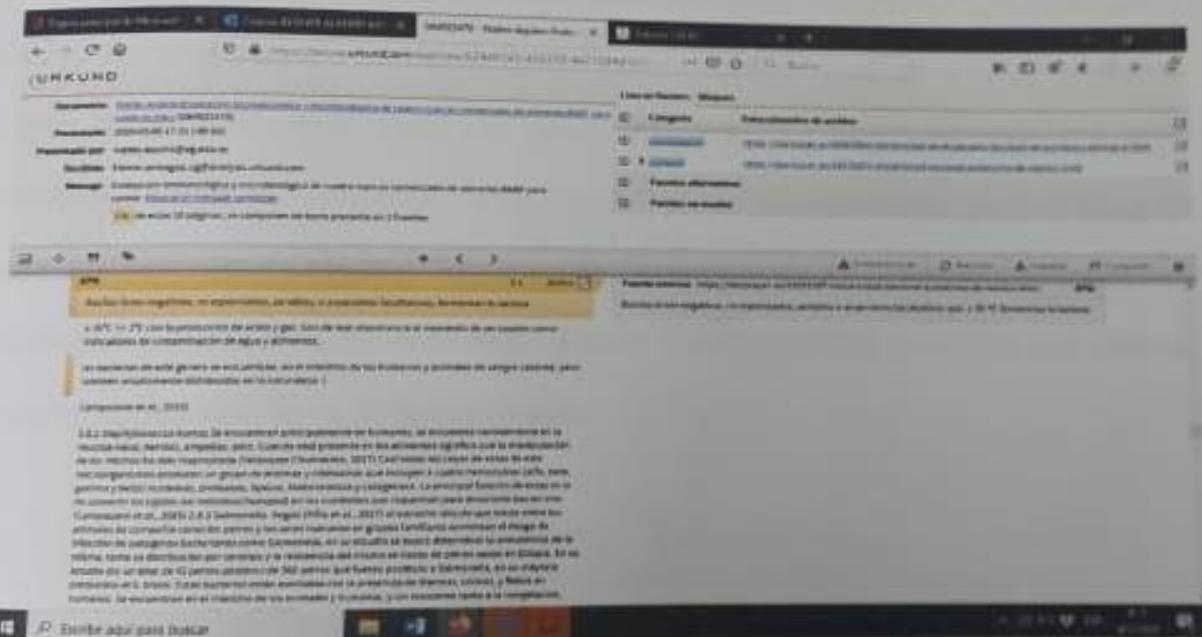


FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE TITULACIÓN

CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Dr. PABLO TORRES LASSO**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **WALTER ABRAHAM AQUINO OSORIO C.C.: 0928866623**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista.

Se informa que el trabajo de titulación: "**EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE CUATRO MARCAS COMERCIALES DE ALIMENTO BARF PARA CANINOS**", ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio **URKUND** quedando el 1% de coincidencia.



r. PABLO TORRES LASSO. MSc.
NOMBRE DEL DOCENTE TUTOR
I. 1706479993



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

UNIDAD DE TITULACION

CERTIFICACION DE TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada Dra. Georgia Elena Mendoza Castañeda Mg. Sc. Tutor del trabajo de titulación de "Evaluación Bromatológica y microbiológica de cuatro marcas comerciales de alimento BARF para caninos" certifico que el presente trabajo de titulación elaborado por Walter Abraham Aquino Osorio con C.I. N.o. 0928866623 con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **Médico Veterinario Zootecnista**, En la carrera de medicina Veterinaria y Zootecnia, ha sido **REVISADO Y APROVADO** en todas sus partes, encontrándose apto para la sustentación.

MVZ. Georgia Mendoza Castañeda, MSc.

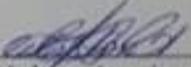
**Tutor revisor
C.I.: 0908989767**



**DECLARACION DE AUTORIA Y DE AUTORIZACION DE LICENCIA
GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO
COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADEMICOS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO COMERCIAL DE LA
OBRA CON FINES NO ACADEMICOS**

Yo, **Walter Abraham Aquino Osorio** con C.I. No. **0928866623** certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación cuyo título es "**Evaluación bromatológica y microbiológica de cuatro marcas comerciales de alimento BARF para caninos**". Son de mi absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al **artículo 114 del CODIGO ORGANICO DE LA ECONOMIA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACION**, autorizo la utilización de una licencia gratuita intransferible, para el uso no comercial de la presente obra a favor de la Universidad de Guayaquil.


Walter Aquino Osorio
C.I. No. 0928866623

"CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114 - De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

DEDICATORIA

El presente trabajo se dedicó a Dios y a mis padres que fueron quienes me apoyaron en todo el transcurso de la carrera, y me ayudaron a culminar esta etapa, siempre en los momentos más difíciles me motivaron, sobre todo mi padre que su consejo y enseñanza me ayudaba a decidir en momentos cruciales de mis estudios, a ambos por brindarme el apoyo económico para culminar este trabajo.

Y a mis hermano, que siempre fueron un apoyo en aspectos varios facilitándome el tiempo para poder dedicarme a mis estudios. A mis demás familiares Abuelos, tíos y primos.

AGRADECIMIENTO

Una vez más mi agradecimiento va Dirigido a Dios por haberme permitido día a día continuar a pesar de las adversidades que se presentaron a lo largo de la etapa, a mis padres por su apoyo incondicional ya antes mencionado.

A mi tutor académico el Dr. Pablo Torres por siempre estar presente en cada una de las etapas, y brindarme la guía necesaria para poder culminar este trabajo y por también haber sido un apoyo importante a lo largo de la carrera brindando su apoyo y consejo en diversos temas.

A la Dra. Georgía Mendoza que fue una guía y apoyo en todos los procesos correspondientes a pruebas microbiológicas, pero aún más importante agradezco por la amistad que me brindo desde el tercer semestre en la cuales ella ha sido una buena amiga y consejera, con la cual se ha compartido buenos momentos que se quedaran grabados en mi memoria.

Al Q.F. John Saquicela por siempre estar presto a la ayuda en los procesos que se llevaban a cabo dentro del laboratorio, al Dr. Pedro Cedeño por haberme siempre apoyado desde el primer semestre hasta la actualidad.

A mis amigos y familiares, en especial a Erick Gonzales, Kevin Álava, Job Rosales, Luis Ángel, Paula Zamora, Nelly Cárdenas y Cinthya Cedeño y una larga lista de nombres de personas que hicieron que hoy en día sea quien soy, y cumpla esta meta. A mi comunidad de la Parroquia San francisco de La libertad y también a mí comunidad de Santo Tomas de Aquino en Guayaquil, que siempre han estado pendiente y han sido primordiales en mi formación como persona.

Un agradecimiento muy especial a Jozalab S.A. a su propietario José Zamora y a Roció Zamora por siempre estar prestos a ayudar y realizar pruebas que no se pudieron realizar en el laboratorio de la facultad.

A la Clínica veterinaria de la Dra. María Edita Paz Mora, y a todo su personal Clara Camatón, Gladys corrales y a la Dra. María Chuchuca que me abrieron las puertas para aprender y aplicar conocimientos que fueron adquiridos a lo largo de mis estudios.

TABLA DE CONTENIDOS

1	Introducción	1
1.1	Planteamiento del problema.....	4
1.2	Justificación.....	5
1.3	Objetivos de la investigación	5
1.3.1	Objetivo general	5
1.3.2	Objetivos específicos	5
1.4	Variables del Estudio.....	6
1.4.1	Variables Intervinientes	6
2	Marco Teórico	7
2.1	Nutrición.....	7
2.1.1	Enfermedades relacionadas a la alimentación.....	8
2.2	Evolución e historia, similitud con los lobos.....	9
2.3	La digestibilidad.....	10
2.4	Anatomía y fisiología del Sistema Digestivo.....	10
2.4.1	La cavidad oral	11
2.4.2	Faringe.....	12
2.4.3	Esófago.....	12
2.4.4	Estomago.....	13
2.4.5	Intestino delgado.	13

2.4.6 Intestino grueso.....	14
2.5 Dieta BARF	14
2.5.1 Como se prepara.....	15
2.5.2 Composición de una ración BARF.	16
2.5.3 La cantidad apropiada del alimento.....	16
2.6 Inocuidad alimentaria.	16
2.6.1 INEN 2346 valores microbiológicos permisibles en la carne de animales de abasto.....	16
2.7 Bromatología	18
2.8 Microbiología.....	19
2.8.2 E. coli/coliformes.	21
2.8.3 Staphylococcus Aureus.....	21
2.8.4 Salmonella.....	22
2.9 Micología.....	23
2.9.1 Mohos.....	23
2.9.2 Levaduras.....	23
2.10 Parasitología.	23
2.11 Laboratorio	24
2.11.1 Petrifilm.....	24
2.11.2 Cultivos microbianos	24
2.11.3 Diagnostico.....	25
3 Materiales y métodos	26

3.1 Localización	26
3.2 Materiales y personal	27
3.2.1 Recurso humano.....	27
3.2.2 Materiales de laboratorio.....	27
3.2.3 Materiales de oficina	28
3.3 Tipo de investigación.....	28
3.4 Metodología de trabajo.....	28
3.4.1 Selección de la muestra	28
3.4.2 Toma de la muestra	29
3.4.3 Obtención de la muestra de alimento.....	30
3.4.4 Envío de muestra al laboratorio.....	30
3.4.5 Análisis bromatológico.	31
3.5 Descontaminación del área.....	32
3.6 Pruebas de laboratorio.....	32
3.6.1 Protocolo de esterilización de materiales.	33
3.6.2 Pruebas microbiológicas.	34
3.6.3 Incubación de las muestras.....	37
3.6.4 Recuento de UFC.....	38
3.7 Análisis estadístico.....	45
4 Resultados	46
4.1 Análisis Bromatológico.....	46

4.2 Microbiología.....	47
4.2.1 Análisis de calidad microbiológica de las marcas estudiadas.....	49
4.2.2 Microorganismos Aerobios por marca y semana.	50
4.2.3 Microorganismos Escherichia colí por marca y semana.	51
4.3 Microorganismos Coliformes totales por marca y semana.....	52
4.4 Microorganismos Staphylococcus Aureus por marca y semana.	52
4.5 Microorganismos Mohos por marca y semana.....	53
4.6 Microorganismos Levaduras por marca y semana.....	54
4.6.1 Análisis estadístico de resultados obtenidos	54
5 Discusión.....	77
6 Conclusiones.....	78
7 Recomendaciones.....	79
8 Referencias y Bibliografía.....	80

INDICE TABLAS

TABLA 1 NTE INEN 1346 REQUISITO MICROBIOLÓGICO PARA CARNE MOLIDA	17
TABLA 2 DILUCIÓN APROPIADA PARA EL USO DE VIRKON.....	32
TABLA 3 CUADRO DIFERENCIAL DE RESULTADOS OBTENIDOS EN ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS.....	46
TABLA 4 RESULTADOS OBTENIDOS POR SEMANA.	47
TABLA 5 LIMITES DE ACEPTACIÓN Y DE RECHAZO SEGÚN INEN 2346	47
TABLA 6 MARCAS QUE CUMPLEN CON TODOS LOS REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS.....	48
TABLA 7 PORCENTAJE DE MUESTRAS ACEPTADAS Y RECHAZADAS SEGÚN LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS.....	48

TABLA 8 DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA.....	49
TABLA 9 RESUMEN DE PORCENTAJES	49
TABLA 10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE AEROBIOS MESÓFILOS, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.....	55
TABLA 11 PRUEBA DE SHAPIRO-WILK PARA AEROBIOS MESÓFILOS	56
TABLA 12 PRUEBA DE ANOVA PARA AEROBIOS MESÓFILOS.	56
TABLA 13 CUADRO DE COMPARACIONES POST-HOC PARA AEROBIOS MESÓFILOS.	57
TABLA 14 RESUMEN DE HSD TUKEY PARA ESTABLECER LOS SUBCONJUNTOS HALLADOS DENTRO DE LOS ANÁLISIS DE AEROBIOS MESÓFILOS.....	57
TABLA 15 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE ESCHERICHIA COLÍ, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.	59
TABLA 16 PRUEBA DE SHAPIRO-WILK PARA ESCHERICHIA COLÍ.....	60
TABLA 17 PRUEBA ESTADÍSTICA DE LEVENE PARA ESCHERICHIA COLÍ	60
TABLA 18 PRUEBA DE ANOVA PARA ESCHERICHIA COLÍ.....	61
TABLA 19 CUADRO DE COMPARACIONES POST- HOC PARA ESCHERICHIA COLÍ	61
TABLA 20 RESUMEN DE HSD TUKEY PARA ESTABLECER LOS SUBCONJUNTOS HALLADOS DENTRO DE LOS ANÁLISIS DE ESCHERICHIA COLÍ.	62
TABLA 21 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE COLIFORMES TOTALES, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.....	63
TABLA 22 PRUEBA DE SHAPIRO-WILK PARA COLIFORMES TOTALES.	64
TABLA 23 PRUEBA ESTADÍSTICO DE LEVENE PARA COLIFORMES TOTALES	64
TABLA 24 PRUEBA DE ANOVA PARA COLIFORMES TOTALES	64
TABLA 25 CUADRO DE COMPARACIONES POST-HOC PARA COLIFORMES TOTALES.	65
TABLA 26 PRUEBA DE HSD TUKEY PARA DETERMINACIÓN DE SUBCONJUNTOS EN COLIFORMES TOTALES	65
TABLA 27 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.	67
TABLA 28 PRUEBA DE SHAPIRO - WILK PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	68
TABLA 29 PRUEBA ESTADÍSTICA DE LEVENE PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS.	68
TABLA 30 PRUEBA DE ANOVA PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS.	68

TABLA 31 PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS DE KRUSKAL-WALLIS PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS	69
TABLA 32 CUADRO DE COMPARACIONES POST-HOC PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS.	69
TABLA 33 CUADRO DE RESUMEN PARA SUBCONJUNTO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	70
TABLA 34 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE MOHOS, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.	71
TABLA 35 PRUEBAS DE NORMALIDAD KOLMOGOROV-SMIRNOY Y SHAPIRO WILK PARA MOHOS.....	71
TABLA 36 PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS DE KRUSKAL-WALLIS PARA MOHOS.....	72
TABLA 37 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LEVADURAS, MEDIA ENCONTRADA EN LAS 3 SEMANAS DE ESTUDIO.....	72
TABLA 38 PRUEBA ESTADÍSTICA DE LEVENE PARA LEVADURAS.	73
TABLA 39 PRUEBA DE ANOVA PARA LEVADURAS	74
TABLA 40 CUADRO COMPARATIVO POST-HOC PARA LEVADURAS.....	74
TABLA 41 PRUEBAS DE HSD TUKEY PARA LEVADURAS.	75
INDICE DE GRAFICOS	
GRÁFICO 1 UBICACIÓN DE PROYECTO.....	26
GRÁFICO 2 RESUMEN GRÁFICO DE PORCENTAJES.	50
GRÁFICO 3 PRESENCIA Y ALCANCE DE AEROBIOS MESÓFILOS.....	50
GRÁFICO 4 PRESENCIA Y ALCANCE DE ESCHERICHIA COLÍ.	51
GRÁFICO 5 PRESENCIA Y ALCANCE DE COLIFORMES TOTALES.....	52
GRÁFICO 6 PRESENCIA Y ALCANCE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	52
GRÁFICO 7 DISTRIBUCIÓN Y ALCANCE DE MOHOS.....	53
GRÁFICO 8 DISTRIBUCIÓN Y ALCANCE DE LEVADURAS.	54
GRÁFICO 9 DISTRIBUCIÓN DE DATOS DE AEROBIOS MESÓFILOS.....	58
GRÁFICO 10 DISTRIBUCIÓN DE DATOS PARA ESCHERICHIA COLÍ.....	62
GRÁFICO 11 DISTRIBUCIÓN DE DATOS DE COLIFORMES TOTALES.....	66
GRÁFICO 12 DISTRIBUCIÓN DE DATOS PARA STAPHYLOCOCCUS AUREUS.	70
GRÁFICO 13 DISTRIBUCIÓN DE DATOS PARA MOHOS.....	72
GRÁFICO 14 DISTRIBUCIÓN DE DATOS PARA LEVADURAS.	75

Resumen

El presente estudio se realiza con el fin de evaluar la confiabilidad de los alimentos BARF tomando en cuenta la composición nutricional del alimento, y la seguridad alimentaria o calidad microbiológica de los mismos, se envió al laboratorio para determinar los principales parámetros de la composición nutricional de 4 marcas de alimentos que son comercializados en la ciudad de Guayaquil los cuales iban a medir su composición físico-química en porcentaje de proteínas, grasas y carbohidratos que se encuentren; por otro lado se realizaron pruebas microbiológicas en las que están incluidos los cultivos de microorganismo tales como Aerobios mesófilos, E colí/coliformes, Staphylococcus, *salmonella* spp y, mohos y levaduras que estén presentes en los alimentos, y basados en la norma INEN 2346 que determina los requisitos microbiológicos para categorizar la calidad del mismo (Buena, aceptable y rechazo) para no ser considerado como un potencial riesgo para la salud de los consumidores, en este caso las mascotas de la población de la ciudad de Guayaquil. Dichos cultivos se evaluaron a lo largo de 3 semanas para determinar si existe una variación significativa en la cantidad de microorganismos que se encuentran dentro de las muestras. En los resultados semanales se pudo observar la presencia de todos estos microorganismos en cada una de las muestras, pero en ciertas marcas resulto tener mayor cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC).

Abstract

The present study is carried out in order to evaluate the reliability of BARF foods taking into account the nutritional composition of the food, and the food safety or microbiological quality thereof, it was sent to the laboratory to determine the main parameters of the nutritional composition of 4 food brands that are commercialized in the city of Guayaquil which were going to measure their physical-chemical composition in percentage of proteins, fats and carbohydrates that are found; On the other hand, microbiological tests were carried out in which microorganism cultures such as mesophilic aerobes, *E. coli* / coliforms, *Staphylococcus*, *salmonella* spp and, molds and yeasts that are present in food, are included, and based on the INEN 2346 standard that determines the microbiological requirements to categorize its quality (Good, acceptable and rejection) in order not to be considered as a potential risk to the health of consumers, in this case pets of the population of the city of Guayaquil. These cultures were evaluated over 3 weeks to determine if there is a significant variation in the number of microorganisms found within the samples. In the weekly results the presence of all these microorganisms in each of the samples could be observed, but in certain brands it turned out to have a greater number of colony forming units (CFU).

1 Introducción

En la actualidad la alimentación de las mascotas ha pasado de ser una decisión común a una importante, debido a que se comercian para el consumo de las distintas razas derivando tanto en tamaño como dietas formuladas para razas específicas, las cuales prometen un sin número de beneficios para la salud de nuestras mascotas, entre estas encontramos una propuesta denominada dieta BARF (Biologically Appropriate Raw Food) o su denominación en español ACBA (Alimentación Cruda Biológicamente Apropriada) que como su nombre lo indica es una dieta desarrollada a base de carne cruda como su principal ingrediente, además de tener muchos otros ingredientes que complementan la alimentación, la dieta BARF se auto define como un alimento que cubre los requerimientos que tienen los perros para su alimentación diaria y que esto podría elevar la calidad de vida de los mismos, aunque la propuesta de la alimentación BARF a simple vista es muy agradable, se torna algo controversial al momento de hablar de los riesgos que podría representar.

Uno de los principales roles que tiene el médico veterinario en la práctica es la de concientizar e instruir a los propietarios sobre la correcta alimentación de las mascotas, para esto es necesario considerar el estilo de vida que llevan los pacientes, debido a que esto puede influir directamente en la salud, en el caso de la dieta BARF hay que considerar que hablar de carne cruda para la alimentación de las mascotas, conlleva un riesgo debido a la naturaleza biológica del mismo; es bien conocido que para el consumo de los humanos todos los alimentos de origen animal tienen que pasar por diferentes procesos que aseguran la idoneidad y la inocuidad de los mismos, entre los cuales el manejo de la temperatura adecuada es primordial para asegurarnos de que los alimentos lleguen libres de patógenos

en los alimentos, así mismo se realizan controles de calidad para los procesos, antes de salir al comercio, después de ser adquirido por un consumidor, pasan por un proceso de cocción que asegura la eliminación de patógenos que puedan afectar la salud de los humanos. Ahora cuando realizamos una pequeña evaluación del párrafo anterior describimos que los animales consumirían alimentos que no pasan por un proceso de cocción como se menciona.

Ahora es importante evaluar qué aspectos fisio-anatómicos son relevantes para el uso de alimentación BARF, debemos recordar que los ancestros de los perros son íntimamente ligados a los lobos y es de fama mundial, estos guardan muchos rasgos con los que se pueden comparar, es decir los comportamientos sociales de ambos se conservan, una organización familiar o manada, en la cual hay un alfa, betas y omegas, que son puestos jerárquicos que mantienen el orden, y cada miembro debe ganar un lugar en la manada, si bien es cierto, actualmente los perros domésticos no forman estos grupos dentro de las ciudades ya que muchos cuentan con una familia en las cuales forman una especie de adaptación a lo que vivirían dentro de una manada; aunque este comportamiento organizacional aún se presenta en grupos de canes que viven en las calles donde se organizan y forman manadas, delimitan sus territorios y compiten por el alimento; estos mismos tienen a cazar animales como aves, roedores, robar comida de establecimientos, y de botes de basura la cual es la principal fuente de alimentación para ellos, ahora una pregunta muy común que se viene a lamentar es ¿Este tipo de alimentación no les hace daño? ¿Cuánto tiempo pueden vivir? ¿Qué enfermedades les afectan? ¿Las enfermedades pueden afectarnos a nosotros? En fin, es importante conocer todas estas cuestiones, ya que estas

podrían ser muy representativas al decidir sobre qué tipo de alimentación es apropiada para nuestras mascotas.

La alimentación BARF promete ser la solución a muchos problemas que actualmente aquejan a los perros debido a su alimentación, y mejorar la calidad de vida, acotando que el regresar a una alimentación semi - primitiva trae un sin número de ventajas para las mascotas.

