



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS PARA
PERROS COMERCIALIZADOS A GRANEL”**

CAROLINA BUSTOS PINO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento Medicina
Preventiva Animal

PROFESORA GUÍA: ANITA SOTO CORTÉS

SANTIAGO, CHILE

2006



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS PARA
PERROS COMERCIALIZADOS A GRANEL”**

CAROLINA BUSTOS PINO

Memoria para optar al título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento Medicina
Preventiva Animal

NOTA FINAL:.....

	NOTA	FIRMA
PROFESORA GUÍA: ANITA SOTO CORTÉS
PROFESORA CONSEJERA: PILAR OVIEDO HANNIG
PROFESOR CONSEJERO: JUAN EGAÑA MORENO

SANTIAGO, CHILE

2006

ÍNDICE

	PÁGINA
1. RESUMEN	1
SUMMARY	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 EL SISTEMA DIGESTIVO DEL PERRO	7
3.2. DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN	9
3.3. NUTRIENTES	10
3.4. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE CANINOS	15
3.5. ALIMENTOS PARA MASCOTAS	17
3.6. PROCESO DE EXTRUSIÓN	20
3.7. DETERIORO DE LOS ALIMENTOS	24
3.8. MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS	27
3.9. MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN CANINOS	28
3.10. CONTROL Y PREVENCIÓN	40
3.11. MICROORGANISMOS INDICADORES	42

4. OBJETIVOS	43
4.1 OBJETIVO GENERAL	43
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
5. MATERIALES Y MÉTODOS	44
5.1. DETERMINACIÓN DE LA MUESTRA Y TÉCNICA DE MUESTREO	44
TÉCNICAS DE LABORATORIO	44
5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
7. CONCLUSIONES	63
8. BIBLIOGRAFÍA	63

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
N° 1: AMINOÁCIDOS ESENCIALES PARA CANINOS	12
N°2: PROGRAMA DE MUESTREO Y LÍMITES MICROBIOLÓGICOS RECOMENDADOS PARA ALIMENTOS EXTRUÍDOS DE CONSUMO ANIMAL	47
N°3: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 1, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)	49
N°4: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 2, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO(SANTIAGO, AÑO 2002)	50
N°5: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 3, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)	51
N°6: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 4, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)	52
N°7: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 5, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)	53
N°8: DESCRIPCIÓN ESTADÍSTICA DE RAM EN MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA PERROS POR TIPO DE EXPENDIO SEGÚN MARCA (SANTIAGO, AÑO 2002)	54
N°9: ACEPTACION O RECHAZO DE LAS MARCAS DE ALIMENTOS ANALIZADOS, SEGÚN TIPO DE EXPENDIO (SANTIAGO, AÑO 2002)	57
N°10: ACEPTACION O RECHAZO DE ALIMENTOS ANALIZADOS, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE EXPENDIO (SANTIAGO, AÑO 2002)	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO	PÁGINA
Nº1: UNIDADES DE MUESTRA QUE SOBREPASAN LOS LÍMITES INFERIORES	56
Nº2: RAM EN MUESTRAS A GRANEL Y SELLADAS	59
Nº3: RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS EN MUESTRAS A GRANEL Y SELLADAS.....	60

1. RESUMEN

El siguiente estudio se realizó con el fin de comprobar la calidad microbiológica de los alimentos comerciales para perros expendidos a granel, y posteriormente contrastarla con la calidad microbiológica que presentan los mismos alimentos en envases sellados.

Con este fin, se tomaron muestras de cinco marcas de alimentos extruídos para perros; una al estado sellado y otra al estado “a granel”. La toma de muestras se llevó a cabo en cinco comunas de Santiago (La Florida, Maipú, Estación Central, Recoleta y Renca), recolectándose en total cincuenta muestras.

Para la toma de muestras y posterior análisis de la información obtenida, se utilizó el plan de muestreo y límites microbiológicos del Nuevo Reglamento de los Alimentos (Chile, 2006), adaptado por la Unidad de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, para alimentos de caninos.

Cada una de las muestras fue sometida a cinco análisis microbiológicos: recuento de aerobios mesófilos (RAM), Número Más Probable (NMP) de coliformes totales, detección de *E.coli*, detección de *Salmonella sp.* y recuento de mohos y levaduras.

Del total de las muestras estudiadas, en ninguna se detectó la presencia de los patógenos *Salmonella sp.* y *E.coli*.

En el análisis de coliformes totales, todas las marcas cumplen con los límites establecidos en el programa de muestreo, tanto en alimentos sellados como “a granel”.