1.1 Planteamiento del problema

La dieta de los canes ha sido por muchos años un tema que representa complicaciones generales ya que los animales muchas veces necesitan un nivel equilibrado de nutrientes en su alimentación diaria para poder desarrollarse y crecer con normalidad. En la actualidad se pueden encontrar en el mercado varias dietas de alimento balanceado que presumen poder cubrir las necesidades de los animales tomando en cuenta la raza y la etapa de crecimiento en la que se encuentre el animal. Entre todas estas encontramos una peculiar e interesante opción conocida como dieta BARF, que consiste en la alimentación de las mascotas con carne cruda que presume brindar beneficios varios para nuestras mascotas. Pero ¿estamos seguros de que la dieta BARF no representa un riesgo en la salud de nuestras mascotas? En español la denominación de BARF cambia a “Alimentos Crudos Biológicamente Apropriados” debido a su naturaleza biológica la composición del alimento puede desarrollar y facilitar el crecimiento de patógenos.

1.2 Justificación

El estudio supone establecer sus beneficios ya que al ser alimento crudo puede actuar como medio de crecimiento para microorganismos patógenos, por eso su estudio tanto en composición microbiológica y bromatológica es de suma importancia para los propietarios que eligen esta dieta para sus mascotas, cuidando así la salud de sus mascotas antes de presentarse la enfermedad.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la composición nutricional y calidad microbiológica de diferentes dietas BARF

1.3.2 Objetivos específicos

- Analizar el porcentaje de proteínas, grasas y carbohidratos totales que contienen las diferentes marcas de alimento BARF a través de análisis de composición bromatológica.
- Analizar la calidad microbiológica midiendo las unidades formadoras de colonias de Escherichia colí, Staphylococcus aureus y Mohos y levaduras.
- Determinar las diferencias que existan entre las distintas marcas comercializadas

1.4 Variables del Estudio

1.4.1 Variables Intervinientes

- Cantidad de microorganismos Aerobios Mesófilos.
- Presencia E. colí/coliformes totales.
- Presencia de Staphylococcus Aureus.
- Presencia de Mohos y levaduras.
- Presencia de salmonella.
- Porcentaje de proteínas.
- Porcentaje de grasas.
- Porcentaje de Carbohidratos totales.
- Diferencias de porcentajes entre las marcas

2 Marco Teórico

2.1 Nutrición.

Los perros son omnívoros por naturaleza, debido a los miles de años que tienen de domesticación, los perros han modificado considerablemente su alimentación, ya que en comparación a sus primos lobos que se alimentan de carne y huesos que consiguen al cazar presas; los perros han compartido sus hábitos alimenticios con los humanos, y es bien conocido que los humanos son omnívoros por excelencia y nuestra dieta es ampliamente variada.(Linsart et al., 2018)

La longitud del tracto digestivo está relacionada directamente a la duración de la digestión es decir que el tiempo en que ingresa el alimento y es masticado, para luego ser ingerido depende del largo del Tracto Digestivo (T.D.) Además de considerar que la duración y la eficacia de la digestión puede ser afectada por el tipo de alimento que se proporcione a nuestra mascota. (Elices-Minguez, Atlas De Nutricion, 2010)

Es importante recalcar que para los canes hay alimentos que pueden causar daño, entre los más conocidos están la cebolla, pimiento, ajo y el más conocido es el chocolate, aunque este último más que hacer daño al can e intoxicarlo, es decir, el sistema digestivo del perro tiene ciertas cualidades que recalcan la importancia del cuidado en la alimentación.(Risso, 2014)

Existen muchas enfermedades que están relacionadas con la nutrición, estas pueden incluir nutrientes que se encuentran en las dietas, o pueden ser provocadas por un mal manejo de los alimentos (conservación, exposición al calor, humedad).

2.1.1 Enfermedades relacionadas a la alimentación.

“Una enfermedad inducida por la dieta es un problema causado por una dieta” (Chandler & Takashima, 2014). Actualmente diversos estudios han demostrado que hay una relación directa entre la alimentación, y la condición actual en la que nuestras mascotas se encuentran, resulta ser interesante el pensar el número de enfermedades que tienen su origen en la alimentación.

- Enfermedad dental
- Diabetes mellitus
- Hiperlipidemia
- Obesidad
- Desordenes gastrointestinales
- Pancreatitis
- Trastornos hepáticos
- Enfermedades cardíacas
- Enfermedades renales
- Dermopatías

“Los dermatólogos veterinarios se enfrentan varias enfermedades de la piel relacionada con la dieta y la nutrición”(Hansel,2010, p. 1). Actualmente uno de los campos con mayor demanda en la medicina veterinaria es la dermatología, aunque la literatura menciona que hay ciertas razas que son más propensas a problemas de piel debido a condiciones genéticas específicas de cada raza que facilitan la aparición de problemas dermatológicos, como los Shar-pei, Pitbull, Cocker, Labrador, Boxer, etc.(Risso, 2014)

Pero específicamente se habla de Reacción adversa cutánea alimentaria, sobre todo en los perros que muestran signos de dermatitis atópica, en la cuales se implica que ciertos compuestos de los balaceados comerciales pueden ocasionar reacciones como el prurito, edematización, diarreas, irritación etc. Ciertamente los problemas dermatológicos requieren de un diagnóstico preciso y largos tratamientos.(Pizon, 2019)

2.2 Evolución e historia, similitud con los lobos.

“La influencia positiva de las mascotas en la salud y bienestar de los seres humanos es bien reconocida y comprende los aspectos sociológico, fisiológico, terapéutico y psicosocial”.(Gómez, Atehortua, & Orozco, 2007). Desde que el primer lobo sufrió una domesticación se entablo una relación que perduraría a lo largo de las eras, aun hoy se puede ver que los orígenes de esta relación se creen surgió de la necesidad de cazar grandes presas para poder alimentar a las familias tanto de humanos como de canes. (Dale et al., 2017)

“El lobo es el antepasado del perro doméstico, evolucionando a éste apenas hace unos 14 mil años”(Gómez et al., 2007). Los lobos son considerados animales muy sociables de entre todas las especies del reino animal, esto debido a que estos se agrupan y forman una manda que está debidamente jerarquizada donde un macho se coloca como cabeza del grupo, hoy en día algunas de estas razas comparten muchas características parecidas en el aspecto físico, excepto en el aspecto social y de comportamiento. A esto se le puede agregar que muchas de las conductas que no entendemos de los canes, pueden ser evaluados y entendidos una vez considerados el comportamiento de los lobos frente a la

manada, como, por ejemplo: Cuando un perro adopta una afinidad y respeto específico por una persona de la familia, esta vendría a ser considerada el alfa de la manda por lo cual el can sería incapaz de desafiar.

2.3 La digestibilidad.

Se ve afectada por la edad y la raza considerando el peso del perro, y con ciertas características deben ser consideradas, ya que esto influye directamente con el estado nutritivo del animal, al existir alguna alteración en el proceso digestivo.(Mora Barrero, 2018)(Zayas Somoza & Vilma, 2017)

2.4 Anatomía y fisiología del Sistema Digestivo.

El sistema digestivo en los caninos es igual que el de otros mamíferos monocavitarios con tendencia carnívora y omnívora.” El aparato digestivo se concibe como un conducto tubular musculomenbranoso extendido de extendido de la boca al ano” (Frandsen, Anatomía y fisiología de animales domésticos, 1976, p.226). consta de una membrana mucosa que continúa con la piel en la boca y el ano, en general el sistema digestivo tiene cuatro capas que forman la pared, desde adentro hacia afuera.

1. El epitelio (escamoso estratificado en la porción glandular del estómago y cilíndrico sencillo).
2. La lámina propia (con inclusión de la muscularis mucosa y submucosa).
3. Músculos (estriados a nivel del esófago y lisos en el resto del tubo).
4. Una serosa externa (peritoneo visceral).

El sistema digestivo es el encargado de procesar los alimentos desde la maceración y masticación, deglución, ingestión hasta llegar al estómago y comenzar el proceso de degradación química de los alimentos, lo que lleva a el alimento a su mínima expresión. La digestión del alimento en el estómago es mediada por enzimas; aun así no todo el proceso se completa allí, sino que una vez que el bolo alimenticio para por el estómago continua su recorrido por el tubo digestivo, hasta sufrir una segunda degradación que comprende la emulsión de las grasas dentro del intestino delgado, que hace este trabajo a partir de las enzimas que son secretadas por el páncreas y por la bilis que desciende al Intestino Delgado (I.D.) desde la vesícula biliar a través del conducto colédoco lo que hace posible este proceso, para que luego los nutrientes continúen su recorrido por el T.D. para ser absorbido por las microvellosidades intestinales, para terminar en el colon y luego ser excretadas por el recto.(Mora Barrero, 2018)

2.4.1 La cavidad oral.

La cavidad oral de un animal realmente puede del comportamiento alimentario de un animal en este caso se toma en cuenta a los animales de compañía como lo son el perro y el gato, aquí también se encuentran los dientes, los cuales son utilizados para determinar la edad de los alimentos, esto es importante para determinar las necesidades nutricionales de nuestras mascotas (Elices-Minguez, Atlas De Nutricion, 2010).

En la boca se producen la masticación y la salivación, estos procesos son muy esenciales para la alimentación, y la cavidad oral está desarrollada para el tipo de alimentación que tenga el animal, es decir los carnívoros tienen colmillos e

incisivos que permiten desgarrar la piel y los músculos de sus presas, mientras que los incisivos de los herbívoros tienen la función de cortar el pasto; es decir que para la alimentación de las mascotas considerar la cavidad bucal es algo primordial. (Mora Barrero, 2018)

Según (Frandsen, 1976). La fórmula dentaria de los caninos es:

$$\text{Deciduos: } 2 \{ I_3 + c_1 + p_3 \} = 28 \text{ dientes}$$
$$3 + 1 + 3$$

$$\text{Permanentes: } 2 \{ I_3 + C_1 + P_4 + M_4 \} = 42 \text{ dientes}$$
$$3 + 1 + 4 + 4$$

2.4.2 Faringe.

“La faringe es un conducto para el paso común de alimentos y del aire inspirado, tapizado de mucosa y rodeado de músculos.” (Frandsen, 1976) el alimento aquí es enviado al esófago a través de contracciones, para que así siga con el recorrido.

2.4.3 Esófago.

Es la continuación de la faringe considerado un conducto muscular extendido hasta el cardias. Su función básica es el de trasladar el alimento que fue masticado en la boca, hasta el estómago donde va a ser digerido. (Pérez, 2008, bk. Anatomía y Fisiología Animal)

2.4.4 Estomago.

En los animales no rumiantes está ubicado en el lado izquierdo de la concavidad diafragmática, se puede dividir en cardias(entrada), gran curvatura, cuerpo y píloro(terminación). El cardias y el píloro son esfínteres que regulan el paso de los alimentos por el estómago. Es un órgano relativamente grande con una capacidad de 2.5L en un animal adulto, en perros puede llegar a ocupar entre 50-60% del total de tubo gastrointestinal.(Mora Barrero, 2018)(Frandsen, 1976)

En el estómago se realiza la degradación química en la que intervienen 3 sustancias principales como son la pepsina, HCl y el mucus. La pepsina, es una enzima que degrada la proteína a su mínima expresión para luego ser absorbida; el ácido clorhídrico funciona como antiséptico muy potente que elimina bacterias que puedan ser potencialmente dañinas para el organismo; y el mucus, crea una capa que protege las paredes del estómago para que no sea afectada por la pepsina y el ácido clorhídrico.

2.4.5 Intestino delgado.

El intestino delgado se divide en tres partes: duodeno, yeyuno e íleon; cada una de sus características histológicas propias. (Frandsen, 1976). Es un tubo alargado que mide entre 4 a 7 metros, y este ocupa una gran parte de la cavidad abdominal, se ubica caudo ventral al hígado y estómago.(Mora Barrero, 2018)

Duodeno: primera porción del intestino delgado esta fija a las paredes intestinales por el mesenterio.

Yeyuno: continua sin límites precisos con el duodeno, entre el yeyuno y el íleon no hay una división clara, y el yeyuno está conectado al colon por el íleon-cecocolica.

Íleon: se abre al principio de colon y de la válvula ileocecal.

2.4.6 Intestino grueso.

El intestino grueso consta del ciego, es un tubo cerrado por un extremo y el colon. En los caninos es que órgano puede medir entre 65 y 75 centímetros aproximadamente, que a diferencia del intestino delgado no presenta estructuras como sáculos o bandas longitudinales; El ciego está conformado por los primeros 15 cm, no es muy flexible, ni elástico. Después el colon, que se divide en tres partes: inicialmente el ascendente, después el transversal, Y el colon descendente.(Mora Barrero, 2018)

2.5 Dieta BARF

Para hablar de Dieta BARF debemos considerar aspectos esenciales que engloban por qué usar alimentación cruda para nuestras mascotas sería de mucho beneficio para ellos mismos, para esto se hace hincapié en que la evolución hizo al perro de tal manera que pudiese aprovechar este tipo de alimentación al máximo, ya que descendes de una especie que es reconocida por cazar y alimentarse de sus presas, sobre todo el aprovechamiento de sus vísceras, así que podría plantearse una pregunta ¿Qué mal podría hacer a los perros volver a sus raíces?. (Billinghurst, 1993) afirma:

El acrónimo BARF significa alimentos crudos biológicamente adecuados. La dieta o programa de alimentación BARF consiste en alimentar a perros y gatos con la dieta para la cual han evolucionado a través de millones de años de adaptación genética. (Kölle & Schmidt, 2015)

Otros términos igualmente adecuados son: Dieta evolutiva, dieta natural y dieta adecuada para la especie.(Pizon, 2019)

La dieta BARF a diferencia de lo que su nombre aparenta propone ser una opción bastante fácil de preparar y muy conveniente para los bolsillos ya que uno mismo puede prepararla en casa. (Kölle & Schmidt, 2015) refiere a que muchos dueños actualmente han generado descontento por la alimentación de sus mascotas con los piensos procesados en los que entran la comida seca, croquetas y enlatados. Debido a ciertos escándalos que se han producido en las últimas décadas, de acuerdo con el manejo y producción de ciertos alimentos, y estos aseguran que cambiar de estos piensos a comida más fresca o que haya pasado por un proceso de congelación que reduzca el riesgo.(Lewis, 2014)

2.5.1 Como se prepara.

Básicamente se puede utilizar cualquier cosa que esté a nuestro alcance, como lo son: carnes, huesos, verduras viseras. Etc. Que lleguen a parecerse a la alimentación que encontrarían los carnívoros silvestres. Actualmente se encuentran estos materiales en cualquier supermercado o despensa de víveres, y se calcula una ración apropiada considerando su estado fisiológico.(Billinghurst, 2001; Kölle & Schmidt, 2015)

En principio la dieta BARF hace referencia a una forma de alimentación basado en huesos carnudos y carne cruda, pero actualmente se ha desarrollado el alimento BARF de forma comercial en la cual las empresas manejan propias proporciones para su mejorar su marca en virtud de los beneficios de agregar unos ingredientes extra o algún corte especial, etc. (Rojas, 2019)

2.5.2 Composición de una ración BARF.

Se describe que la dieta debe contener un aproximado de 50% carbohidratos, 40% de proteínas, 5% de grasa y 2-5% de fibra (Kölle & Schmidt, 2015). También refieren en materia prima hasta un 70% de huesos carnosos como base de la dieta.

2.5.3 La cantidad apropiada del alimento.

Se considera que un perro sano debe tener un tanto visible las costillas, para manejar un estándar, podríamos trasladar a porcentajes para poder determinar una cantidad adecuada del alimento para nuestras mascotas, que no discrimine entre razas pequeñas, medianas. Grandes y gigantes. Según (Lewis, 2014). Se sugiere un 2-3 % del peso corporal de un perro adulto y en el caso de perros cachorros que se encuentren en la etapa de desarrollo hasta un 10%.

2.6 Inocuidad alimentaria.

Según (F.A.O, 2014) como la garantía de que un alimento no causara daño a su consumidor final, asegurando que la salud de estos sea salvaguardada por el cumplimiento adecuado de los debidos procesos que involucran la producción de este. A esto se le puede agregar que en la actualidad se manejan normas, y lineamientos internacionales los cuales las diversas empresas deben cumplir, estos son supervisados por inspectores tomando en cuenta las normas HACCP.

2.6.1 INEN 2346 valores microbiológicos permisibles en la carne de animales de abasto

Las INEN 2346 están direccionadas para los productos de origen animal en este caso productos cárnicos resultados de procesos específicos, en el Ítem siguiente se explicará de mejor manera, como resultado de los procesos de calidad

de estos alimentos se tiene en consideración los microorganismos. Como se señala en la siguiente tabla.

Tabla 1 NTE INEN 1346 Requisito microbiológico para carne molida

	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios mesófilos ufc/g	5	3	1.0x10 ⁶	1.0x10 ⁷	NTE INEN 1 529- 5
Escherichia colí ufc/g	5	2	1.0x10 ²	1.0x10 ³	NTE INEN 1 529- 8
Staphylococcus Aureus ufc/g	5	1	1.0x10 ²	5.0x10 ²	NTE INEN 1 529- 14
Clostridium sulfito reductores ufc/g	5	1	3.0x10 ¹	1.0x10 ²	NTE INEN 1 529- 18
Salmonela/25 g	5		AUSENCIA	-----	NTE INEN 1 529- 15

*n = Número de muestras. c = Unidades defectuosas que se aceptan. m = Nivel de aceptación. M= Nivel de rechazo

2.6.1.1 Carne y menudencias comestibles de animales de abasto, y Carne molida

Presentación de carne para consumo humano que consiste en pasar la carne a través de un molino para convertirla en una masa pastosa que pueda ser preparada en casa, actualmente la Dieta BARF se comercializa en esta presentación por eso tomamos en cuenta la norma INEN 2346 que nos da los valores para la calidad microbiológica de alimento, para la calidad del producto final tomamos en cuenta la INEN 1346 que dice:

- La carne molida debe presentar el color, olor y sabor característicos del producto, y debe estar exenta de cualquier color olor, y consistencia anormal.
- El producto no debe presentar alteraciones causadas por microorganismos o cualquier agente biológico, físico o químico y debe estar exento de materias extrañas.

- La carne que se utilice para carne molida debe cumplir con la NTE INEN 2346
- El proceso de elaboración debe efectuarse aplicando buenas prácticas de manufactura
- La carne molida debe estar exenta de sustancias conservantes, colorantes y cualquier otro aditivo
- Los residuos de plaguicidas y sus metabolitos no deben superar los límites establecidos en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 1
- Los residuos de medicamentos veterinarios no deben superar los límites establecidos en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 2
- La carne molida debe mantenerse bajo cadena de frío (de 0°C a 4°C para refrigeración y menos o igual a -18°C para congelación)
- La carne molida debe cumplir con los requisitos indicados en la tabla 1

2.7 Bromatología

La bromatología es una serie de pruebas físico- químicas que se emplean para el estudio de la composición de los alimentos, los cuales permiten determinar los niveles nutricionales de los mismo, que nos permiten tener una idea del aporte nutricional que se pueden incluir en la dieta.(Peña C et al., 2018)

Dichas pruebas son utilizadas para determinar los niveles de proteínas, carbohidratos y lípidos presentes en estas dietas siendo estos los principales nutrientes que necesita un organismo para funcionar de forma correcta, tanto a nivel celular como a nivel sistémico.(De Oliveira Borges Saad & França, 2010).

Proteína. – Las proteínas son consideradas como cuerpos complejos que están formados por moléculas de tipo coloidal, que tienen un gran peso molecular y está conformado por una gran porción de aminoácidos. (Frandsen, 1976)

Carbohidratos. – o hidratos de carbono, en general son azúcares que se encuentran en los alimentos, se encuentran en varios alimentos, se pueden clasificar en distintos grupos entre los que se encuentran su grado de polimerización y digestibilidad. Desde la perspectiva funcional: absorbibles (monosacáridos), digeribles (disacáridos, ciertos oligosacáridos, polisacáridos no estructurales), fermentales (lactosa, ciertos oligosacáridos, almidón resistente), no fermentables (celulosa).(Risso, 2014)

Para la prueba de carbohidratos se utilizó ICUMZA, que sirve para determinar azúcares y almidones dentro de los alimentos, y se utiliza para identificar mono y di sacáridos.(Zossi et al., 2011)

Lípidos. – Es el nombre que se le da a las grasas encontradas en la sangre las cuales son parte del organismo y aportan energía de reserva para el organismo.(Blanco, 2011)

También es conocida como la materia grasa con la que cuenta cada individuo, se conoce que cuando ocurre algún problema a nivel hepático hace uso de las grasas, para aprovechar la energía necesaria para funcionar correctamente.(Pizon, 2019)

2.8 Microbiología.

Todos los organismos cuentan con un grupo de bacterias saprofitas que cumplen funciones específicas en el caso de la piel algunas sirven como barreras de protección microbiológica ocupando espacio evitando que bacterias patógenas

causen daño en el organismo de la misma manera dentro del sistema digestivo podemos encontrar microbiota que ayudan a degradar los alimentos.

Los alimentos son productos que no han pasado por un proceso de eliminación de microorganismos así que no pueden ser considerados estériles, y pueden sufrir contaminación en cualquier etapa, es decir que pueden ser susceptibles a las bacterias y a sus toxinas.(Romero Quintero, Martha Irene; Sanchez Pavon, Edgard Alfonso; Lopez Aburto, 2015). En la industria alimentaria, es necesario mantener una cadena de frio que permita mantener los microorganismos en el nivel mínimo aceptable, que no dañe el producto, durante y después de su faenamiento, hasta ser adquirido por el consumidor.

Al hablar de dieta BARF se comercia en forma de carne molida, y por eso se toma en cuenta las normas INEN 1346 que habla sobre los niveles permitidos de microorganismos que se encuentran en el alimento. Según las normas INEN 1346:

- Aerobios
- E. coli/ coliformes
- S. Aureus
- Salmonella spp

2.8.1.1 Aerobios mesófilos

En este grupo de microorganismos se busca reflejar las condiciones sanitarias de los alimentos, a través del recuento se estima la microflora total sin especificar el tipo de microorganismos, esto nos da una idea de la manipulación de los alimentos, y las condiciones de higiénicas de la materia prima. Esto incluye los

microorganismos que incluyen mohos y levaduras que puedan crecer a 35°C +/- 2°C (Campuzano et al., 2015).

2.8.2 E. coli/coliformes.

Escherichia coli Es una de las causas más comunes de infecciones, es también una de las causantes de meningitis neonatal, y puede producir una variedad de enfermedades, e infecciones clínicas incluyendo neumonías.

Este organismo es un indicador de la calidad y la sanidad alimentaria, es una de las bacterias más representativas del intestino humano y animal, en los últimos años, se ha detectado un aumento en la resistencia de antibióticos Este organismo es un indicador de la calidad y la sanidad alimentaria, es una de las bacterias más representativas del intestino humano y animal, en los últimos años, se ha detectado un aumento en la resistencia de antibióticos de uso clínico como ampicilina, sulfas, etc.(Puig Peña et al., 2011).

Coliformes Totales Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios, o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a 35°C +/- 2°C con la producción de ácido y gas. Son de real importancia al momento de ser usados como indicadores de contaminación de agua y alimentos, las bacterias de este género se encuentran, en el intestino de los humanos y animales de sangre caliente, pero también ampliamente distribuidos en la naturaleza. (Campuzano et al., 2015).

2.8.3 Staphylococcus Aureus

Se encuentran principalmente en humanos, se encuentra normalmente en la mucosa nasal, heridas, ampollas, pelo. Cuando está presente en los alimentos significa que la manipulación de los mismos ha sido inapropiada.(Velásquez Chumacero, 2017)

Casi todas las cepas de estas de este microorganismos producen un grupo de enzimas y citotoxinas que incluyen a cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta) nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa. La principal función de estas es la de convertir los tejidos del individuo(huésped) en los nutrientes que requerirán para desarrollo bacteriano.(Campuzano et al., 2015)

2.8.4 Salmonella.

Según (Kiflu et al., 2017) el estrecho vínculo que existe entre los animales de compañía como los perros y los seres humanos en grupos familiares aumentan el riesgo de infección de patógenos bacterianos como *Salmonella*, en su estudio se buscó determinar la prevalencia de la misma, tanto su distribución por serotipo y la resistencia del mismo en heces de perros sanos en Etiopia.

En su estudio dio un total de 42 perros positivos de 360 perros que fueron positivos a *Salmonella*, en su mayoría predominó el *S. bronx*.

Estas bacterias están asociadas con la presencia de diarreas, cólicos, y fiebre en humanos. Se encuentran en el intestino de los animales y humanos; y sin resistente tanto a la congelación, deshidratación, pero con sensibles a medios ácidos, y son poco resistentes a temperaturas elevadas. (Velasquez Chumacero, 2017)

2.9 Micología

los hongos son un tipo de célula eucariota, entre sus características tenemos que los antibióticos no tienen efecto sobre ellos, constan de un núcleo con membranas bien definidas, mitocondrias y redes de microtúbulos. Estos no son fotosintéticos, por lo general no son móviles, y poseen una pared celular. Pueden tolerar condiciones más ácidas. (Marín, 2018)

Los hongos se pueden clasificar en mohos y levaduras.

2.9.1 Mohos

Los mohos son filamentosos, los filamentos pueden ser ramificados, la ramificación también son conocidos como hifas y tienen un diámetro de 2-10µm. Las hifas ramificadas, crecen para formar una masa entrelazada que se conoce como micelio. ("Clinical Veterinary Microbiology," 1995)

2.9.2 Levaduras

También conocidas como fermentos, pueden encontrarse en diversas formas como hongos esféricos, ovoides o bacilares, en las que predominan las formas de desarrollo unicelular. Se reproducen por gemación o por fisión binaria. (Navarro Reyes, 2013, bk. Micología Veterinaria)

2.10 Parasitología.

Es ampliamente conocido que los perros pueden ser portadores de parásitos independiente de que sean perros callejeros o perros de casa debido a que hay una variedad de protozoos (*Babesia* spp, *Hepatozoon* spp y *Leshmania* spp.), Helmintos (lombrices intestinales, angilostomas y tenias) y artrópodos (ácaros, garrapatas, pulgas y piojos). (Otranto et al., 2017). Para objeto de este estudio se mencionan los parásitos y protozoarios que puedan cruzar por su ciclo contaminar

el alimento BARF. Pero no se realizará ningún tipo de prueba para determinar la existencia.

2.11 Laboratorio

2.11.1 Petrifilm

Las placas de Petrifilm 3M están diseñadas para satisfacer las necesidades del sector alimentario de hoy en día debido que ofrece mayor rapidez que las pruebas normales, asegurando resultados que han sido certificados por las normas internacionales para el diagnóstico de patógenos en alimentos.(Safety, 2019)

Para este estudio se utilizaron las variedades de Aerobios, E. coli/coliformes/ S. Aureus y mohos y levaduras. Que como se menciona en la norma INEN 1346 son las necesarias para mantener un alimento de manera inocua.

El proceso será descrito en el capítulo III de Materiales y métodos; en cierto sentido se busca medir la calidad alimentaria.

2.11.2 Cultivos microbianos

O medios de cultivos, de los cuales existen varios los que se pueden dividir en selectivos y no selectivos, el cultivo selectivo es suplementado con antimicrobianos para evitar el crecimiento excesivo de microorganismos contaminantes (hongos y bacterias). Se podría definir a los medios de cultivos como soluciones nutritivas que permiten el crecimiento de microorganismo, los cuales nos permite cultivar.(VANEGAS FERNANDO & MORA TRUJILLO, 2018)

Para los cultivos microbianos existen varios usos entre los cuales están la identificación para determinar la sensibilidad que tiene estos a ciertos fármacos antimicrobianos, y también se puede determinar la resistencia de los microorganismos.(March Rosselló & Bratos Pérez, 2016) (Puig Peña et al., 2011)

2.11.3 Diagnostico.

Para determinar la calidad de los alimentos, usamos el método de conteo de colonias microbianas o unidades formadoras de colonias UFC, en las cuales se inoculan muestras de alimentos en medios de cultivos, se incuban y después de un determinado tiempo se cuentan las colonias que se han formado en el medio.(Anduro Jordan et al., 2017)

3 Materiales y métodos

3.1 Localización



Gráfico 1 Ubicación de proyecto.

La investigación se realiza dentro de la ciudad de Guayaquil, se caracteriza por ser caluroso, donde la temperatura ambiental oscila entre 21°C a 31°C y rara vez baja menos de 19°C o sube más de 33°C. El estudio está orientado a las dietas que son comercializadas para el consumo de las mascotas de la ciudad, aunque hay una variedad de dietas BARF entre las que se consideran tipos diferentes de proteína, o que son dirigidas también a gatos, o a cachorros.

- Superficie: 344,5km²
- Población: 3.113.725(censo 2010)

Está ubicado en el centro de la provincia del guayas perteneciente a la costa ecuatoriana limita al norte con los cantones de lomas de sargentillo, Nobol, Daule, Naranjal, Balao; al sur con el Golfo de guayaquil y la provincia de El Oro; al Este con los cantones Duran, Naranjal y Balao; y al Oeste con la provincia de Santa Elena y el Cantón General Villamil; la isla puna está ubicada en el centro del Golfo De Guayaquil, al Sur de varias pequeñas islas e islotes.

Área de experimentación; Laboratorio de la Facultad de medicina veterinaria y zootecnia perteneciente a la universidad de guayaquil, ubicado al norte de la

ciudad en el km 27 ¹/₂ de la vía Daule, sector puente lucia, al límite de del cantón Daule Y Lomas de Sargentillo.

3.2 Materiales y personal

3.2.1 Recurso humano.

- Tesista
- Tutor
- Docente supervisor de laboratorio
- Asistente

3.2.2 Materiales de laboratorio

- Guantes de muestra (plásticos de petrifilm)
- Mascarilla
- Gorro de cabello
- Gasa
- Mandil
- Algodón
- Alcohol
- Microscopio placas de petrifilm
- Agua de peptona
- Pipetas semiautomática
- Instrumentos para la distribución uniforme
- Puntas de pipeta desechables
- Estufa
- Autoclave
- Hornilla
- Mechero de bunsen
- Esterilización
- Palillos de Dientes
- Fiolas
- Cooler
- Gel refrigerante
- Hoja de campo
- Fundas con ziploc

3.2.3 Materiales de oficina

- Computador
- Papel
- Cuaderno

3.3 Tipo de investigación

Investigación descriptiva, analítica y cuantitativa.

Que busca evaluar parámetros nutricionales y los riesgos microbiológicos que podrían dar en el manejo de la alimentación de las mascotas.

3.4 Metodología de trabajo.

Para comprensión del estudio, se realizará una división entre los procesos bromatológicos y microbiológicos planteados en el estudio, exceptuando los protocolos de selección de la muestra las cuales se realizaron de forma general y no varía ni afecta en ninguno de las áreas antes mencionadas.

3.4.1 Selección de la muestra

- 1) Se realizó un estudio de mercado, haciendo uso de las redes sociales (medio por el cual se comercian la mayoría de las dietas) para determinar cuáles con las dietas que tienen mayor acogida, y que los propietarios buscaban como primera opción, en este caso también se valoró de manera extraoficial la opinión de médicos veterinarios que manejan el área de nutrición, y así direccionar el estudio.
- 2) Se seleccionaron 4 marcas comerciales las cuales son considerados alimentos premium dentro de las Dietas BARF que se comercian en la ciudad de Guayaquil.

3.4.2 Toma de la muestra

Se toma en cuenta el requerimiento del laboratorio para realizar los análisis físico - químicos (Bromatología) y para los análisis microbiológicos para la detección de salmonella, el laboratorio solicitó 500gr aproximadamente de muestra entre los cuales se dividen 400 para los exámenes físico – químicos. Y 100gr de muestra para los exámenes de salmonella.

Al ser un estudio que involucra varias marcas la relación antes mencionada entre cantidad de muestra y exámenes a realizar aplica solo en la primera semana, ya que la bromatología se realizó una sola vez, y el valor total de la muestra la primera semana es de 2000gr como se demostrara en el siguiente esquema.

La primera semana se manda al laboratorio un total de 500gr de muestra. Y las semanas consiguientes 100gr, para exámenes de salmonella.

Para los análisis microbiológicos realizados dentro del laboratorio de la facultad se precisan 25gr de alimento por marca para realizar las diluciones correspondientes.

En el caso de las marcas comerciales encontramos diversas presentaciones tales como 454gr, 500gr, 1kg y 2kg; para la primera semana se optó por adquirir presentaciones de 1 kg para poder enviar al laboratorio la cantidad solicitada, y las semanas siguientes se adquirió presentaciones de 454gr y 500gr dependiendo de la marca.

3.4.3 Obtención de la muestra de alimento.

Al ser alimentos crudos la obtención de la muestra debe ser manejada de forma que no sufra alteraciones que puedan afectar los resultados, para esto se realizaron los siguientes pasos.

- 1) Se seleccionaba el sitio de venta más cercano donde se pueda adquirir la muestra alrededor de 72 horas antes de su compra.
- 2) Se programa la compra de los alimentos para 24hrs antes de realizar las pruebas de laboratorio, para que no sufran alteraciones en la cadena de frío.
- 3) Se necesito de distintas personas acudan a adquirir las muestras a los puntos de venta.
- 4) Para la compra de estas se hizo uso de un Cooler y gel refrigerante para preservar la temperatura de los alimentos.

3.4.4 Envió de muestra al laboratorio.

Para él envió de muestras al laboratorio se realiza un protocolo donde se busca minimizar la contaminación de la muestra, es decir que para esto se realizara dentro de un laboratorio para que se pueda mantener un ambiente controlado en todo momento.

- 1) Se prepara y descontamina el laboratorio 72 horas antes de empezar el proceso.
- 2) Precio a manipular la muestra se pone a descongelar.
- 3) Se prepara el área donde se va a manipular la muestra.
- 4) Se preparan las bolsas de ziploc
- 5) Se calibra la balanza digital para tarar el peso de la bolsa.

- 6) Se procede a encender un mechero de bunsen con llama alta y esperar unos minutos a que este tenga efecto sobre los microorganismos del ambiente.
- 7) Se trabaja a una distancia muy cercana a los mecheros.
- 8) Se procede a abrir el paquete de alimento.
- 9) Se coloca la bolsa de ziploc en la balanza.
- 10) Se procede a extraer del paquete la muestra con una espátula, se selecciona diferentes partes de la muestra.
- 11) Se coloca en la funda sobre la balanza hasta que se complete 100gr.
- 12) Se sella y se marca, se coloca en refrigeración.
- 13) Se envía al laboratorio.
- 14) Para la muestras de bromatología se realiza el mismo proceso con la diferencia que se completan 400gr.

3.4.5 Análisis bromatológico.

El análisis bromatológico se realizará una sola vez en el estudio para determinar la calidad nutricional del alimento, y las diferencias que se presentan en estas marcas de alimento BARF. Se envía para el análisis de proteínas (AOAC 995.04), grasas (AOAC) y carbohidratos totales (ICUMZA). Estos son considerados los nutrientes esenciales para el funcionamiento del organismo y debido a su importancia son analizados en porcentajes en el estudio realizado.

- 1) Envío de muestras al laboratorio
- 2) Análisis de muestras
- 3) Resultados

3.5 Descontaminación del área.

El área de trabajo debe ser descontaminada apropiadamente para mantener en el mínimo la carga microbiana en el ambiente, se utilizó Virkon como desinfectante con potentes propiedades químicas de la formulación a base de peróxido; ofrece un amplio espectro de eficacia. Elimina más de 500 cepas de virus, bacterias, hongos y levaduras.

Tabla 2 Dilución apropiada para el uso de Virkon

Superficie por desinfectar	Volumen de agua requerido	Cantidad de virkon a añadir
50m²	15L	150gr

- 1) Se realiza 96 a 72 horas antes de utilizar el laboratorio.
- 2) Se prepara la solución.
- 3) Se vierte sobre todas las superficies posibles del laboratorio.
- 4) se deja un tiempo para que haga efecto.
- 5) también se utiliza para descontaminar la incubadora. Se deja una cantidad de solución, a una temperatura que permita evaporarse (aprox 37.5°C) dentro de la incubadora y se retira 24hrs antes de ser utilizada.

3.6 Pruebas de laboratorio.

Para este estudio se utilizaron placas de petrifilm, específicamente petrifilm para el recuento de microorganismos Aerobios, E. colí/ Coliformes, Staphylococcus Aureus, Mohos y levaduras. Para la correcta identificación de Staphylococcus A. se utilizan discos de confirmación que tiñen de violeta las colonias.

3.6.1 Protocolo de esterilización de materiales.

Se inicia desde las 8 Am cuando se prepara y selecciona los materiales que van a ser utilizados entre los que estas materiales de vidrio los cuales serán sometidos al autoclave (calor húmedo) y luego a la estufa (calor seco).

- 1) El material de vidrio (vasos de precipitación, tubos de ensayo, Fiolas y placas Petri) son lavados y enjuagados revisando que no tengan residuos de otros trabajos que hayan sido realizados y usados; y otros (espátula, puntas de pipetas) que se revisan y se protegen con medidas extra (papel empaque) antes de ser sometidos a un auto clavado.
- 2) Una vez encendido el autoclave se procede a colocar el agua suficiente para colocar dentro los materiales que serán utilizados, dichos instrumentos de laboratorio estarán sometidos a una presión y temperaturas (especificar) a las cuales los microorganismo no podrían sobrevivir. En el caso de las Fiolas estas son ingresadas con el agua de peptona preparada y son taponadas, e igualmente con los tubos de escape.
- 3) Después de aproximadamente 1 hora se libera la presión del autoclave, y se transporta las Fiolas fuera para ser puedan ser enfriadas gradualmente al igual que los tubos de escape. Y los demás materiales son pasados a la estufa para que sigan manteniendo temperatura, hasta ser utilizados.
- 4) Una vez terminado el proceso, nos aseguramos de que los materiales no sean contaminados hasta tu utilización. Solo debe estar personal autorizado y debidamente equipado para trabajar en el laboratorio.

3.6.2 Pruebas microbiológicas.

Aquí serán descritas paso a paso las actividades realizadas en el laboratorio para sembrar las muestras de alimento. A primera hora de la mañana previo al proceso de esterilización de los materiales, se realizan unos tapones hechos con algodón y gasa que servirán para cubrir los tubos de ensayos. También se hace una envoltura o paquete, para cubrir las espátulas.

- 1) Para la preparación del agua de peptona se pesa 7,5gr de peptona en 500 ml de agua destilada, las cuales son vertidas de a poco en el agua, y son mezcladas con el uso de una pipeta, para facilitar su dilución se coloca en las hornillas, y de bate la mezcla constantemente hasta que se homogenice correctamente, una vez terminado de realizar la dilución se distribuye. Se preparan dos Fiolas de 500.
- 2) Una vez preparadas ambas Fiolas, se procede a realizar la distribución del contenido en cuatro Fiolas de 250ml, tomando en cuenta que para diluir el contenido en una solución madre, se colocaran 225ml en las Fiolas, una vez realizada la distribución del agua de peptona se procede a colocar el tapón y llevar la solución al autoclave para ser esterilizadas.
- 3) El restante del agua de peptona es vertido en tubos de ensayo de 10 ml, en este caso son utilizados 9 ml de agua de peptona que luego serán completados con 1ml de dilución para así realizar diluciones mayores -2, -3, -4 dependiendo de la necesidad.
- 4) Con la ayuda de vasos de precipitación (previamente esterilizados) se procede a colocar el contenido del empaque para que se pueda

homogenizar la muestra y tomar una porción que sea representativa (que abarque distintas zonas).

- 5) Para completar la dilución -1 del agua de peptona se toman 25gr de muestra, con ayuda de las cajas Petri (marcadas previamente con el #de muestra y fecha) se procede a colocar en la balanza eléctrica y tarar el peso de las cajas, una vez realizado esto se procede a colocar la muestra en dentro de las cajas Petri hasta completar 25gr.
- 6) Una vez que las Fiolas con 225ml de agua de peptona han regulado su temperatura se procede a marcarlas para diferenciar una muestra de la otra.
- 7) Cuando el vidrio es manejable, se procede a colocar el contenido de la caja Petri dentro de las Fiolas. Se coloca a corta distancia del mechero de bunsen, se quita el tapón de las Fiolas, y se empieza a verter el contenido con el mayor cuidado posible sin que toquen la boca de las Fiolas, se vuelve a colocar el tapón y se homogeniza la muestra y se coloca a parte. Se repite el proceso con las otras 3 muestras faltantes.
- 8) Una vez preparadas las muestras en la dilución madre, procedemos a preparar las siguientes diluciones, con una punta de pipeta nueva (pipetas desechables estériles) se procede a tomar 1ml de dilución y este ml es pasado a un tubo de ensayo donde la concentración de ese 1ml será diluida obteniendo así una dilución a la -2 y este proceso será repetido en caso de que se necesite aumentar las diluciones, se procedería a retirar 1ml de la dilución a la -2 para luego ser vertido en

otro tubo de ensayo que vendría a representar una dilución a la -3 de la muestra.

- 9) La primera semana se determinó que trabajar con dos diluciones (-1 y -2) sería la mejor opción debido a que al trabajar con dos diluciones facilitaría mucho el conteo de las colonias, y la selección de las siguientes diluciones se haría tomando en cuenta esto.
- 10) Una vez preparadas las diluciones tomamos las placas de petrifilm que serán utilizadas en este caso con dos diluciones usaremos dos placas de cada una, es decir 2 de Aerobios mesófilos, 2 de E. coli/coliformes, 2 Staphylococcus Aureus y 2 de mohos y levaduras por cada marca.
- 11) Se procede a marcar las placas de petrifilm (# de marca, fecha y dilución) para mantener un orden y no confundir las placas.
- 12) Con ayuda de una pipeta semiautomática se procede a tomar una punta de pipeta desechable (estéril).
- 13) Cerca del mechero se procede a quitar el tapón (para evitar la contaminación del tapón se toma con el dedo meñique y se cuida de que no tenga contacto con ningún objeto, y facilite la manipulación de los instrumentos) de la fiola en caso de que sea una dilución a la -1 o de tubo de ensayo en caso de que sean diluciones mayores.
- 14) Se introduce la pipeta dentro de la fiola o tubo de ensayo.
- 15) Se extrae 1ml de dilución. Esto se realiza cerca del mechero.
- 16) Se acerca la boca de la fiola o tubo de ensayo al mechero para evitar la contaminación.
- 17) Se coloca nuevamente el tapón, y se procede a cultivar las muestras.

- 18) Para cultivar las muestras se toma un placa de petrifilm con un mano mientras con la otra se mantiene la pipeta.
- 19) Con la mano que se manipula la placa de petrifilm se levanta el protector y con la mano que sostiene la pipeta se procede a verter la muestra en la placa, se utiliza el dedo pulgar para fijar la pipeta y así distribuir la muestra uniformemente.
- 20) Se baja el plástico protector y se distribuye por la placa.
- 21) Con la ayuda de los instrumentos para distribución uniformes (placas de plástico) se ejerce presión sobre la placa de petrifilm hasta que se distribuya correctamente la muestra sobre los medios de cultivos, asegurando de que cuando empiece la formación de las colonias microbiológicas se pueda hacer uso de las guías para la interpretación de los resultados y conteo de colonias microbiológicas.
- 22) Este proceso se repite con cada una de las placas que serán utilizadas y por cada marca que sea evaluada en el presente estudio.

3.6.3 Incubación de las muestras.

El proceso para la incubación de las muestras que fueron sembradas es un protocolo sencillo el cual será descrito en unos pocos pasos.

- 1) Se colocan las placas en los cultivos, tomando en cuenta las sugerencias de la empresa 3M. se distribuyen a lo largo de las bandejas, tomando en cuenta el tipo de cultivo.
- 2) Para este caso utilizamos bandejas en las cuales se distribuyen por tipo de cultivo. Es decir, bandeja 1 para petrifilm E. colí/coliformes, bandeja 2 para Petrifilm Aerobios Mesófilos y bandeja 3 para Petrifilm Staphylococcus Aureus.