Todas las marcas en su modalidad de selladas se mantienen dentro de los márgenes fijados para RAM, y en el recuento de mohos y levaduras, tres marcas sobrepasaron el límite.

En todas las muestras de alimentos “a granel” se superaron los límites máximos permitidos para RAM y recuento de mohos y levaduras.

Si se analiza según comunas, las que presentaron RAM mayores al límite aceptable fueron Estación Central, Recoleta y Renca. En el recuento de mohos y levaduras, Estación Central y Recoleta exhibieron valores mayores al límite aceptable. El RAM más bajo fue para La Florida, y en recuento de mohos y levaduras para Renca. El resto de los parámetros estudiados fueron iguales para todas las comunas.

Tanto la marca, como el tipo de expendio del alimento generaron efectos significativos sobre el RAM, no así la comuna y la interacción marca-tipo expendio.

De los resultados se concluye que los alimentos comerciales para perros expendidos “a granel”, no cumplen con los requisitos microbiológicos básicos, y por tanto, no son aptos para el consumo.

SUMMARY

This work compares the microbiological quality of commercial dog foods sell in their original sealed packages and from large unpackaged containers, as is usual in Chilean open markets and small retail stores.

Five main dog foods brands were sampled considering the two previous categories. Also five Santiago municipalities (La Florida, Maipú, Estación Central, Recoleta and Renca) were considered as places for take samples, collecting a total number of fifty samples.

Sampling methods and further analysis were according with the New Regulation of Foods Act with modifications from the Hygiene and Food Techology Unit of the Faculty of Veterinary and Husbandry Sciences, University of Chile, developed for canine foods.

Each sample was processed in five microbiological analyses: total bacterial counts, more probable number of total coliforms, presence of *E. coli*, presence of *Salmonella sp.* and moulds and yeasts counts.

Nor *Salmonella sp.* neither *E. coli* were found in any sample. Total coliforms analyses were out of limits in all the dog foods brands, independently of the packaged or unpackaged origin.

Packaged samples of all brands were below the limits for total bacterial counts, and three brands showed over allowed limits on moulds and yeasts counts. Unpackaged samples of all brands were over allowed limits for total bacterial counts and for moulds and yeasts counts.

According the municipalities` origin, Estación Central, Recoleta and Renca showed total bacterial counts over allowed limits considering unpackaged samples. Respect to moulds and yeasts counts, Estación Central and Recoleta exhibited larger values over the allowed limits. The lowest total bacterial counts were for La Florida and for moulds and yeasts for Renca. The other studied parameters were similar in all municipalities.

As much as the brand, as the selling system of dog foods reflected significant effects on total bacterial counts, but not the place or municipality. We can conclude that unpackaged sell of dog foods do not fulfil the basic requirements and are not able for its consumption.

2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado un aumento explosivo en el consumo de alimentos comerciales para perros. Se describe un crecimiento, en promedio, de 20% por año, y un total de US\$ 140 millones en ventas en 2002 (Hodgkinson, 2004). En virtud del cambio en los hábitos y el ritmo de vida de la población, no queda espacio para la preparación de “comida casera”. Del mismo modo, el mayor interés por el bienestar de las mascotas ha llevado a que los dueños se preocupen por ofrecer dietas balanceadas y con todos los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los animales. Con tal fin, se han desarrollado alimentos comerciales que satisfacen los requerimientos nutritivos del animal, son fáciles de administrar y no requieren preparación previa.

Estos alimentos se presentan en la forma de alimentos secos (6-10% de humedad), correspondiendo a pellets, harinas y expandidos; alimentos enlatados (75% humedad), los cuales se presentan en dos formas: completos y suplementos cárnicos; y los semi-húmedos (15-30% de humedad), siendo tejidos animales congelados o frescos, cereales, grasas y azúcares simples. En el presente estudio se analizará la presentación de alimentos “secos”.

Según Herrera (2001), en la ciudad de Santiago el 16,4% de los hogares consume únicamente alimento comercial en la dieta de sus animales, 45,7% comida casera y un 37,9% mezcla de comercial y casera; por lo tanto, un 54,3% utiliza alimento comercial ya sea solo o combinado.

La comercialización del alimento se realiza según dos modalidades: adquiriendo el envase sellado o comprando una cantidad desde un envase abierto con antelación (“a granel”), siendo esta última mucho más propensa a contaminación microbiana y a la pérdida de sus características organolépticas. Según antecedentes, el 72,9% de los compradores lo adquieren sellado y el 27,1% restante lo compra “a granel”, lo cual significa que casi un tercio del total se encuentra expuesto a proliferación microbiana (Herrera, 2001).