- 3) Se colocan dentro de la incubadora a 37.5°C por un periodo de 24hrs a 48 hrs para que se dé el crecimiento de las colonias bacterianas.
- 4) En el caso de petrifilm Mohos y levaduras, se dejan a temperatura ambiente y se realiza una primera observación a las 24hrs y se realiza una segunda observación a las 48hrs las que son sugeridas por la empresa 3M.
- 5) Después del plazo estimado para el crecimiento bacteriano se procede a realizar un recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). En el caso de 3M petrifilm es necesario el uso de un disco de confirmación el cual se coloca y se incuba por 3hrs más aproximadamente.

3.6.4 Recuento de UFC

Para el recuento estimado de UFC petrifilm ofrece una serie de instrucciones en las cuales se indica como realizar un conteo rápido, diferenciando entre el tipo de cultivo. Para objeto del análisis estadístico, se realizó un ajuste tomando en cuenta el número mayor de recuento total de UFC en las placas que hayan resultado en el conteo de colonias, y la formación de estas, comparando y estimando una cantidad superior, a la mayor, es decir duplicar la cifra. Ejemplo.

Número mayor de la primera semana 680.000 x 2

Estimación total: 1'360.000

Esto se aplicó para las placas que arrojaran el resultado de **Muy numerosos para contar (M.N.P.C)** y se buscó esto para que no se vea afectado el análisis estadístico, al no poder darle un número real a estas placas se busca un número absurdo que represente este resultado.

Aerobios mesófilos

- 1) Se toma la placa y si las colonias que se formaron no ocupan en su totalidad la placa se puede contar sin problemas. Se hace uso de la dilución que facilite el conteo, es decir que se compara las dos placas sembradas y se utiliza la dilución que facilite el conteo de las colonias, y se toma en cuenta la dilución de la placa usada, como será explicado más adelante.
- 1) Para el correcto recuento también se toma en cuenta la reacción enzimática de la placa, la coloración que toma el medio.
- 2) Las placas de petrifilm aerobios nos da una idea general de la carga microbiana en la muestra, tomando en cuenta esto, si la placa contiene un número muy elevado de colonias que dificulte el recuento total, se hace uso de las guías de interpretación que indican que, Si la placa contiene un número muy elevado de colonias, se tome dos o más cuadros del medio y se proceda a sacar un promedio del mismo para luego ser multiplicado x30 dando así un recuento estimado de colonias.
- 3) Se toma en cuenta la dilución del medio de cultivo y se procede a aumentar el número de 0 correspondientes después de la coma de acuerdo con la dilución. Ej.

Dilución: -3

Recuento de UFC: 240 UFC estimadas en placa

Recuento + dilución: 240,000 UFC en placa.

4) En caso de que el cultivo a pesar de las indicaciones dadas no sea posible llevar un recuento de este, se procede a registrarlas como **Muy numerosas para contarlas (MNPC)**.

5) Se procede a registrar los datos obtenidos en la hoja de campo.

E. colí/Coliforme

El recuento de estas placas tiene mucha diferencia con la anterior, se toma en cuenta las guías de 3M para placas de petrifilm, ya que toma en cuenta la tinción para diferenciar las colonias de E. colí y coliformes totales es decir.

E. colí: Colonias azules con gas.

Coliformes Totales: colonias rojas y azules con gas.

- 1) Se toma la placa y si las colonias que se formaron no ocupan en su totalidad la placa se puede contar sin problemas. Se hace uso de la dilución que facilite el conteo, es decir que se compara las dos placas sembradas y se utiliza la dilución que facilite el conteo de las colonias, y se toma en cuenta la dilución de la placa usada, como será explicado más adelante.
- 2) Para el conteo correcto se toma en cuenta también la reacción enzimática de la placa, la coloración que toma el medio.
- 3) Las placas de petrifilm E. colí/coliforme nos da una idea general de la contaminación microbiana en la muestra, tomando en cuenta esto, si la placa contiene un número muy elevado de colonias que dificulte el recuento total, se hace uso de las guías de interpretación que indican que, Si la placa contiene un número muy elevado de colonias, se tome dos o más cuadros del medio y se proceda a sacar un promedio

del mismo para luego ser multiplicado x20 dando así un recuento estimado de colonias.

- 4) Se toma en cuenta la dilución del medio de cultivo y se procede a aumentar el número de 0 correspondiente es después de la coma de acuerdo con la dilución. Ej.

Dilución: -3

Recuento de UFC: 240 UFC estimadas en placa

Recuento + dilución: 240,000 UFC en placa.

- 5) En caso de que el cultivo a pesar de las indicaciones dadas no sea posible llevar un recuento de este, se procede a registrarlas como **Muy numerosas para contarlas (MNPC)**.
- 6) Se procede a registrar los datos obtenidos en la hoja de campo.

Staphylococcus Aureus

Para S. Aureus es conocida por causar una serie de enfermedades sobre todo cutáneas, para su diagnóstico con el uso de 3M petrifilm es necesario el uso de un disco de confirmación que es colocado después de 48 horas de incubación, que tiñe las colonias de S. Aureus de color violeta, lo que facilita el conteo.

- 1) Se toma la placa y si las colonias que se formaron no ocupan en su totalidad la placa se puede contar sin problemas. Se hace uso de la dilución que facilite el conteo, es decir que se compara las dos placas sembradas y se utiliza la dilución que facilite el conteo de las colonias, y se toma en cuenta la dilución de la placa usada, como será explicado más adelante.

- 2) Para el conteo correcto se toma en cuenta también la reacción enzimática de la placa, la coloración que toma el medio.
- 3) En el caso de S. Aureus se toma en cuenta las colonias que se tiñen de azul violeta, y luego se coloca el disco de confirmación en el cual se resaltarán las colonias de S. Aureus, se vuelve a colocar en la incubadora y se esperan aproximadamente 3hrs.
- 4) Las placas de petrifilm Staphylococcus Aureus nos da una idea general de la contaminación microbiana en la muestra, tomando en cuenta esto, si la placa contiene un número muy elevado de colonias que dificulte el recuento total, se hace uso de las guías de interpretación que indican que, Si la placa contiene un número muy elevado de colonias, se tome dos o más cuadros del medio y se proceda a sacar un promedio del mismo para luego ser multiplicado x30 dando así un recuento estimado de colonias.
- 5) Se toma en cuenta la dilución del medio de cultivo y se procede a aumentar el número de 0 correspondiente es después de la coma de acuerdo con la dilución. Ej.

Dilución: -3

Recuento de UFC: 240 UFC estimadas en placa

Recuento + dilución: 240,000 UFC en placa.

- 6) En caso de que el cultivo a pesar de las indicaciones dadas no sea posible llevar un recuento de este, se procede a registrarlas como **Muy numerosas para contarlas (MNPC)**.
- 7) Se procede a registrar los datos obtenidos en la hoja de campo.

Mohos y levaduras

Petrifilm Mohos y levaduras sigue prácticamente los pasos de los demás medios de cultivos. En este caso se toman en cuenta las diferencias obvias que existen entre los mohos y las levaduras, ya que las levaduras forman pequeñas colonias bien delimitadas de color verde. Mientras que los mohos tienden a tomar una forma no delimitada (difusa, con centro oscuro), y son mucho más grandes que las levaduras, Ambas aparecen en las placas y hay que conocerlas diferencias.

- 1) Se toma la placa y si las colonias que se formaron no ocupan en su totalidad la placa se puede contar sin problemas. Se hace uso de la dilución que facilite el conteo, es decir que se compara las dos placas sembradas y se utiliza la dilución que facilite el conteo de las colonias, y se toma en cuenta la dilución de la placa usada, como será explicado más adelante.
- 2) Para el conteo correcto se toma en cuenta también la reacción enzimática de la placa, la coloración que toma el medio.
- 3) Las placas de petrifilm Mohos y Levaduras nos da una idea general de la contaminación microbiana en la muestra, tomando en cuenta esto, si la placa contiene un número muy elevado de colonias que dificulte el recuento total, se hace uso de las guías de interpretación que indican que, Si la placa contiene un número muy elevado de colonias se dificulta el conteo.
- 4) Se toma en cuenta la dilución del medio de cultivo y se procede a aumentar el número de 0 correspondiente es después de la coma de acuerdo con la dilución. Ej.

Dilución: -3

Recuento de UFC: 240 UFC estimadas en placa

Recuento + dilución: 240,000 UFC en placa.

- 5) En caso de que el cultivo a pesar de las indicaciones dadas no sea posible llevar un recuento de este, se procede a registrarlas como **Muy numerosas para contarlas (MNPC)**.
- 6) Se procede a registrar los datos obtenidos en la hoja de campo

3.7 Análisis estadístico

Las variables cuantitativas fueron descritas utilizando las medidas de tendencia central y de dispersión, se realizaron las pruebas de normalidad y/o homogeneidad de las varianzas, y se establecieron diferencias de medias por marca comercial por cada variable (A. Mesófilos, E. colí/coliforme, S. Aureus y Mohos/Levaduras) utilizando las pruebas de Anova simple en el caso de distribución normal, y las pruebas no paramétricas de Kruskal-wallis en las variables que no cumplieron con el supuesto de normalidad u homogeneidad de las varianzas.

Para la composición nutricional se calculó la diferencias entre marcas para cada uno de los componentes (proteínas, carbohidratos y grasas).

4 Resultados

4.1 Análisis Bromatológico

Tabla 3 Cuadro diferencial de resultados obtenidos en análisis bromatológicos

Marcas comerciales	n	Análisis de proteína (%)	Análisis de carbohidratos (%)	Análisis de grasas (%)
M.C. #1	1	15.53	3.9	3.2
M.C. #2	1	14.48	4.8	4.8
M.C. #3	1	12.32	4.5	4.2
M.C. #4	1	24.18	4.2	4.9

En la tabla 3 podemos encontrar las diferencias entre las cuatro marcas analizadas, determinando así que la marca comercial #4 contiene mayor cantidad de proteínas, en el parámetro de proteínas existe una diferencia alta. En los demás parámetros estudiados no se encontró una diferencia significativa, oscilando entre 3.9 a 4.8 el porcentaje de carbohidratos y entre 3.2 a 4.9 el porcentaje de grasas hallados en las 4 marcas estudiadas.

4.2 Microbiología

Tabla 4 Resultados obtenidos por semana.

	N	Cantidad muestra	Aerobios	Escherichia colí	Coliformes totales	Staphylococcus Aureus	Salmonella	mohos	Levaduras
semana 1	M.C.#1	1	657000	6000	34000	800	0	0	9000
	M.C.#2	1	1314000	16000	60000	3000	0	100	90000
	M.C.#3	1	42000	200	1100	0	0	0	600
	M.C.#4	1	30000	30	2630	200	0	600	500
semana 2	M.C.#1	1	180000	3000	11000	2000	0	0	1100
	M.C.#2	1	1500000	140000	260000	400	0	0	180000
	M.C.#3	1	360000	100	400	30000	0	0	500
	M.C.#4	1	21000	110	270	19900	0	0	1100
SEMANA 3	M.C.#1	1	300000	4000	100000	23000	0	0	1500
	M.C.#2	1	1800000	38000	220000	4000	0	0	42000
	M.C.#3	1	250000	200	1200	500	0	0	500
	M.C.#4	1	5600	100	500	600	0	100	700
total de muestras		12							

Nota: Para representar resultados negativos, es decir que no hubo presencia de microorganismos se utilizara el número 0.

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos en las semanas de estudio, a través del recuento de UFC en cada una de las muestras obtenidas, a pesar de que la cantidad de microorganismos Aerobios mesófilos es alta, aun así no supera el límite de rechazo establecido por la INEN 2346 como se muestra en la Tabla 5. En la que nos basaremos para determinar si las muestras cumplen con la norma INEN.

Tabla 5 Limites de aceptación y de rechazo según INEN 2346

Requisito microbiológico INEN 2346		
	Aceptación	rechazo
Aerobios	100000	10000000
Escherichia coli	100	1000
Staphylococcus Aureus	100	500
Salmonella	0	

Para determinar la calidad microbiológica de las muestras estudiadas, se realiza una conversión de la tabla INEN con notación científica (1.0×10^n) a números enteros para facilitar el análisis estadístico para determinar si el recuento de UFC encontrados supera el límite permitido para ser acto para el consumo, recalcamos

que estas normas son utilizadas para el consumo humano, pero el principio básico es el mismo.

Tabla 6 Marcas que cumplen con todos los requisitos microbiológicos.

	SEM1	SEM2	SEM3
M.C.#1	R	R	R
M.C.#2	R	R	R
M.C.#3	R	R	A
M.C.#4	A	R	R

R= Reprobado A= Aprobados

La tabla 6 muestra las marcas que han cumplido con todos los requisitos por lo tanto son aptas para su comercialización y consumo, en el estudio se le realizaron pruebas a 4 marcas de alimento comercializadas en la ciudad de Guayaquil, a cada una de las marcas se les hicieron pruebas durante 3 semanas, la primera semana la M.C.#4 cumplió con todos los requisitos microbiológico; en la semana 3 la M.C.#3 también cumplió los requisitos necesarios siendo estas dos marcas las únicas en ser aptas para comercializarse, sin embargo es relevante el hecho de que de que en 4 marcas super premium estudiadas en la primera semana solo se haya encontrado 1 marca dentro de nivel aceptable. En la segunda semana ninguna cumplió con las normas, y en la tercera semana solo la marca 3 cumplió con los requerimientos.

Tabla 7 Porcentaje de muestras aceptadas y rechazadas según los parámetros microbiológicos.

	Aceptadas (%)	Rechazadas (%)	Total (%) de las 12 muestras
Aerobios Mesófilos	100,0	0,0	100%
Escherichia Colí	8,33	91,7	100%
Staphylococcus Aureus	75,00	25,0	100%
Salmonella	100,00	0,0	100%

4.2.1 Análisis de calidad microbiológica de las marcas estudiadas.

Tabla 8 Distribución porcentual de calidad microbiológica.

	microorganismos	Rechazo	Aceptable	Buena	Rechazo (%)	Aceptable (%)	Buena (%)
marca 1	Aerobios	0	0	3	0,0	0,0	100,0
	Escherichia Colí	3	0	0	100,0	0,0	0,0
	Staphylococcus Aureus	3	0	0	100,0	0,0	0,0
	Salmonella	0	0	3	0,0	0,0	100,0
marca 2	Aerobios	0	3	0	0,0	100,0	0,0
	Escherichia Colí	3	0	0	100,0	0,0	0,0
	Staphylococcus Aureus	2	1	0	66,7	33,3	0,0
	Salmonella	0	0	3	0,0	0,0	100,0
marca 3	Aerobios	0	0	3	0,0	0,0	100,0
	Escherichia Colí	0	2	1	0,0	66,7	33,3
	Staphylococcus Aureus	1	1	1	33,3	33,3	33,3
	Salmonella	0	0	3	0,0	0,0	100,0
marca 4	Aerobios	0	0	3	0,0	0,0	100,0
	Escherichia Colí	0	1	2	0,0	33,3	66,7
	Staphylococcus Aureus	2	1	0	66,7	33,3	0,0
	Salmonella	0	0	3	0,0	0,0	100,0

Tabla 9 Resumen de porcentajes

Resumen de calidad microbiológica en Dietas BARF				
	Rechazo	aceptable	Buena	Total
Marcas	25%	75%	0%	100%

En la tabla 9 para determinar la categoría en la que se encuentra cada marca se consideró el contenido de la tabla 8 en la cual se encuentran distribuidos los porcentajes dentro de cada categoría, se determina que las 4 marcas estudiadas nos dan el 100% de las muestras indistintamente del muestreo seriado que se realizó; tomando en cuenta que en la tabla 8 la marca dos mantiene el porcentaje de aerobios dentro de la categoría de aceptable en las 3 semanas, mientras en las 3 semanas los niveles de Escherichia colí se encuentran dentro de los niveles de rechazo, a su vez los porcentajes de Staphylococcus Aureus se dividen con 2

muestras en rechazo y una en aceptabilidad, nos proporciona la idea de que su calidad microbiológica no promedia para entrar en nivel general de “aceptación”.

Mientras que en otras marcas mantienen una distribución uniforme los que permiten colocarse dentro del rango aceptable, aun así ninguna marca estudiada puede entrar en el criterio de “buena” debido a que para esto se necesita cumplir las INEN en todos sus parámetros.



Gráfico 2 Resumen gráfico de porcentajes.

4.2.2 Microorganismos Aerobios por marca y semana.

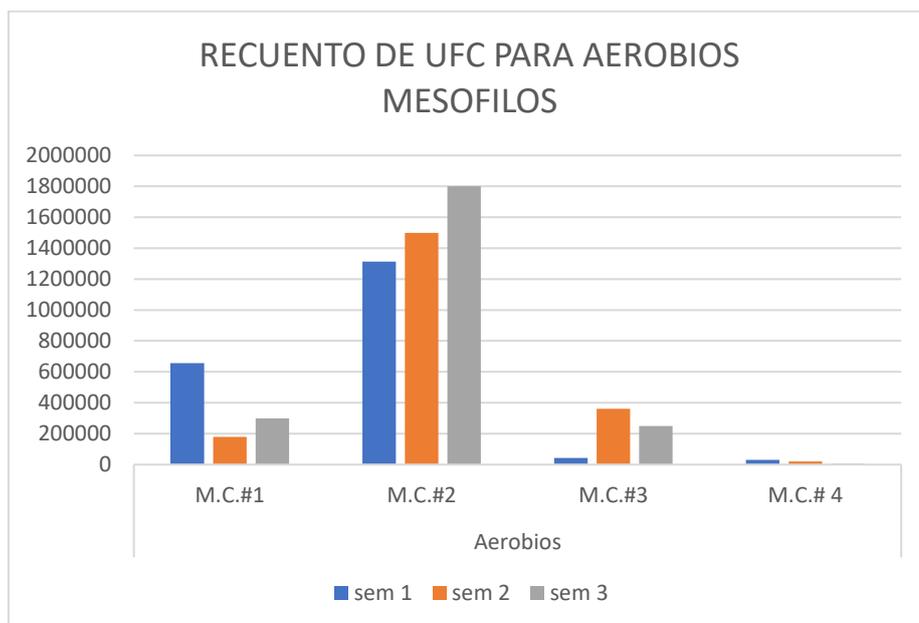


Gráfico 3 Presencia y alcance de Aerobios mesófilos.

En el gráfico 2 podemos notar que en las 3 semanas de estudio la M.C#2 supera a las 3 marcas, mientras que la M.C.#1 y 3 se mantienen en un rango muy cercano; la M.C.#4 mantiene niveles muy bajos con respecto a las marcas antes mencionadas.

4.2.3 Microorganismos Escherichia colí por marca y semana.

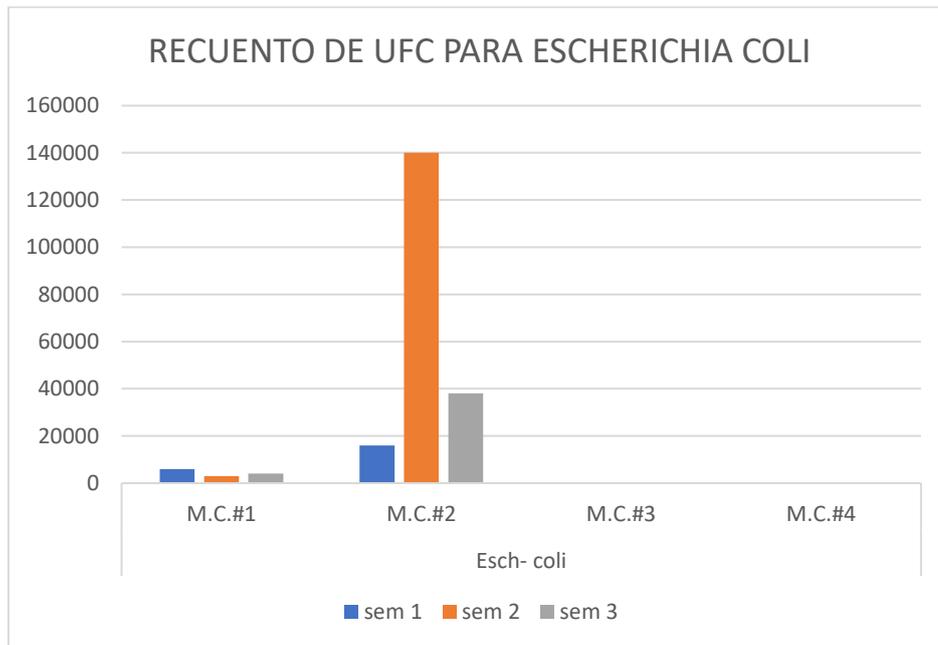


Gráfico 4 Presencia y alcance de Escherichia colí.

El gráfico 3 muestra una clara diferencia de M.C.#2 supera por notablemente en comparación con las otras 3 muestras que fueron analizadas dicha semana, sobre todo en la semana 2 del estudio en la cual el recuento de Escherichia colí supera notablemente a las otras marcas estudiadas.

4.3 Microorganismos Coliformes totales por marca y semana.

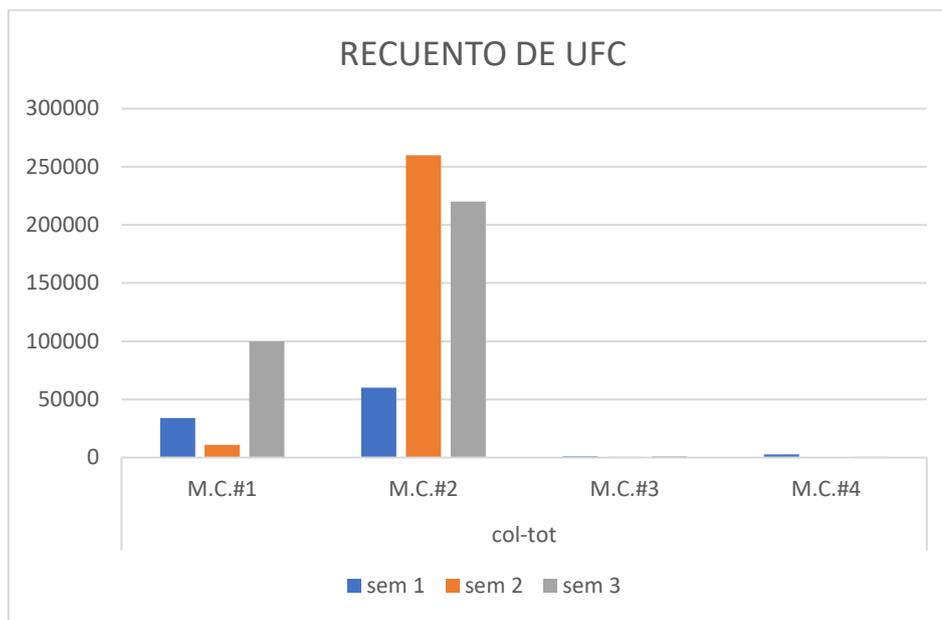


Gráfico 5 Presencia y alcance de coliformes totales.

En el gráfico 4 se muestran el recuento de coliformes totales encontrados en la semana de estudio, donde la marca#2 es nuevamente la que alcanza la mayor cantidad coliformes totales.

4.4 Microorganismos Staphylococcus Aureus por marca y semana.

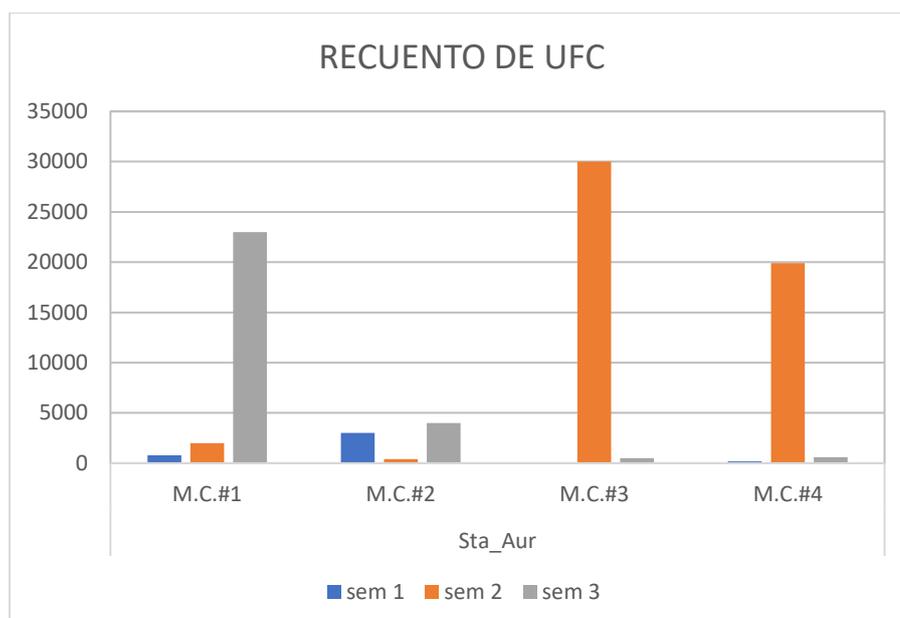


Gráfico 6 Presencia y alcance de Staphylococcus Aureus.

En el gráfico 5 podemos notar que la presencia de Staphylococcus es alta en las marcas 3 y 4 en la segunda semana de estudio, mientras que la marca 1 tiene su pico más alto en la tercera semana del estudio, la marca 2 al contrario de los anteriores valores encontrados esta vez se encuentra en un rango aceptable e incluso mucho menor de lo esperado. Aun así como se estipula en la norma INEN 2346 las normas deben cumplir con todos los requisitos ya que al no cumplir con uno de los de los parámetros las muestras deben ser rechazadas.

4.5 Microorganismos Mohos por marca y semana.

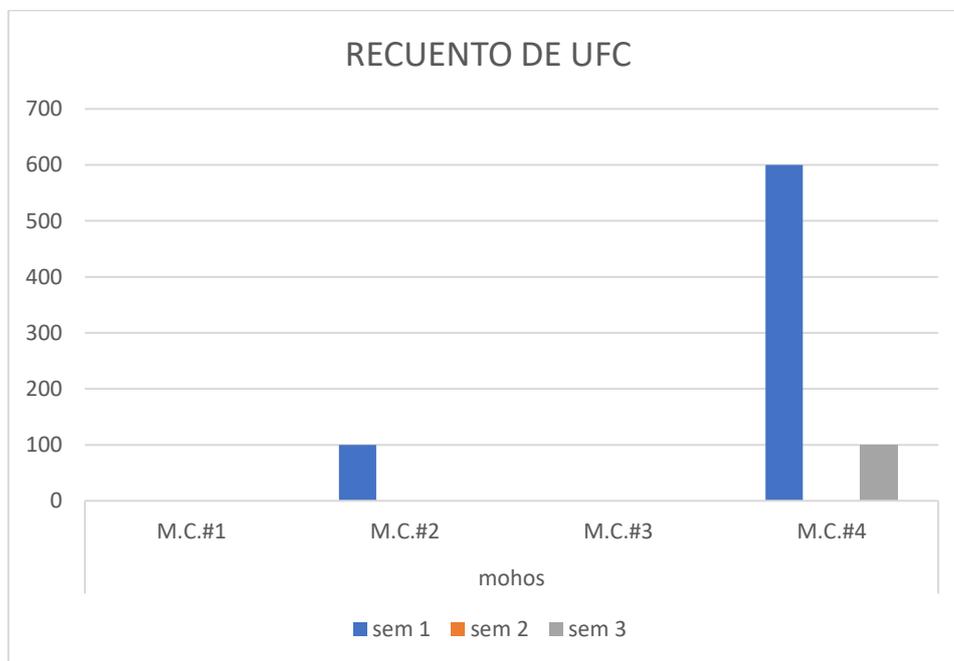


Gráfico 7 Distribución y alcance de Mohos.

La presencia de mohos y levaduras son indicadores del estado en que se encuentra en el alimento pero no suelen ser un riesgo para la salud alimentaria, aun así la presencia de estos puede indicar en que grado de descomposición está el producto debido que la presencia y cantidad son importantes. En este caso la mayor cantidad de UFC se encontró la primera semana en la marca#4.

4.6 Microorganismos Levaduras por marca y semana.

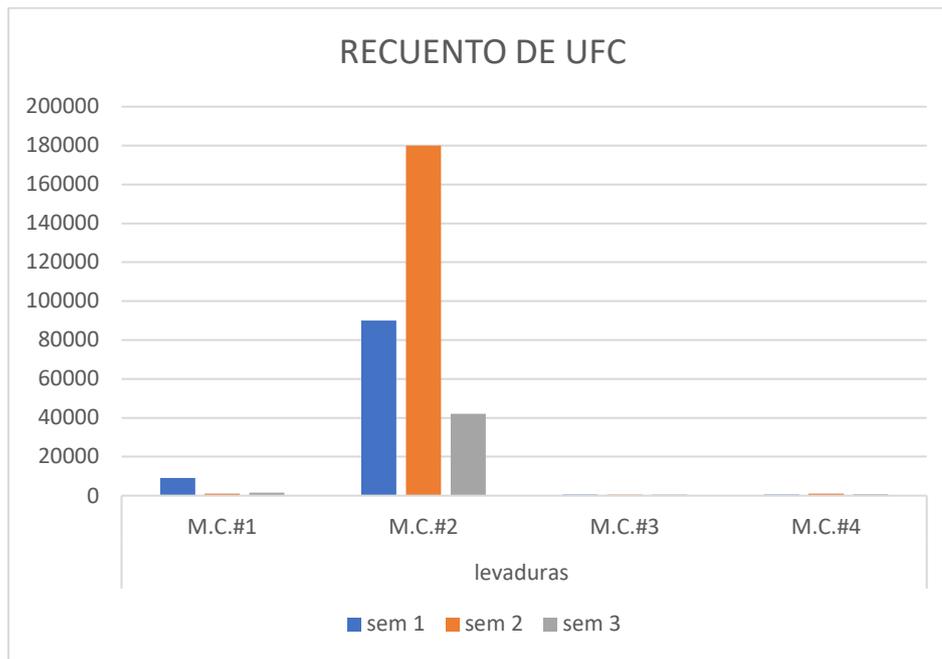


Gráfico 8 Distribución y alcance de levaduras.

Las levaduras siguen el mismo principio que los mohos debido a que pertenecen a la misma familia, y normalmente pueden encontrarse en cualquier lugar, la marca#2 mantiene niveles altos de UFC siendo importante la presencia de estos.

4.6.1 Análisis estadístico de resultados obtenidos

En la siguientes tablas se utilizan las medidas de tendencia central para determinar estadísticamente si existe una significancia entre los grupos estudiados. En este caso se describen los resultados obtenidos una vez terminadas las 3 semanas de estudio.

4.6.1.1 Aerobios Mesófilos

Tabla 10 Análisis estadístico descriptivo de Aerobios mesófilos, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

		Descriptivos		
Marca Comercial			Estadístico	Error estándar
Aerobios Totales	M.C.#1	Media	379000,00	143251,527
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-237361,57	
		Límite superior	995361,57	
		Mediana	300000,00	
		Varianza	61563000000,000	
		Desviación estándar	248118,923	
		Mínimo	180000	
		Máximo	657000	
		Rango	477000	
	M.C.#2		Media	1538000,00
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	928844,05	
		Límite superior	2147155,95	
		Mediana	1500000,00	
		Varianza	60132000000,000	
		Desviación estándar	245218,270	
		Mínimo	1314000	
		Máximo	1800000	
		Rango	486000	
M.C.#3			Media	217333,33
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-183847,86	
		Límite superior	618514,52	
		Mediana	250000,00	
		Varianza	26081333333,333	
		Desviación estándar	161497,162	
		Mínimo	42000	
		Máximo	360000	
		Rango	318000	
	M.C.#4		Media	18866,67
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	-11785,35	
		Límite superior	49518,68	
		Mediana	21000,00	
		Varianza	152253333,333	
		Desviación estándar	12339,098	
		Mínimo	5600	
		Máximo	30000	
		Rango	24400	

En la tabla 5 se busca determinar una media de los resultados obtenidos en las 3 semanas de estudio, determinando cuál de las marcas estudiadas sería la que tuviera mayor cantidad de microorganismos Aerobios, en este caso la M.C.# 2

con aproximadamente 1'538.000 daría el resultado más alto del estudio; más adelante en la tabla 7 se demostrara si existe alguna significancia entre la distribución de los datos.

Tabla 11 Prueba de Shapiro-Wilk para Aerobios Mesófilos

Pruebas de normalidad para Aerobios Totales				
		Shapiro-Wilk		
Marca Comercial		Estadístico	gl	Sig.
Aerobios Totales	M.C.#1	,924	3	,466
	M.C.#2	,982	3	,743
	M.C.#3	,969	3	,664
	M.C.#4	,978	3	,713

La tabla 6 indica que los datos son distribuidos de forma normal, ya que todas las marcas obtuvieron un valor P mayor a 0.05. se corrió un ANOVA para confirmar la Hipotesis de homogeneidad.

Tabla 12 Prueba de ANOVA para Aerobios Mesófilos.

ANOVA					
Aerobios Totales					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4,193E+12	3	1,398E+12	37,791	,000
Dentro de grupos	2,959E+11	8	3,698E+10		
Total	4,489E+12	11			

La tabla 7 muestra que el valor encontrado por la prueba ANOVA en menor a 0.05 lo que rechaza el supuesto de normalidad que existe dentro de las cuatro marcas que fueron analizadas por las prueba.

Tabla 13 Cuadro de comparaciones Post-hoc para Aerobios Mesófilos.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Aerobios Totales						
HSD Tukey						
(I) Marca Comercial		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
M.C.#1	M.C.#2	-1159000,000*	157018,357	,000	-1661828,05	-656171,95
	M.C.#3	161666,667	157018,357	,738	-341161,38	664494,72
	M.C.#4	360133,333	157018,357	,179	-142694,72	862961,38
M.C.#2	M.C.#1	1159000,000*	157018,357	,000	656171,95	1661828,05
	M.C.#3	1320666,667*	157018,357	,000	817838,62	1823494,72
	M.C.#4	1519133,333*	157018,357	,000	1016305,28	2021961,38
M.C.#3	M.C.#1	-161666,667	157018,357	,738	-664494,72	341161,38
	M.C.#2	-1320666,667*	157018,357	,000	-1823494,72	-817838,62
	M.C.#4	198466,667	157018,357	,608	-304361,38	701294,72
M.C.#4	M.C.#1	-360133,333	157018,357	,179	-862961,38	142694,72
	M.C.#2	-1519133,333*	157018,357	,000	-2021961,38	-1016305,28
	M.C.#3	-198466,667	157018,357	,608	-701294,72	304361,38

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

La tabla 8 indica que existe diferencia de medias en la M.C.#2 ya que el valor P resulta menor a 0.05 lo que nos indica que se encuentra en un grupo superior a las demás marcas estudiadas.

Tabla 14 Resumen de HSD Tukey para establecer los subconjuntos hallados dentro de los análisis de Aerobios Mesófilos

Aerobios Totales			
HSD Tukey ^a			
Marca Comercial	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
BG	3	18866,67	
PP	3	217333,33	
NC	3	379000,00	
PL	3		1538000,00
Sig.		,179	1,000

*Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Se encontraron dos Subconjuntos debido a que 3 marcas comerciales se encuentran dentro de una misma media (M.C.#1,3 Y 4) y la M.C.#2 se encuentra en una media completamente distinta.

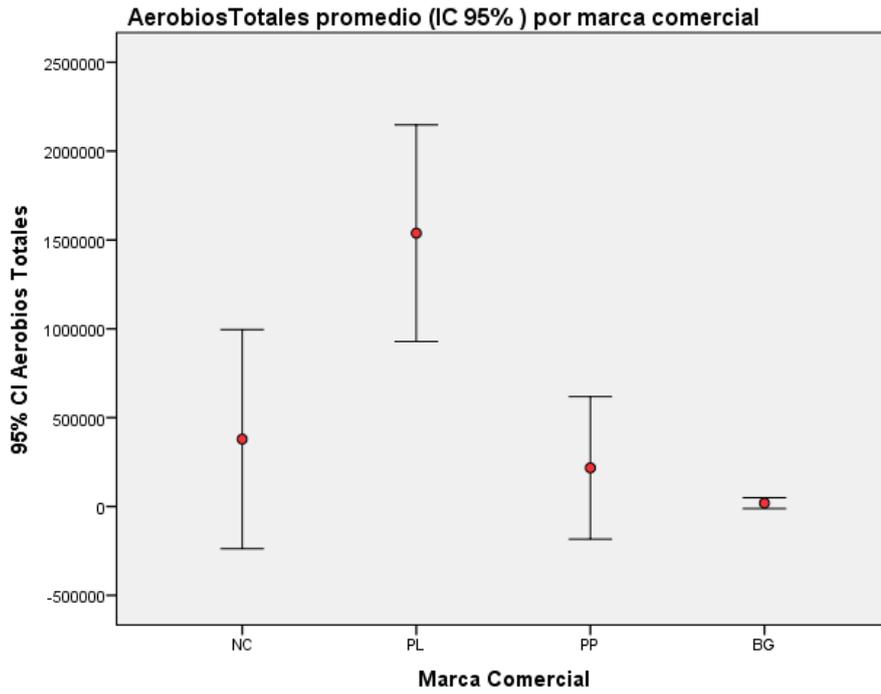


Gráfico 9 Distribución de datos de Aerobios Mesófilos

4.6.1.2 Escherichia Colí

Tabla 15 Análisis estadístico descriptivo de Escherichia Colí, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

		Descriptivos		Estadístico	Error estándar
Marca Comercial					
Escherichia colí	M.C.#1	Media		4333,33	881,917
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	538,75	
			Límite superior	8127,92	
		Mediana		4000,00	
		Varianza		2333333,333	
		Desviación estándar		1527,525	
		Mínimo		3000	
		Máximo		6000	
		Rango		3000	
		M.C.#2	M.C.#2	Media	
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior			-99687,41	
	Límite superior			229020,74	
Mediana				38000,00	
Varianza				437733333,333	
Desviación estándar				66161,419	
Mínimo				16000	
Máximo				140000	
Rango				124000	
M.C.#3	M.C.#3			Media	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	23,24	
			Límite superior	310,09	
		Mediana		200,00	
		Varianza		3333,333	
		Desviación estándar		57,735	
		Mínimo		100	
		Máximo		200	
		Rango		100	
		M.C.#4	M.C.#4	Media	
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior			-28,28	
	Límite superior			188,28	
Mediana				100,00	
Varianza				1900,000	
Desviación estándar				43,589	
Mínimo				30	
Máximo				110	
Rango		80			

En la tabla 10 que indica la media encontrada entre las marcas estudiadas, se halla en la M.C#2 tiene un valor de media de 64666,67 lo que indica que es mucho mayor que las medias de las otras marcas estudiadas.

Tabla 16 Prueba de Shapiro-Wilk para Escherichia Colí

Pruebas de normalidad para Escherichia colí				
		Shapiro-Wilk		
Marca Comercial		Estadístico	gl	Sig.
Escherichia colí	M.C.#1	,964	3	,637
	M.C.#2	,878	3	,319
	M.C.#3	,750	3	,000
	M.C.#4	,842	3	,220

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 11 se realizó la prueba de Shapiro-wilk que nos indica que no todos los valores se encuentran en el mismo nivel de significancia estadística (valor $P < 0.05$) en la M.C.#3 lo que daría a entender que los datos no corren con normalidad estadística, es necesario el uso de la Hipotesis alternativa.

Tabla 17 Prueba estadística de Levene para Escherichia Colí

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Escherichia colí			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
12,535	3	8	,002

El valor P obtenido en la prueba de Levene es < 0.05 lo que rechaza el supuesto de homogeneidad, es decir la Hipotesis nula es rechazada, o en este caso es aceptada la Hipotesis alternativa ya que los datos no corren con normalidad. Se realizó una Anova para contrastar el resultado de esta.

Tabla 18 Prueba de Anova para Escherichia Colí.

ANOVA

Escherichia Colí.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9,005E+09	3	3,002E+09	2,742	,113
Dentro de grupos	8,759E+09	8	1,095E+09		
Total	1,776E+10	11			

El resultado del ANOVA nos da un valor $P > 0.05$ se acepta la Hipotesis alternativa.

Tabla 19 cuadro de comparaciones Post- hoc para Escherichia Colí.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Escherichia colí		HSD Tukey				
(I) Marca Comercial		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza Límite inferior Límite superior	
M.C.#1	M.C.#2	-60333,333	27017,500	,194	-146852,88	26186,21
	M.C.#3	4166,667	27017,500	,999	-82352,88	90686,21
	M.C.#4	4253,333	27017,500	,998	-82266,21	90772,88
M.C.#2	M.C.#1	60333,333	27017,500	,194	-26186,21	146852,88
	M.C.#3	64500,000	27017,500	,157	-22019,55	151019,55
	M.C.#4	64586,667	27017,500	,156	-21932,88	151106,21
M.C.#3	M.C.#1	-4166,667	27017,500	,999	-90686,21	82352,88
	M.C.#2	-64500,000	27017,500	,157	-151019,55	22019,55
	M.C.#4	86,667	27017,500	1,000	-86432,88	86606,21
M.C.#4	M.C.#1	-4253,333	27017,500	,998	-90772,88	82266,21
	M.C.#2	-64586,667	27017,500	,156	-151106,21	21932,88
	M.C.#3	-86,667	27017,500	1,000	-86606,21	86432,88

El análisis comparativo entre los grupos indica que ninguna de las marcas tiene diferencias significativas dentro de los datos, ya que ninguno de los valores P encontrados es < 0.05 .

Tabla 20 Resumen de HSD Tukey para establecer los subconjuntos hallados dentro de los análisis de Escherichia Colí.

Escherichia colí

HSD Tukey^a

Marca Comercial	N	Subconjunto para alfa = 0.05
M.C.#4	3	80,00
M.C.#3	3	166,67
M.C.#1	3	4333,33
M.C.#2	3	64666,67
Sig.		,156

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

La tabla 15 resume los subconjuntos encontrados dentro de los grupos analizados, en este caso se encontró que todos los grupos se encuentran dentro de un mismo subconjunto debido a que las medias no están muy dispersas revisar el grafico.

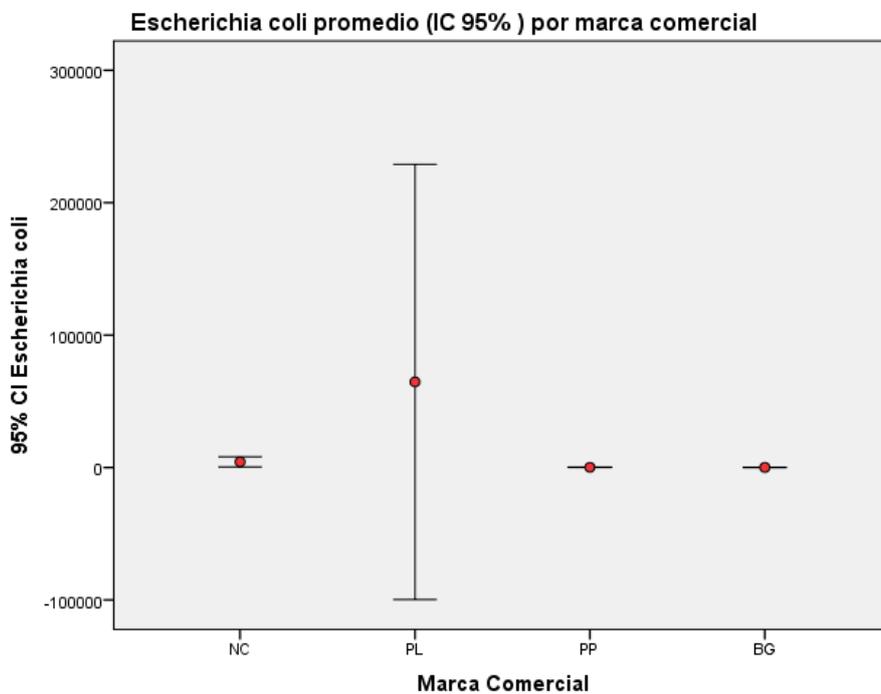


Gráfico 10 Distribución de datos para Escherichia Colí.