Actualmente es posible encontrar información respecto a la contaminación bacteriana y de mohos, pero sólo al estado de envase sellado. Este aspecto es importante pues no existen actualmente datos certeros de las condiciones en que se encuentra ese tercio de los alimentos adquirido “a granel”, es decir, almacenado en bolsas abiertas, en contacto con la humedad y los microorganismos, y por lo tanto, representando un riesgo potencial para la salud del animal. Por consiguiente, el presente estudio intenta entregar antecedentes respecto a la calidad microbiológica de algunos alimentos comerciales para caninos, vendidos según tal modalidad.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El perro pertenece al orden “Carnívoros”, caracterizado por tener estómago simple, tracto digestivo relativamente corto, dentadura estructurada para trozar y desmenuzar comida, dientes potentes y agudos, y en su estado más natural, de hábitos de vida predatorios cazadores (Cornejo, 1995). Sin embargo, producto de la domesticación, sus hábitos alimentarios han cambiado, considerándose como un animal omnívoro.

3.1 El sistema digestivo del perro

El aparato digestivo es un conducto tubular músculomembranoso, que se extiende desde la boca al ano. Sus funciones son las de ingerir, triturar, digerir y absorber los alimentos, además de eliminar los residuos sólidos (Ettinger y Feldman, 2002).

La boca se utiliza para triturar los alimentos y mezclarlos con saliva, y también sirve como mecanismo de prensión, además de ser en algunos casos arma ofensiva y defensiva. Sus funciones corresponden a prensión, masticación, insalivación y formación del bolo alimenticio (Ettinger y Feldman, 2002).

El esófago es un tubo muy distensible que transporta la ingesta desde la faringe hacia el estómago. Está formado por cuatro capas: una cubierta mucosa de epitelio escamoso, la submucosa unida laxamente y que contiene glándulas submucosas, la capa circular interna longitudinal y externa longitudinal. En el perro, la capa muscular es de músculo esquelético en toda su extensión (Frandsen, 1988).

El estómago está ubicado al lado izquierdo de la concavidad del diafragma. Desde el exterior se divide en cardias (entrada), fondo, cuerpo y píloro (terminación). El cardias y el píloro son esfínteres que regulan el paso de los alimentos por el estómago (Frandsen, 1988).

Internamente, el estómago está revestido por la mucosa gástrica, la cual está compuesta por células epiteliales columnares secretoras de mucus. Además, el estómago

cuenta con tres tipos de glándulas gástricas, las cuales delimitan áreas histológicas y funcionales:

- Región de las glándulas cardíacas: ubicadas en la zona alrededor del cardias. Son células epiteliales mucosas que secretan mucus para lubricación.
- Región de las glándulas fúndicas: incluye el fondo y cuerpo estomacal. Estas glándulas producen ácido clorhídrico y pepsinógeno
- Región de las glándulas pilóricas: en la zona antral del estómago. En la región media hay gran cantidad de células G, las cuales al activarse secretan gastrina, un potente estimulador de la secreción de ácido clorhídrico.

El intestino delgado cumple funciones opuestas como barrera y superficie absorptiva; debe digerir y absorber nutrientes, además de excluir antígenos y bacterias (Ettinger y Feldman, 2002). Se divide en tres partes: duodeno, yeyuno e íleon, siendo el duodeno la primera parte del intestino. En su primera porción desembocan los conductos glandulares del páncreas y el hígado, y los conductos colédoco y pancreático vierten su contenido a corta distancia del píloro (Frandsen, 1988).

Está constituido por epitelio columnar de la superficie mucosa, la membrana basal, la lámina propia, la muscularis mucosae, la submucosa, las capas musculares circular interna y longitudinal externa, y la serosa. Aporta un área de máxima superficie para el rendimiento óptimo de las funciones intestinales (secreción, digestión y absorción), aumentado por la estructura tubular hueca del intestino, además de pliegues circulares o de Kerkring con proyecciones de la mucosa denominadas vellosidades y la cubierta de la superficie mucosa de las vellosidades con células especializadas que presentan microvellos sobre su membrana luminal (Ettinger y Feldman, 2002).