4.6.1.3 Coliformes totales

Tabla 21 Análisis estadístico descriptivo de Coliformes Totales, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

Descriptivos Coliformes totales				
Marca Comercial			Estadístico	Error estándar
Coliformes Totales	M.C.#1	Media	48333,33	26672,916
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-66430,96	
		Límite superior	163097,63	
		Mediana	34000,00	
		Varianza	2134333333,333	
		Desviación estándar	46198,846	
		Mínimo	11000	
		Máximo	100000	
		Rango	89000	
M.C.#2		Media	180000,00	61101,009
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-82896,42	
		Límite superior	442896,42	
		Mediana	220000,00	
		Varianza	11200000000,000	
		Desviación estándar	105830,052	
		Mínimo	60000	
		Máximo	260000	
		Rango	200000	
M.C.#3		Media	900,00	251,661
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-182,81	
		Límite superior	1982,81	
		Mediana	1100,00	
		Varianza	190000,000	
		Desviación estándar	435,890	
		Mínimo	400	
		Máximo	1200	
		Rango	800	
M.C.#4		Media	1133,33	751,273
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-2099,13	
		Límite superior	4365,80	
		Mediana	500,00	
		Varianza	1693233,333	
		Desviación estándar	1301,243	
		Mínimo	270	
		Máximo	2630	
		Rango	2360	

La tabla 16 muestra los valores de la media encontradas en los grupos estudiados que indica que, el valor promedio de cada una de las marcas se puede notar que el valor de la media mayor le pertenece a la M.C.#2 con un valor promedio de 180.000,00

Tabla 22 Prueba de Shapiro-Wilk para Coliformes Totales.

Pruebas de normalidad para Coliformes totales				
Marca Comercial		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Coliformes Totales	M.C.#1	,928	3	,480
	M.C.#2	,893	3	,363
	M.C.#3	,842	3	,220
	M.C.#4	,822	3	,169

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 17 la prueba de Shapiro-Wilk denota que los datos corren con normalidad debido a que ninguno de los valores P resultantes es menor a 0.05 y todos forman un supuesto de homogeneidad.

Tabla 23 Prueba estadístico de Levene para Coliformes Totales

Prueba de homogeneidad de varianzas				
Coliformes Totales				
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
8,668	3	8	,007	

Se corrió la prueba de Levene para determinar si el supuesto de normalidad es correcto. El valor p hallado en la prueba es menor a 0.05 la Hipotesis nula es rechazada. Se realizará una ANOVA para confirmar.

Tabla 24 Prueba de ANOVA para Coliformes Totales

ANOVA					
Coliformes Totales					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6,441E+10	3	2,147E+10	6,440	,016
Dentro de grupos	2,667E+10	8	3,334E+09		
Total	9,109E+10	11			

El supuesto de normalidad de los datos es rechazado.

Tabla 25 Cuadro de comparaciones Post-hoc para Coliformes Totales.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:
Coliformes Totales

HSD Tukey

(I) Marca Comercial		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
M.C.#1	M.C.#2	-131666,667	47145,549	,089	-282643,31	19309,98
	M.C.#3	47433,333	47145,549	,751	-103543,31	198409,98
	M.C.#4	47200,000	47145,549	,753	-103776,64	198176,64
M.C.#2	M.C.#1	131666,667	47145,549	,089	-19309,98	282643,31
	M.C.#3	179100,000*	47145,549	,022	28123,36	330076,64
	M.C.#4	178866,667*	47145,549	,022	27890,02	329843,31
M.C.#3	M.C.#1	-47433,333	47145,549	,751	-198409,98	103543,31
	M.C.#2	-179100,000*	47145,549	,022	-330076,64	-28123,36
	M.C.#4	-233,333	47145,549	1,000	-151209,98	150743,31
M.C.#4	M.C.#1	-47200,000	47145,549	,753	-198176,64	103776,64
	M.C.#2	-178866,667*	47145,549	,022	-329843,31	-27890,02
	M.C.#3	233,333	47145,549	1,000	-150743,31	151209,98

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

El análisis comparativo realizado para encontrar diferencias significativas en grupo se halló que la M.C.#2 tiene un valor P menor a 0.05 en comparación con la M.C.#3 Y 4, Lo que indica que existe significancia dentro de los grupos.

Tabla 26 Prueba de HSD Tukey para determinación de subconjuntos en Coliformes totales

Coliformes Totales			
HSD Tukey ^a			
Marca Comercial	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
M.C.#3	3	900,00	
M.C.#4	3	1133,33	
M.C.#1	3	48333,33	48333,33
M.C.#2	3		180000,00
Sig.		,751	,089

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Se hallaron dos subconjuntos, en el cual la M.C.#1 se encuentra dentro del rango de ambos subconjuntos es decir que tiene relación con ambos.

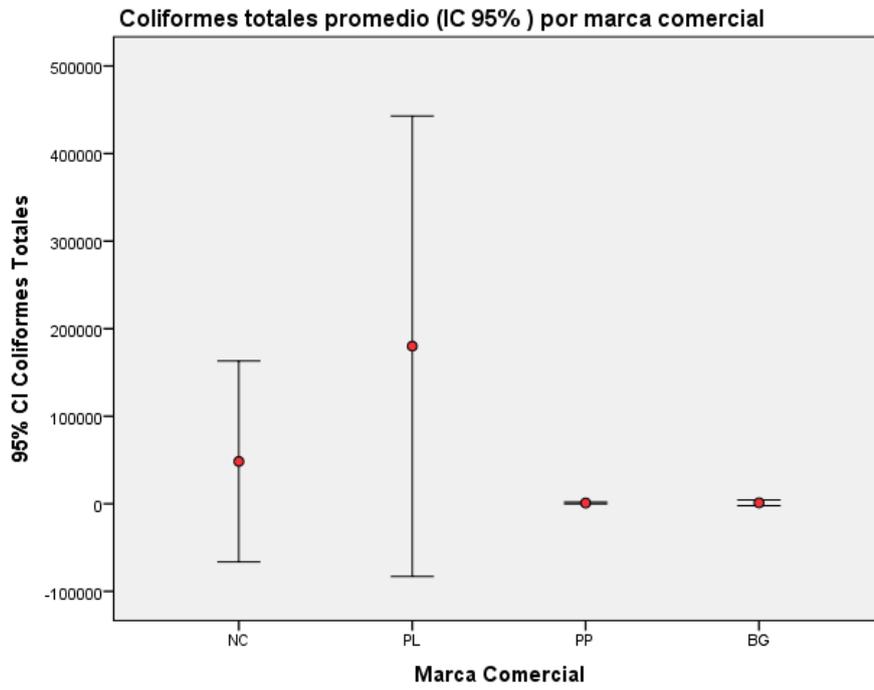


Gráfico 11 Distribución de datos de Coliformes Totales

4.6.1.4 Staphylococcus Aureus

Tabla 27 Análisis estadístico descriptivo de Staphylococcus Aureus, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

Descriptivos					
Marca Comercial			Estadístico	Error estándar	
Staphylococcus Aureus	M.C.#1	Media	8600,00	7208,329	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-22414,93	
	Límite superior		39614,93		
		Mediana	2000,00		
		Varianza	155880000,000		
		Desviación estándar	12485,191		
		Mínimo	800		
		Máximo	23000		
		Rango	22200		
	M.C.#2	Media		2466,67	1072,898
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-2149,64
		Límite superior		7082,98	
			Mediana	3000,00	
		Varianza	3453333,333		
		Desviación estándar	1858,315		
		Mínimo	400		
		Máximo	4000		
		Rango	3600		
M.C.#3		Media		10166,67	9917,717
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	-32505,83	
		Límite superior	52839,16		
		Mediana	500,00		
		Varianza	295083333,333		
		Desviación estándar	17177,990		
		Mínimo	0		
		Máximo	30000		
		Rango	30000		
	M.C.#4	Media		6900,00	6501,026
95% de intervalo de confianza para la media			Límite inferior	-21071,66	
		Límite superior	34871,66		
		Mediana	600,00		
		Varianza	126790000,000		
		Desviación estándar	11260,107		
		Mínimo	200		
		Máximo	19900		
		Rango	19700		

La tabla 22 de los análisis descriptivos muestra las medias encontradas en los grupos estudiados, se encuentra en la M.C.#3 un valor de 10.166,67 lo que lo coloca en un grupo diferente a los demás. Se realizará pruebas de normalidad para formular un supuesto de homogeneidad.

Tabla 28 Prueba de Shapiro - Wilk para Staphylococcus Aureus

		Pruebas de normalidad		
		Shapiro-Wilk		
Marca Comercial		Estadístico	gl	Sig.
Staphylococcus Aureus	M.C.#1	,790	3	,092
	M.C.#2	,938	3	,520
	M.C.#3	,762	3	,028
	M.C.#4	,765	3	,034

a. Corrección de significación de Lilliefors

La prueba de Shapiro-Wilk demuestra que los datos no corren con normalidad lo que no nos permite formular un supuesto de homogeneidad, se realizaran las pruebas de homogeneidad, para determinar si se acepta la Hipotesis o se rechaza la Hipotesis

Tabla 29 Prueba estadística de Levene para Staphylococcus Aureus.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Staphylococcus Aureus			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
4,536	3	8	,039

se realiza la prueba de Levene que indica que rechaza la Hipotesis nula, ya que su valor da menor a 0.05. se correrá una ANOVA para confirmar si la distribución de los datos es aceptada.

Tabla 30 Prueba de ANOVA para Staphylococcus Aureus.

ANOVA					
Staphylococcus Aureus					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9,943E+07	3	3,314E+07	,228	,874
Dentro de grupos	1,162E+09	8	1,453E+08		
Total	1,262E+09	11			

El valor de la prueba de ANOVA es mayor a 0.05 lo que indica que no hay diferencias significativa en la distribución de los datos de los grupos de Staphylococcus Aureus. Las pruebas realizadas causan controversia entre los resultados por lo que se realizara una prueba no paramétrica.

Tabla 31 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis para Staphylococcus Aureus

Resumen de contrastes de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Estafilococcus aureus es la misma entre las categorías de Marca Comercial.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,838	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Tabla 32 Cuadro de comparaciones Post-hoc para Staphylococcus Aureus.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Staphylococcus Aureus

HSD Tukey

(I) Marca Comercial		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
M.C.#1	M.C.#2	6133,333	9842,143	,922	-25384,67	37651,34
	M.C.#3	-1566,667	9842,143	,998	-33084,67	29951,34
	M.C.#4	1700,000	9842,143	,998	-29818,01	33218,01
M.C.#2	M.C.#1	-6133,333	9842,143	,922	-37651,34	25384,67
	M.C.#3	-7700,000	9842,143	,860	-39218,01	23818,01
	M.C.#4	-4433,333	9842,143	,968	-35951,34	27084,67
M.C.#3	M.C.#1	1566,667	9842,143	,998	-29951,34	33084,67
	M.C.#2	7700,000	9842,143	,860	-23818,01	39218,01
	M.C.#4	3266,667	9842,143	,986	-28251,34	34784,67
M.C.#4	M.C.#1	-1700,000	9842,143	,998	-33218,01	29818,01
	M.C.#2	4433,333	9842,143	,968	-27084,67	35951,34
	M.C.#3	-3266,667	9842,143	,986	-34784,67	28251,34

No hay diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 33 Cuadro de resumen para subconjunto de Staphylococcus Aureus

Staphylococcus Aureus		
HSD Tukey ^a		
		Subconjunto para alfa =
Marca	N	0.05
Comercial		1
M.C.#2	3	2466,67
M.C.#4	3	6900,00
M.C.#1	3	8600,00
M.C.#3	3	10166,67
Sig.		,860

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

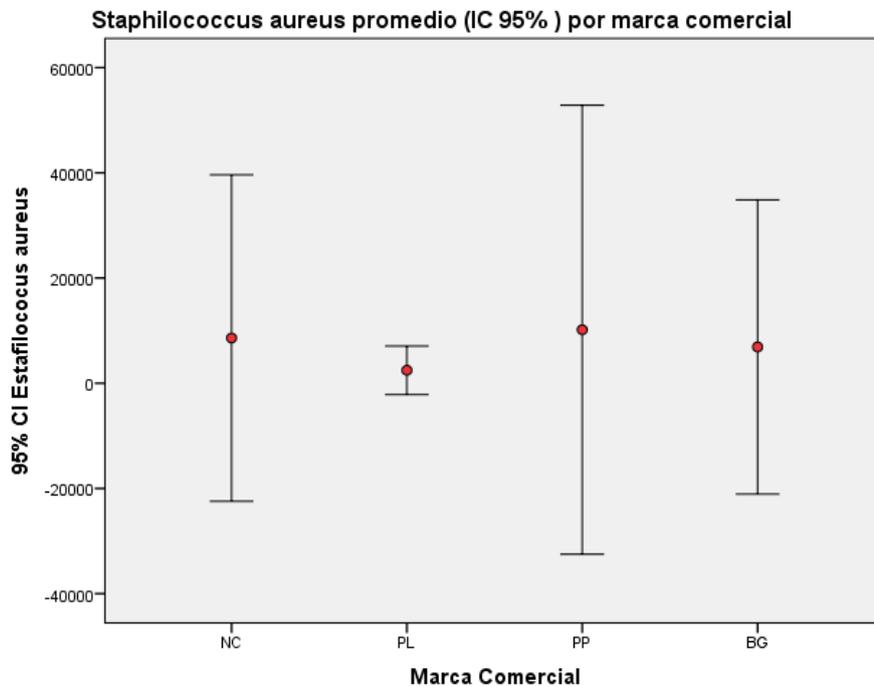


Gráfico 12 Distribución de datos para Staphylococcus Aureus.

4.6.1.5 Mohos

Tabla 34 Análisis estadístico descriptivo de Mohos, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

Descriptivos ^{a,b}						
Marca Comercial			Estadístico	Error estándar		
Mohos	M.C.#2	Media	33,33	33,333		
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-110,09		
			Límite superior	176,76		
		Mediana	0,00			
		Varianza	3333,333			
		Desviación estándar	57,735			
		Mínimo	0			
		Máximo	100			
		Rango	100			
		M.C.#4	Media	233,33	185,592	
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-565,21	
				Límite superior	1031,87	
			Mediana	100,00		
	Varianza		103333,333			
	Desviación estándar		321,455			
	Mínimo	0				
	Máximo	600				
	Rango	600				

a. Mohos es constante cuando Marca Comercial = NC. Se ha omitido.

b. Mohos es constante cuando Marca Comercial = PP. Se ha omitido.

En el caso de los Mohos y levaduras se encuentra da positivo solo en dos marcas, en las cuales se realizó el conteo, el valor mayor se encuentra en la M.C.#4

Tabla 35 Pruebas de Normalidad Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk para Mohos.

Pruebas de normalidad ^{a,c}							
		Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
Marca Comercial		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Mohos	M.C.#2	,385	3		,750	3	0,000
	M.C.#4	,328	3		,871	3	,298

a. Mohos es constante cuando Marca Comercial = NC. Se ha omitido.

b. Corrección de significación de Lilliefors

c. Mohos es constante cuando Marca Comercial = PP. Se ha omitido.

Tabla 36 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis para Mohos

Resumen de contrastes de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Mohos es la misma entre las categorías de Marca Comercial.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,196	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

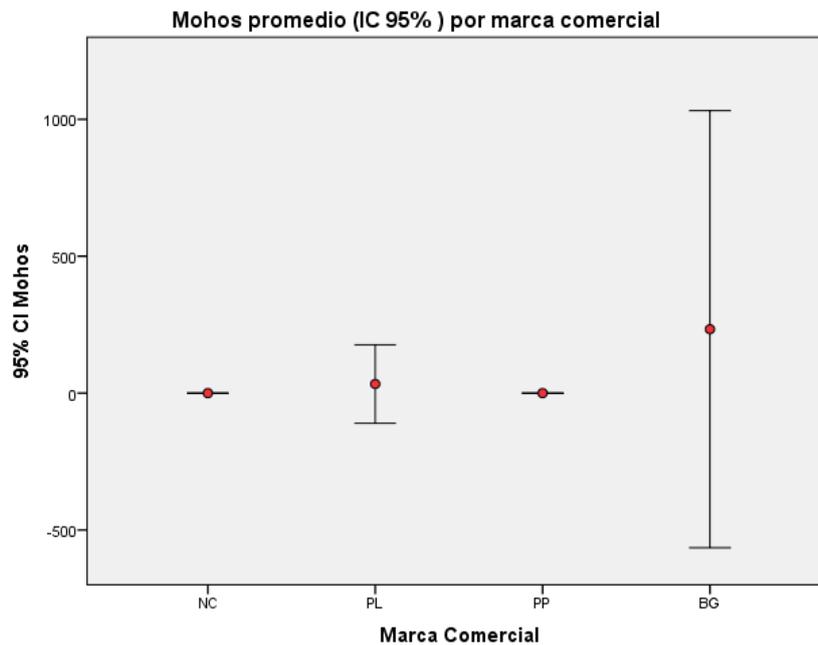


Gráfico 13 Distribución de datos para Mohos

4.6.1.6 Levaduras

Tabla 37 Análisis estadístico descriptivo de Levaduras, media encontrada en las 3 semanas de estudio.

Descriptivos				
Marca Comercial			Estadístico	Error estándar
Levaduras	M.C.#1	Media	3866,67	2569,263
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior: -7187,98 Límite superior: 14921,31	
		Mediana	1500,00	
		Varianza	19803333,333	
		Desviación estándar	4450,094	
		Mínimo	1100	
		Máximo	9000	
		Rango	7900	

M.C.#2	Media		104000,00	40447,497
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-70031,53	
		Límite superior	278031,53	
	Mediana		90000,00	
	Varianza		4908000000,000	
	Desviación estándar		70057,120	
	Mínimo		42000	
	Máximo		180000	
Rango		138000		
M.C.#3	Media		533,33	33,333
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	389,91	
		Límite superior	676,76	
	Mediana		500,00	
	Varianza		3333,333	
	Desviación estándar		57,735	
	Mínimo		500	
	Máximo		600	
Rango		100		
M.C.#4	Media		766,67	176,383
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,75	
		Límite superior	1525,58	
	Mediana		700,00	
	Varianza		93333,333	
	Desviación estándar		305,505	
	Mínimo		500	
	Máximo		1100	
Rango		600		

En los análisis descriptivos de levaduras encontramos que todas las marcas dieron positivo a levaduras, a diferencia de lo que sucedió con los mohos; el valor promedio mas elevado es el encontrado en la M.C.#2 que dio 104.000,00 lo cual resulta ser superior a las otras, se realizaron pruebas estadísticas para valorar su significancia.

Tabla 38 Prueba estadística de Levene para levaduras.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Levaduras			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
6,947	3	8	,013

se rechaza la Hipotesis de homogeneidad de los datos. Se corre Anova para comprobar la prueba de Levene.

Tabla 39 Prueba de ANOVA para levaduras

ANOVA					
Levaduras					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,356E+10	3	7852483055,556	6,374	,016
Dentro de grupos	9,856E+09	8	1231975000,000		
Total	3,341E+10	11			

Se rechaza la Hipotesis nula, el valor P arrojado por el Anova da 0.016 que es menor a 0.05.

Tabla 40 Cuadro comparativo Post-hoc para levaduras

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente:		Levaduras	HSD Tukey				
		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza		
					Límite inferior	Límite superior	
(I) Marca Comercial	M.C.#4	M.C.#2	-100133,333*	28658,623	,033	-191908,33	-8358,33
		M.C.#3	3333,333	28658,623	,999	-88441,67	95108,33
		M.C.#4	3100,000	28658,623	1,000	-88675,00	94875,00
M.C.#2	M.C.#1	M.C.#1	100133,333*	28658,623	,033	8358,33	191908,33
		M.C.#3	103466,667*	28658,623	,028	11691,67	195241,67
		M.C.#4	103233,333*	28658,623	,029	11458,33	195008,33
M.C.#3	M.C.#1	M.C.#1	-3333,333	28658,623	,999	-95108,33	88441,67
		M.C.#2	-103466,667*	28658,623	,028	-195241,67	-11691,67
		M.C.#4	-233,333	28658,623	1,000	-92008,33	91541,67
M.C.#4	M.C.#1	M.C.#1	-3100,000	28658,623	1,000	-94875,00	88675,00
		M.C.#2	-103233,333*	28658,623	,029	-195008,33	-11458,33
		M.C.#3	233,333	28658,623	1,000	-91541,67	92008,33

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla 41 Pruebas de HSD Tukey para levaduras.

Levaduras			
HSD Tukey ^a			
Marca	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
Comercial		1	2
M.C.#3	3	533,33	
M.C.#4	3	766,67	
M.C.#1	3	3866,67	
M.C.#2	3		104000,00
Sig.		,999	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Se encontraron dos subconjunto, en uno de ellos se encuentran 3 marcas que son M.C.#1, M.C.#3 y M.C.#4 que tienen relación entre si por que se encuentran en un mismo rango o medidas de sus medias; y por otro lado la M.C.#2 que esta en un grupo completamente distinto, sin relacionarse con las demás muestras.

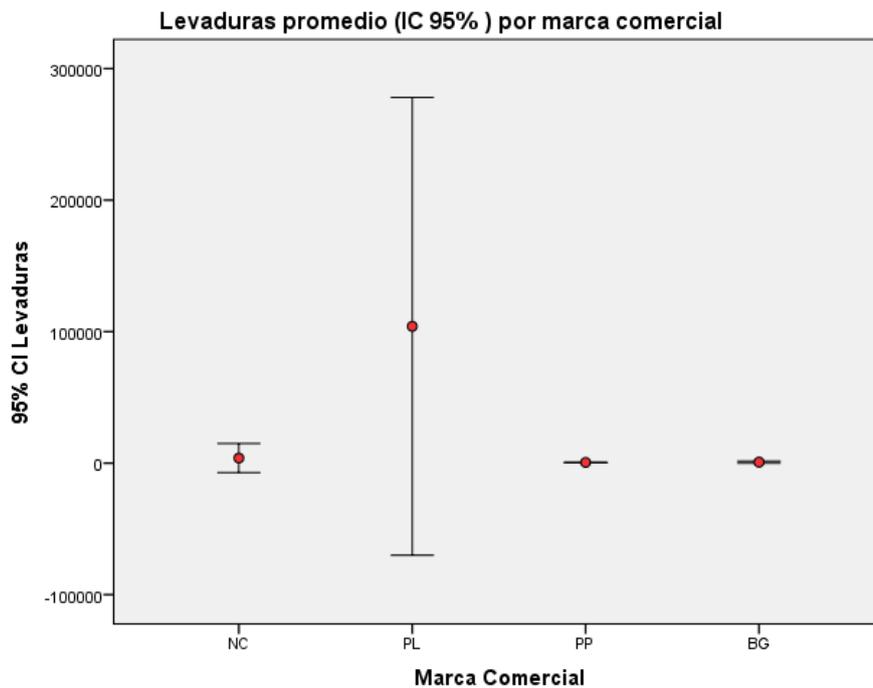


Gráfico 14 Distribución de datos para Levaduras.

4.6.1.7 *Salmonella*

No se encontró *Salmonella* en ninguna de las muestras analizadas.

5 Discusión

Este estudio fue formulado de tal forma que no se hallaron estudios iguales que incluyan y valoren ambas variables como lo son la bromatología y la microbiología, por otro lado se han hallado estudios enfocados en salmonella en otros países que señalan que la alimentación con BARF representa un riesgo muy relevante para este tipo de enfermedades, sin embargo en el presente estudio, no se encontró salmonella, y ante la presencia de falsos positivos se realizaron pruebas para descartar y se confirmó que no hubo presencia del patógeno en ninguna de las muestras estudiadas en las 3 semanas de estudio. Por otro lado se han realizado estudios sobre la composición bromatológica real (%de proteínas, carbohidratos y grasas) es debatible ya que como se menciona en el marco teórico se han sugerido que los valores apropiados para la dieta BARF, en el presente estudio se encontraron valores significativamente inferiores a los demás.

Al trabajar con alimento cuya base es la carne cruda, hay muchas variables que deben ser controladas, ya que podrían afectar de alguna forma nuestros resultados, uno de los procesos que no debe verse interrumpido ni afectado de ninguna forma es mantener la cadena de frío tanto en almacenamiento y transporte del alimento, en todos los estudios realizados acerca de alimentación cruda se puede encontrar que este podría ser uno de los puntos claves para determinar si el trabajo concluyente es acertado.

Por otro lado la relación comparativa entre marcas no ha sido de mucha importancia en otros estudios, en el actual se tomó en cuenta que todas las marcas de alimento estén dentro del rango “super premium”.

6 Conclusiones

Se concluye el presente estudio con:

- El análisis estadístico de las muestras en las cuales se realizan las pruebas de validación de datos se tomó como procesamiento de datos, y no tiene relevancia a nivel clínico, debido a que si una muestra de alimento no cumple los parámetros adecuados de las normas INEN 2346 esta afecta directamente y de forma individual al consumidor, lo cual si es relevante al tratarse de la salud de un paciente.
- Las marcas de alimento estudiadas mantienen % de nutrientes menores a los sugeridos por Ian Billinghurst en su libro "La dieta BARF" y otros documentos que mencionan la composición, e incluso lo que las empresas que comercializan aseguran tener.
- La marca #4 muestra % de proteínas mucho mayores que las demás marcas que fueron estudiadas, los demás parámetros que se consideraron en el estudio no muestran diferencias significativas entre ellas.
- Existe una presencia elevada de microorganismos patógenos en las dietas, en dos de ellas superaba por mucho los límites establecidos por las normas INEN 2346, lo cual representa un riesgo para el consumidor al tratarse de productos de alimentación cruda.
- Al utilizar las NTE INEN 2346 se recalca que son las utilizadas para productos cárnicos de consumo humano, lo que nos permite cuestionar si estos valores afectarían de igual forma a los consumidores caninos

- No hubo presencia de salmonella en ninguno de las muestras analizadas.

7 Recomendaciones

- El estudio debería ser ampliado tanto en número de repeticiones y el número de muestras para que los resultados que arroje reflejen la realidad de los productos que son comercializados en la ciudad.
- Buscar opciones mas rentables para realizar las pruebas de cultivos bacterianas ya que el uso de petrifilm 3M a pesar de que facilita mucho el trabajo de cultivos, también representa un costo bastante grande para el estudio.
- Verificar si las marcas comercializadas cuentan con un registro sanitario.
- Utilizar mayor número de diluciones para las muestras estudiadas.
- Ampliar el estudio a otras marcas que se comercien dentro de la ciudad.
- Realizar nuevos estudios que determinen si la cantidad de microorganismos encontrados en las presentes marcas causen efectos negativos al ser consumida por las mascotas.

8 Referencias y Bibliografía

- Ackerman, A. L. (2008). *Atlas de dermatología en pequeños animales*.
- Alonso, M. A., Alonso, M., Aparicio, M., Aranceta, J., Arroba, M. L., Barrio, R., Beneitez, A. M., & Bousoño, C. (2007). *Manual Práctico de Nutrición en Pediatría*.
- Alvarez, Zoraya; Ewales, J. (1990). *Efectos De La Salinidad Y La Dieta Sobre El Desarrollo Larvario De Sesarma Ricordi Decapoda.Pdf*.
- Anderson, R. C., Armstrong, K. M., Young, W., Maclean, P., Thomas, D. G., & Bermingham, E. N. (2018). Effect of kibble and raw meat diets on peripheral blood mononuclear cell gene expression profile in dogs. *Veterinary Journal*, 234(September 2017), 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.01.005>
- Anduro Jordan, J. A., Cantú Soto, E. U., Campas Baypoli, O. N., López Cervantes, J., Sánchez Machado, D. I., & Félix Fuentes, A. (2017). Diagnóstico de la calidad sanitaria del agua de pozo en comunidades del sur de Sonora, México. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 16(1), 1–8.
- Aptekmann, K. P., Mendes-Junior, A. F., Suhett, W. G., & Guberman, U. C. (2013). Manejo nutricional de cães e gatos domiciliados no estado do Espírito Santo - Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 65(2), 455–459. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000200022>
- Arija, I., & Viveros, A. (2014). *NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PERROS Y GATOS*.
- Billinghurst, I. (2001). *La dieta BARF: Alimentación cruda para perros y gatos usando los principios evolutivos*. Helen Fairgrieve.
- Billinghurst, I. (1993). DIETA (B.A.R.F.) o (A.C.B.A.). In *Túytucan , Educación y Relajación Canina en positivo*.
- Bischoff, K., & Rumbeiha, W. K. (2018). Pet Food Recalls and Pet Food Contaminants in Small Animals: An Update. *Veterinary Clinics of North America*

- *Small Animal Practice*, 48(6), 917–931.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.005>

Blanco, T. (n.d.). *Alimentación y Nutrición: Fundamentos y nuevos criterios*. Retrieved February 18, 2020, from <https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=UdKEDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=conceptos+nutricionales&ots=K0o2lvngkY&sig=AbqKXqW--xkR6wKfIPQGuQQ5uBE#v=onepage&q&f=false>

Blanco, T. (2011). Alimentación y nutrición. Fundamentos y nuevos criterios. *Alimentación y Nutrición. Fundamentos y Nuevos Criterios*.
<https://doi.org/10.19083/978-612-4041-53-2>

Caballero Solis, C. (2011). *EL SISTEMA NACIONAL DE INOCUIDAD AGROALIMENTARIA*.

Campuzano, S., Mejia, D., Madero, C., & Pabon, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. *Techniques, Sciences, Methodes*, 7–8, 3–8.

Céspedes, V. B., Rincón, P., & Alejandra, Y. (2016). Creación de empresa dedicada a la fabricación y comercialización de comida natural para perros. *Repository.Javeriana.Edu.Co*, 2014.
<http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/38415>

Chandler, M. L., & Takashima, G. (2014). Nutritional concepts for the veterinary practitioner. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(4), 645–666. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.03.009>

Chen, C. H., Yin, H. B., Upadhyay, A., Brown, S., & Venkitanarayanan, K. (2019). Efficacy of plant-derived antimicrobials for controlling *Salmonella* Schwarzengrund on dry pet food. *International Journal of Food Microbiology*, 296(February), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.007>

Dale, R., Range, F., Stott, L., Kotrschal, K., & Marshall-Pescini, S. (2017). The influence of social relationship on food tolerance in wolves and dogs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 71(7). <https://doi.org/10.1007/s00265-017-2339-8>

De Oliveira Borges Saad, F. M., & França, J. (2010). Alimentação natural para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(SUPPL. 1), 52–59.
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300007>

Di Cerbo, A., Morales-Medina, J. C., Palmieri, B., Pezzuto, F., Cocco, R., Flores, G., & Iannitti, T. (2017). Functional foods in pet nutrition: Focus on dogs and cats. *Research in Veterinary Science*, 112, 161–166.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.03.020>

Downes, M. J., Devitt, C., Downes, M. T., & More, S. J. (2017). Understanding the context for pet cat and dog feeding and exercising- behaviour among pet

- owners in Ireland: A qualitative study. *Irish Veterinary Journal*, 70(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13620-017-0107-8>
- Enriquez, G. F., Macchiaverna, N. P., Argibay, H. D., López Arias, L., Farber, M., Gürtler, R. E., Cardinal, M. V., & Garbossa, G. (2019). Polyparasitism and zoonotic parasites in dogs from a rural area of the Argentine Chaco. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 16(April). <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100287>
- Eyzaguirre De La Vega, Anyeli; Larrea Tapia, Javier Fernando; Rojas Vega, Vanessa; Tejerina Hurtado, Paulo Roberto; Zuloaga Verdeguer, C. V. (2018). *Fabricación Y Comercialización De Comida Cocida Y Saludable Para Perros*. UNIVERSIDAD SAN IGNACIO DE LOYOLA.
- F.A.O. (2014). *Glosario FAO*. FAO. <http://www.fao.org/3/y5488s/y5488s08.htm>
- Fernández, J. A., & Quiñónez, J. D. J. (2003). Diseño del sistema HACCP para el proceso de producción de carne bovina para consumo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16(1), 46–62.
- Fong, I. W. (2016). *Zoonoses Emerging zoonoses*. 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50890-0>
- Frandsen, R. (1976). Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. In *NUEVA EDITORIAL INTERAMERICANA, S.A. DE C.C.* (II edición).
- Giacometti, F., Magarotto, J., Serraino, A., & Piva, S. (2017). Highly suspected cases of salmonellosis in two cats fed with a commercial raw meat-based diet: Health risks to animals and zoonotic implications. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1143-z>
- Gomez, L., Atehortua, C., & Orozco, S. (2007). La influencia de las mascotas. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20, 377–386.
- Guaguere, E., & Prelaud, P. (n.d.). *Guía Práctica de Dermatología Canina*. Kallianxis.
- Guerra, S. (2017). “MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA, PLANES DE HIGIENE - SANEAMIENTO Y RASTREABILIDAD EN UNA CENTRAL DE CORTES DE CERDO” (Issue 511).
- Hensel, P. (2010). Nutrition and skin diseases in veterinary medicine. *Clinics in Dermatology*, 28(6), 686–693. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2010.03.031>
- Herdman, C., Diop, L., & Dickman, M. (2013). Carbohydrate analysis experiment involving mono- and disaccharides with a twist of glycobiology: Two new tests for distinguishing pentoses and glycosidic bonds. *Journal of Chemical Education*, 90(1), 115–117. <https://doi.org/10.1021/ed300149s>

- INEN. (2013). *Reglamento Técnico Ecuatoriano: Carne y Productos Cárnicos*.
http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/rte_056_m_1.pdf
- INEN. (n.d.). *NTE INEN 1346: Carne y productos cárnicos. Carne molida*.
Requisitos: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Retrieved March 10, 2020,
 from <https://archive.org/details/ec.nte.1346.2010/page/n1/mode/2up>
- Ivars, P., Valverde, M., Hernandez, F., Orengo, J., Martinez, S., & Madrid, J. (2016).
EVALUACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y ECONÓMICA DE PIENSOS COMERCIALES PARA PERROS DE RAZA PEQUEÑA. 30, 19–30.
- Jaffer, J., & Singh, A. (2016). Memorandum for the President. In *Administration of Torture* (Vol. 30, Issue 3, pp. 1–5). Columbia University Press.
<https://doi.org/10.7312/jaff14052-004>
- Jiang, S., Zhou, W., Zhang, X., Wang, D., Zhu, H., Hong, M., Gong, Y., Ye, J., & Fang, F. (2016). Developmental expression and distribution of nesfatin-1/NUCB2 in the canine digestive system. *Acta Histochemica*, 118(2), 90–96.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2015.11.010>
- Kersbergen, I., German, A. J., Westgarth, C., & Robinson, E. (2019). Portion size and meal consumption in domesticated dogs: An experimental study. *Physiology and Behavior*, 204(October 2018), 174–179.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.02.034>
- Kiflu, B., Alemayehu, H., Abdurahaman, M., Negash, Y., & Eguale, T. (2017). Salmonella serotypes and their antimicrobial susceptibility in apparently healthy dogs in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1186/s12917-017-1055-y>
- Kim, J., An, J. U., Kim, W., Lee, S., & Cho, S. (2017). Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathogens*, 9(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s13099-017-0218-5>
- Kölle, P., & Schmidt, M. (2015). BARF (Biologisch Artgerechte Rohfütterung) als Ernährungsform bei Hunden. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere - Heimtiere*, 43(6), 409–419. <https://doi.org/10.15654/TPK-150782>
- Lewis, B. (2014). Nutrition for Companion Carnivores. *Археология*, 1(August), 117–125.
- Linsart, A. J., Figuera, J., Fournel, S., Ségalen, C., Batard, A., & Navarro, C. (2018). Palatability and digestive tolerance of a new high protein/low carbohydrate commercial dry diet in adult ferrets. *Revue Veterinaire Clinique*, 53(4), 107–113.
<https://doi.org/10.1016/j.anicom.2018.08.003>
- López-Arias, Á., Villar, D., López-Osorio, S., Calle-Vélez, D., & Chaparro-Gutiérrez, J. J. (2019). *Giardia is the most prevalent parasitic infection in dogs and cats*

with diarrhea in the city of Medellín, Colombia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*; Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100335>

- Lowden, P., Wallis, C., Gee, N., & Hilton, A. (2015). Investigating the prevalence of Salmonella in dogs within the Midlands region of the United Kingdom. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0553-z>
- Lozano, J., Armbrrecht, I., & Montoya, J. (2015). Arbuscular mycorrhiza and their effect on the soil structure in farms with agroecological and intensive management. *Acta Agronómica*, 4(64), 274–281. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n4.46045>
- Lyu, T., Liu, G., Zhang, H., Wang, L., Zhou, S., Dou, H., Pang, B., Sha, W., & Zhang, H. (2018). Changes in feeding habits promoted the differentiation of the composition and function of gut microbiotas between domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) and gray wolves (*Canis lupus*). *AMB Express*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0652-x>
- Mack, J. K., & Kienzle, E. (2016). Fehlversorgungen in „BARF“-Futterplänen für einen Wurf Berner-Sennenhund-Welpen. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere*, 44(05), 341–347. <https://doi.org/10.15654/tpk-151091>
- Manbeck, A. E., Aldrich, C. G., Alavi, S., Zhou, T., & Donadelli, R. A. (2017). The effect of gelatin inclusion in high protein extruded pet food on kibble physical properties. *Animal Feed Science and Technology*, 232, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.010>
- March Rosselló, G. A., & Bratos Pérez, M. Á. (2016). Antibiograma rápido en Microbiología Clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.11.014>
- Marín, C. (2018). Conceptos fundamentales en ecología de hongos del suelo: una propuesta pedagógica y de divulgación. *Boletín Micológico*, 33(1), 32. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2018.33.1.1168>
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. (1995). Clinical Veterinary Microbiology. In *The Immunoassay Kit Directory* (Second Edn). https://doi.org/10.1007/978-94-009-0359-3_24
- Mesa, J., & Muñoz, A. (2017). *Mr. Barf* [Corporación Universitaria Lasallista]. http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2267/1/Mr_Barf.pdf
- Mora Barrero, D. A. (2018). *Digestibilidad Aparente Del Alimento Balanceado Premium En Comparación a La Digestibilidad Del Alimento Barf Para Caninos*. Universidad de las Americas.
- Morelli, G., Bastianello, S., Catellani, P., & Ricci, R. (2019). Raw meat-based diets for dogs: Survey of owners' motivations, attitudes and practices. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1824-x>

- Mueller, R. S., & Unterer, S. (2018). Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Veterinary Journal*, 236, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.04.014>
- Navarro Reyes, O. E. (2013). *Micología Veterinaria*. Universidad Nacional Agraria.
- Nilsson, O. (2015). Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5(1), 28758. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.28758>
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Mihalca, A. D., Traub, R. J., Lappin, M., & Baneth, G. (2017). Zoonotic Parasites of Sheltered and Stray Dogs in the Era of the Global Economic and Political Crisis. *Trends in Parasitology*, 33(10), 813–825. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.05.013>
- Pas, F. I. S. O. (2008). (TOMADO DE DELCEN). 22000.
- Pasotto, D., Martini, M., Dotto, G., Mondin, A., & Menandro, M. L. (2019). Occurrence and characterization of *Salmonella* strains isolated from animals involved in animal assisted interventions (AAIs). *International Journal of Infectious Diseases*, 79(2019), 81. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.204>
- Peña C, L., Cárdenas R, A., & Garcia, O. (2018). Análisis bromatológico de la leche a partir de la semilla de alpiste (*phalaris canarienses*): cereal empleado como sustituto dietético. *Análisis Bromatológico de La Leche a Partir de La Semilla de Alpiste (Phalaris Canarienses): Cereal Empleado Como Sustituto Dietético*, 17(1), 65–75. <https://doi.org/10.24054/01204211.v1.n1.2019.3135>
- Pérez, P. (2008). Anatomía Y Fisiología Animal. *Biomaterials*, 29(34), 4471–4480. https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Anatomia_y_Fisiologia_Animal.pdf
- Pizon, P. (2019). Apoyo nutricional de dieta barf para caninos con hepatopatías. *Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales*, 1, 1–8.
- Puerta, Garcia & Rodriguez, M. (2010). NTE INEN 2346 (2010) (Spanish): Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1373.
- Puig Peña, Y., Espino Hernández. María, & Leyva Castillo, V. (2011). Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura. In *Panorama Cuba y Salud* (Vol. 6, Issue 1).
- Rehbein, S., Dorr, P., Bowman, D. D., Crafford, D., Kusi, I., Postoli, R., Yoon, S., Chester, S. T., Dollhofer, D., Visser, M., & Larsen, D. L. (2016). Efficacy of afoxolaner plus milbemycin oxime chewable tablets against naturally acquired intestinal nematodes in dogs. *Veterinary Parasitology*, 217, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.032>

- Rios, A., Cozar, A., Verde, M., Dlamau, A., & NavarrO, L. (2010). Especial Dermatología. *Federacion Iberoamericana de Asociaciones Veterinarias de Animales de Compañía*.
- Risso, A. (2014). Conceptos básicos de nutrición en perros y gatos. In *Igevet Conicet* (Vol. 1). <http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/53482>
- Rojas, J. (2019). USO DE DIETA BARF PARA CANINOS CON DIABETES MELLITUS. *Universidad De Ciencias Aplicadas y Ambientales*.
- Romero Quintero, Martha Irene; Sanchez Pavon, Edgard Alfonso; Lopez Aburto, J. V. (2015). *Analisis de la comparacion del metodo estandar ISO 6579-2002 con PCR tiempo real como prueba de tamizaje para la deteccion de Salmonella spp en carne molida, CNDR-MINSA, Noviembre Diciembre 2014*. Universidad Nacional de Nicaragua.
- Safety, 3M Food. (2019). *Certifications, Recognitions and Validations*.
- Sandri, M., Dal Monego, S., Conte, G., Sgorlon, S., & Stefanon, B. (2017). Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0981-z>
- 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>
- Schuenemann, G. M., Eastridge, M. L., Weiss, W. P., Workman, J. D., Bas, S., & Rajala-Schultz, P. (2011). Dairy nutrition management: Assessing a comprehensive continuing education program for veterinary practitioners. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2648–2656. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3902>
- Staroń, P., Kowalski, Z., Staroń, A., & Banach, M. (2017). Thermal treatment of waste from the meat industry in high scale rotary kiln. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(6), 1157–1168. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1223-9>
- Studer, E. (1998). A Veterinary Perspective of On-Farm Evaluation of Nutrition and Reproduction. *Journal of Dairy Science*, 81(3), 872–876. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75645-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75645-0)
- T, O. R. (n.d.). *Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos*. Retrieved March 12, 2020, from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662004000300016

- Thirugnanasambandham, K., & Sivakumar, V. (2015). Enzymatic catalysis treatment method of meat industry wastewater using lacasse. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40201-015-0239-2>
- Utaaker, K. S., Tysnes, K. R., Krosness, M. M., & Robertson, L. J. (2018). Not just a walk in the park: Occurrence of intestinal parasites in dogs roaming recreational parks in Chandigarh, Northern India. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 14(October), 176–180. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.10.008>
- 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>
- VANEGAS FERNANDO, V. G., & MORA TRUJILLO, A. L. (2018). *DIAGNOSTICO DE MYCOBACTERIOSIS POR TECNICAS MICROBIOLOGICAS EN ANIMALES FAENADOS EN UN CAMAL DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS* (Issue 1). UNIVERSIDAD DE GUAYAQUÍN.
- Velasquez Chumacero, M. J. (2017). *Estudio Microbiologica de los Alimentos Preparados en el Servicio De Alimentacion del Batallon de la Policia Militar N° 503 -Chorrillos- 2017*.
- Vicenzo de Loanni. (2016). *Huesos crudos carnosos apropiados para perros*.
- Villalba Sanabria, R. D. (2019). *TÍTULO DEL DOCUMENTO DESEMPEÑO PRODUCTIVO DE CANINOS EN REFUGIO RECIBIENDO DIETAS CON BASE EN ALIMENTOS CRUDOS BIOLÓGICAMENTE APROPIADOS* (Issue 20). Universidad de Cundinamarca.
- Wilson-Frank, C. R., & Hooser, S. B. (2018). Investigative Diagnostic Toxicology and the Role of the Veterinarian in Pet Food–Related Outbreaks: An Update. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(6), 909–915. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.001>
- Xu, H., Jin, Y., Wu, W., Li, P., Wang, L., Li, N., Feng, Y., & Xiao, L. (2016). Genotypes of *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bienersi* and *Giardia duodenalis* in dogs and cats in Shanghai, China. *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1409-5>
- Zayas Somoza, E., & Vilma, F. A. (2017). SOBRE LAS INTERRELACIONES ENTRE LA NUTRICION Y EL ENVEJECIMIENTO. *Revista Cubana de Alimentacion y Nutricion*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1037/0022-3514.51.6.1173>
- Zossi, B., Sorol, N., Sastre, M., & Ruiz, R. (2011). Validación de la metodología ICUMSA “Draft Method No 3” para determinar la concentración de almidón en jugos de caña de azúcar. *Revista Industrial y Agr ?-Cola de Tucum ? ?n*, 88(1), 23–27.

Zotta, C. M., Lavayen, S., Hollmann, P., & Lanfranconi, V. (2015). Pets as Reservoir Escherichia coli Shiga Toxin-Producer in Mar del Plata Animales domésticos como reservorio de Escherichia coli Productor de Toxina Shiga en Mar del Plata. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 6(1), 2–9.
<http://www.ine.gov.ar/documentos/publicaciones/031.pdf>

ANEXOS

Materiales:



Ilustración 1 Medidas de bioseguridad personales



Ilustración 2 instrumentos de laboratorio.



Ilustración 3 Cooler

<



Ilustración 4 Incubadora



Ilustración 5 Esterilizador



Ilustración 6 Autoclave



Ilustración 7 material para autoclavar



Ilustración 8 Material aseado después del proceso.



Ilustración 9 vasos de precipitación debidamente rotulados.



Ilustración 10 3M Petrifilm.



Ilustración 11 Placas de Petrifilm rotuladas.



Procedimiento:



Ilustración 12 Muestras en proceso de descongelación.



Ilustración 13 Muestras descongeladas.



Ilustración 14 Se prepara previamente agua de peptona.



Ilustración 15 selección y pesaje de muestras.



Ilustración 16 Pesaje exacto.



Ilustración 17 Material preparado para toma de muestra.



Ilustración 18 Separación de muestra para análisis bromatológico y microbiológico.



Ilustración 19 Se tara el peso de la caja Petri.

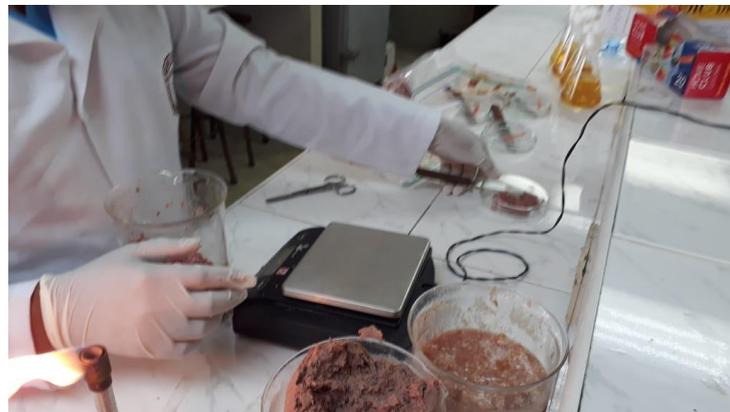


Ilustración 20 manipulación de la muestra.



Ilustración 21 Rotulación de la muestra.



Ilustración 22 Dilución de la muestra en agua de peptona.



Ilustración 23 Homogenización de la muestra.



Ilustración 24 Se realiza con todas las muestras.



Ilustración 25 Se sella con un tapón.



Ilustración 26 Preparación de diluciones.



Ilustración 27 placas de petrifilm para siembra.

PROCESO DE SIEMBRA DE MUESTRAS:



Ilustración 28 Diluciones preparadas.



Ilustración 29 Dilución a la -1



Ilustración 30 Dilución a la -2



Ilustración 31 Dilución a las -3



Ilustración 32 Mechero de bunsen de Gas.



Ilustración 33 Pipeta semi-Automática.



Ilustración 34 Distribución de la muestra



Ilustración 35 Muestras sembradas previo a incubación.

INCUBACIÓN DE MUESTRAS:



Ilustración 36 Distribución de placas en bandejas.

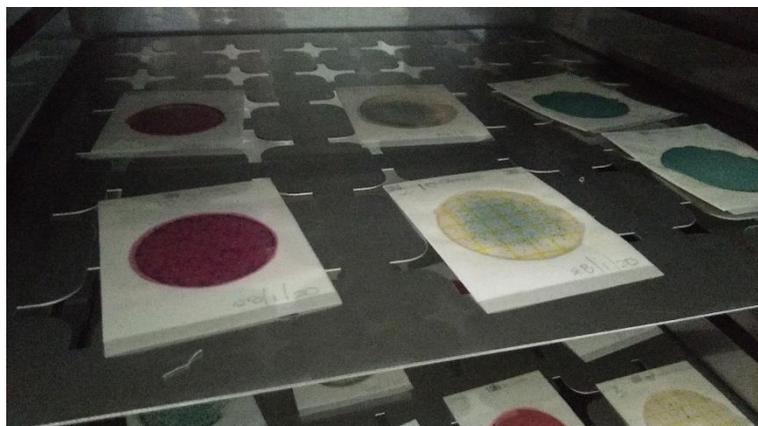


Ilustración 37 Incubación de 24 a 48 horas.

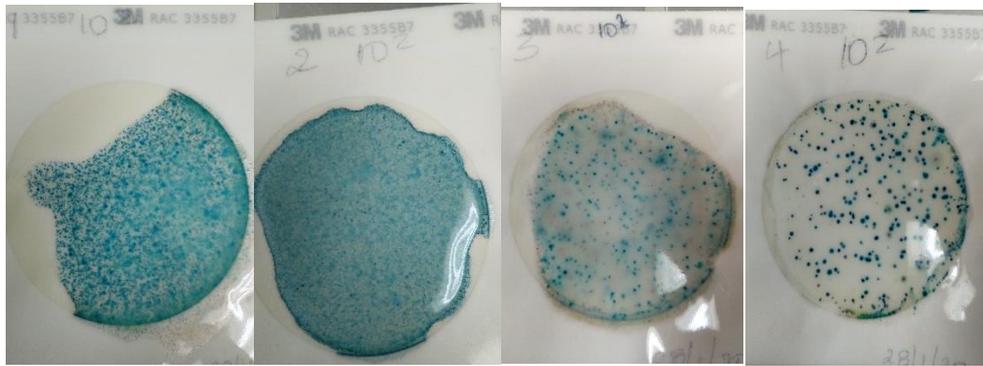


Ilustración 38 Incubación de 48hrs

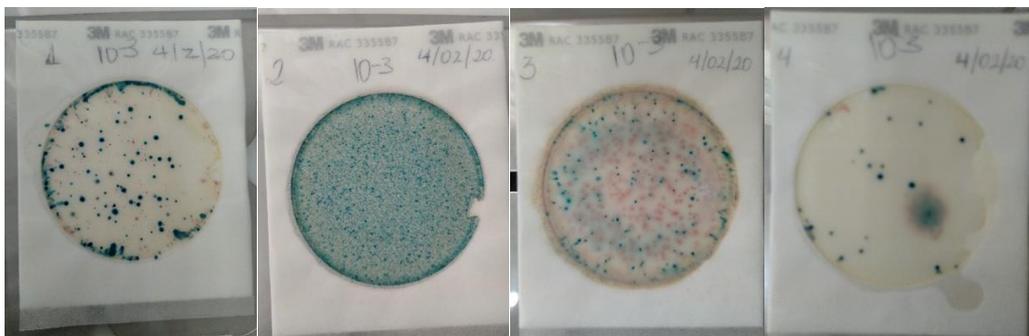
CONTEO DE UFC

Aerobios mesofilos por semana y marca:

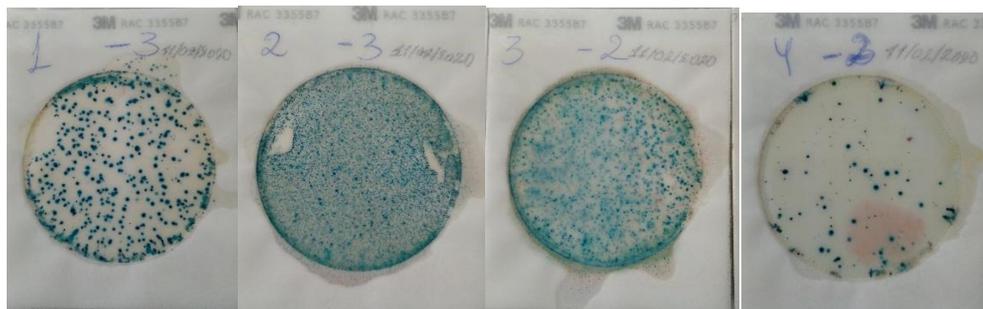
Semana 1



Semana 2

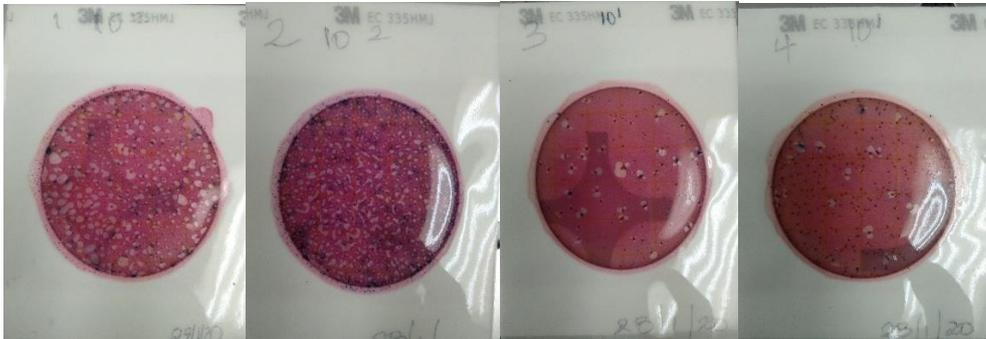


Semana 3

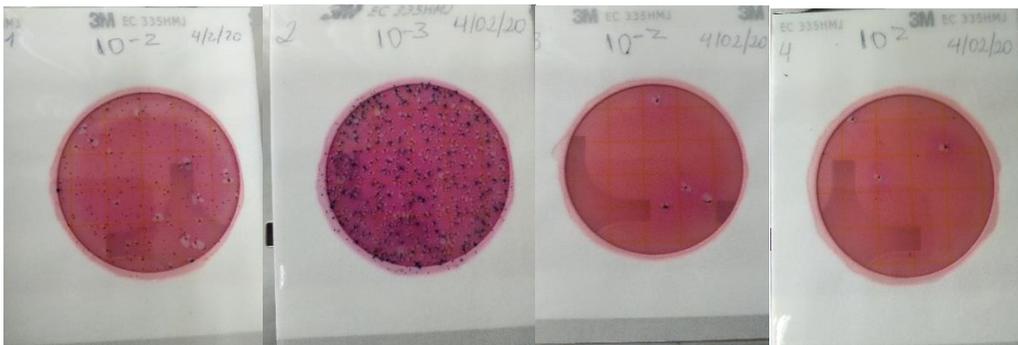


Escherichia colí por semana y marca:

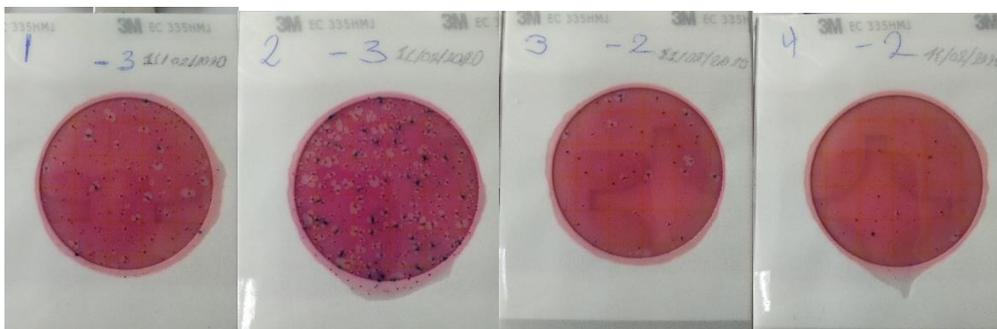
Semana 1



Semana 2

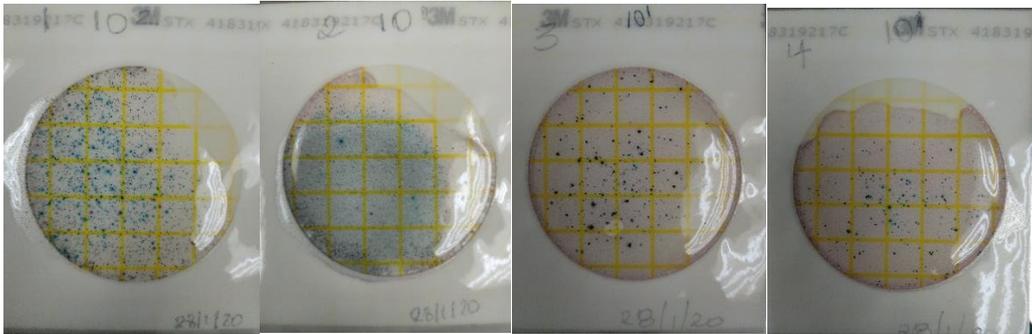


Semana 3

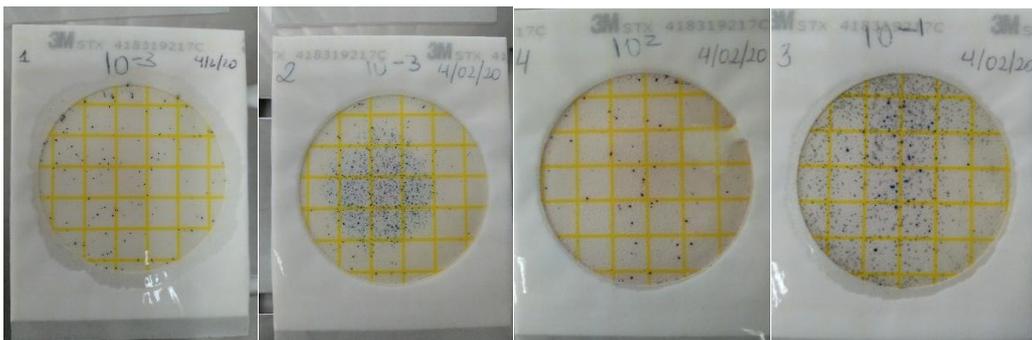


Staphylococcus Aureus

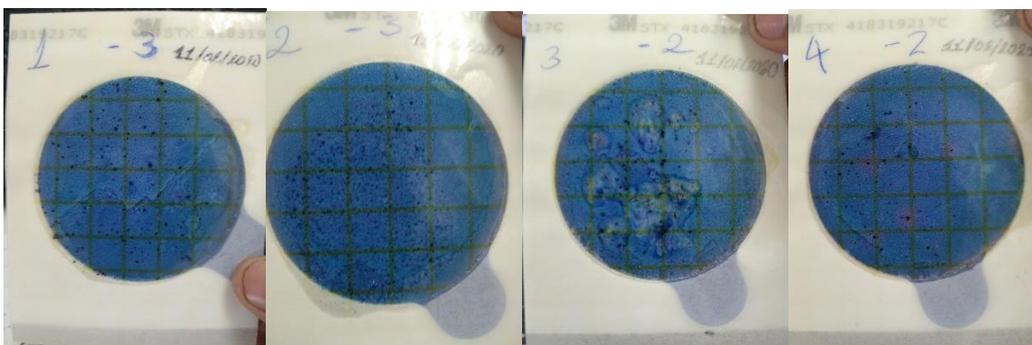
Semana 1



Semana 2

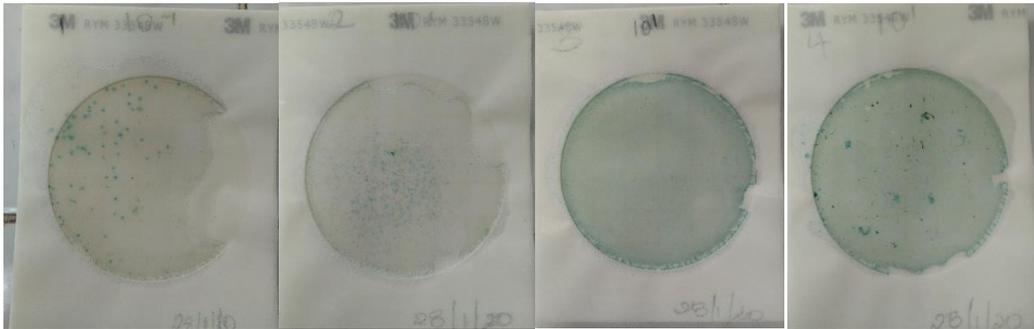


Semana 3

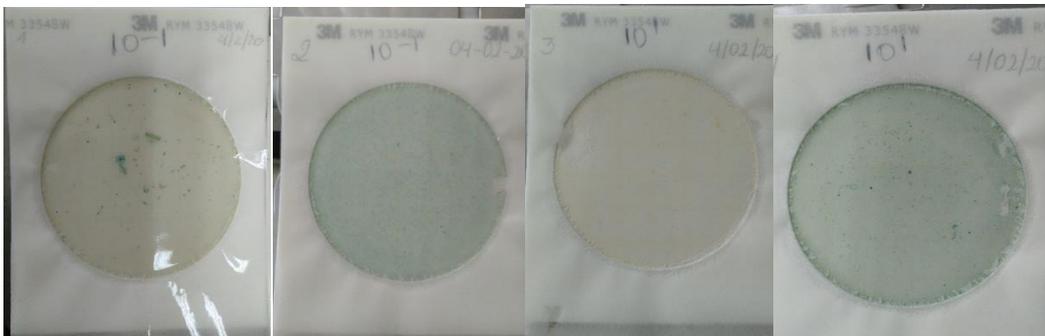


Mohos y levaduras:

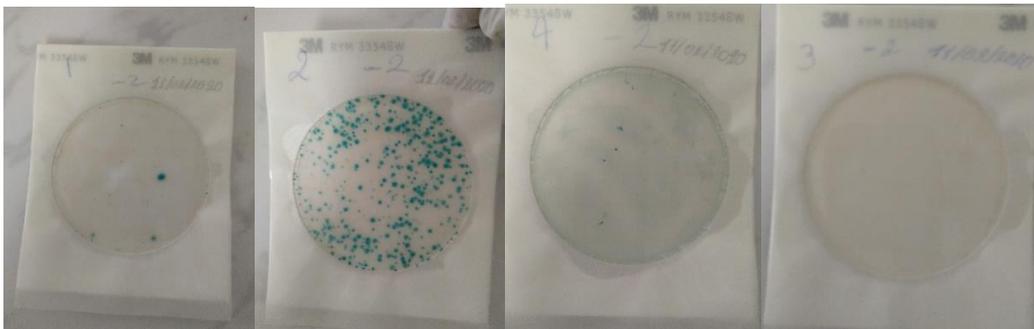
Semana 1



Semana 2



Semana 3



OTROS



Diferencia de color y consistencia marca #1 #2 #3 y #4 respectivamente



Marca #1



Marca #2



Marca #3



Marca #4

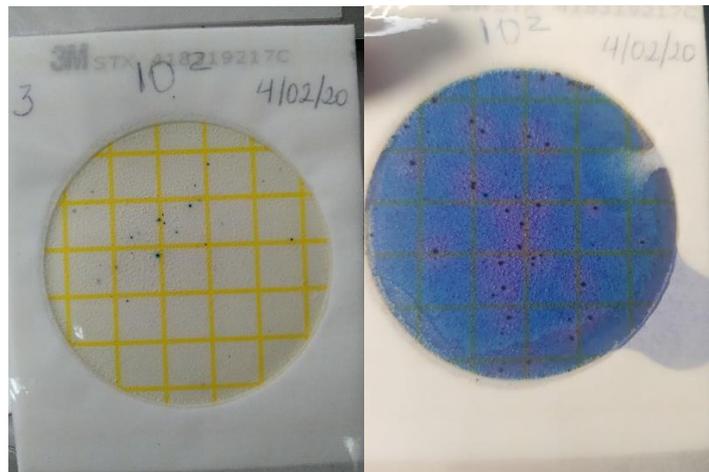


Muestras pesadas y separadas.



Muestra sobrante

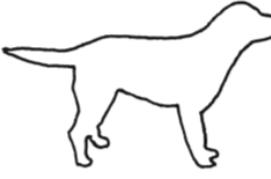
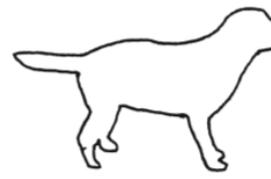




Pala sin disco de confirmación// placa con disco de confirmación

Staphylococcus Aureus



		<p>Extremely Thin (1)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs, dorsal spinous processes, lumbar vertebrae, and pelvic bones prominent • No palpable fat • Obvious waist and abdominal tuck
		<p>Slightly Thin (2)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs and dorsal spinous processes visible and easily palpable • Minimal fat covering • Waist easily noted viewed from above • Abdominal tuck evident
		<p>Normal (3)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs and dorsal spinous processes palpable but not visible • Waist observed behind ribs viewed from above • Abdomen tucked up when viewed from side
		<p>Slightly Obese (4)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs and dorsal spinous processes palpable with slight excess of fat covering • Waist discernible viewed from above but not prominent • Abdominal tuck apparent
		<p>Obese (5)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs and dorsal spinous processes not easily palpable under a heavy fat covering • Fat deposits over lumbar area and tail base • Waist absent viewed from above • No abdominal tuck; may exhibit obvious abdominal distention