En el perro, el intestino grueso es el más corto y sencillo entre todos los otros animales domésticos, constando de un ciego corto, irregular a la derecha, un corto colon ascendente a la derecha, el transversal de derecha a izquierda, el descendente a la izquierda, el recto en la cavidad pélvica y el ano (Frandsen, 1988). Histológicamente está compuesto por mucosa, submucosa, muscular y serosa. La mucosa cecal y colónica carece de vellosidades intestinales. Asimismo, posee numerosas glándulas o criptas de

Lieberkùn desde la superficie absortiva hacia la muscular de la mucosa (Ettinger y Feldman, 2002).

3.2 Digestión y absorción

El proceso comienza a nivel de la boca, en donde se realiza la masticación física y la insalivación de los alimentos. La saliva actúa como lubricante para facilitar la masticación y la deglución, además de solubilizar a los componentes dietéticos que estimulan las papilas del gusto y entregan el sabor del alimento (Case *et al.*, 2000).

A continuación el alimento pasa a través del esófago hacia el estómago, cumpliendo este último con varias funciones principales.

Primero, actúa como reservorio que adapta rápidamente su volumen a la llegada de los alimentos, sin generar una presión intragástrica excesiva. La capacidad para mantener esta presión intragástrica basal está mediada en parte por un reflejo central (Ettinger y Feldman, 2002).

En segundo lugar, los alimentos son mezclados con las secreciones gástricas, las cuales están formadas por ácido clorhídrico, electrolitos, pepsinógeno, gastrina y mucus. En el control de los procesos de esta etapa, son fundamentales tanto estímulos neurológicos como hormonales. Las secreciones mucosas protegen a la mucosa gástrica y también lubrican al alimento ingerido. El ácido clorhídrico es necesario para mantener un pH adecuado para la digestión enzimática; actúa alterando la composición de las grasas y las proteínas ingeridas, preparando la posterior acción de las enzimas digestivas en el intestino delgado. Junto con la pepsina previamente formada, el ácido clorhídrico convierte al pepsinógeno en pepsina, la cual es una enzima que inicia la hidrólisis de las proteínas (Case *et al.*, 2000). Finalmente, los contenidos gástricos son pasados gradualmente hacia el interior del tubo intestinal para su digestión final y absorción.

La función principal del intestino es la asimilación de los nutrientes por medio de los procesos de digestión y absorción. Las enzimas se secretan hacia el lumen intestinal, asociándose con el borde en cepillo de la mucosa, descomponiendo al material ingerido.

En la digestión de las grasas se suceden la emulsificación, hidrólisis y micelarización, con participación de la lipasa pancreática, colecistokinina y las secreciones biliares. Los carbohidratos del tipo disacáridos son digeridos en el borde en cepillo de las células epiteliales intestinales, mientras que los polisacáridos son primero hidrolizados dentro del lumen por la amilasa pancreática a oligosacáridos, y luego éstos son digeridos en el borde en cepillo. La digestión de las proteínas comienza en el estómago con la pepsina, pero la mayor parte de la digestión proteica tiene lugar en el duodeno y yeyuno superior bajo la influencia de las proteasas pancreáticas. Estas se secretan como proenzimas inactivadas. Una de estas proenzimas, el tripsinógeno, se activa a tripsina activa por una enzima del borde luminal llamada enteroquinasa. A su vez, la tripsina activará a otras proteasas y autocatalizará la activación de más tripsinógeno (Ettinger y Feldman, 2002).

A continuación, los productos de la digestión son trasladados hacia la sangre, donde quedan disponibles para uso sistémico como sustancias metabólicas.

El contenido intestinal pasará al intestino grueso, el cual cumple la función de absorber agua y ciertos electrolitos. Las colonias bacterianas del colon de perros son capaces de digerir cierta cantidad de fibra indigestible de la dieta, pero en muy baja cantidad. Los productos de esta digestión bacteriana dan a las heces caninas su olor y color característico. Los residuos alimenticios no digeridos, células desprendidas, bacterias y secreciones endógenas no absorbidas forman la materia fecal que finalmente llega al recto y se excreta (Case *et al.*, 2000).

3.3 Nutrientes

Los nutrientes son los elementos constituyentes del alimento que ayudan a mantener la vida. Cumplen una gran gama de funciones (Lewis y Morris, 1984):

- Actúan como componentes estructurales del cuerpo.
- Participan en las reacciones químicas del organismo (metabolismo).
- Transporte de sustancias a través, dentro o fuera del cuerpo.
- Regulación de la temperatura.
- Afectan la palatabilidad y el consumo.

- Entregan energía.

Generalmente, los nutrientes se clasifican como *esenciales* (hidratos de carbono, proteínas y grasas), con función de suministrar energía, y *accesorios* (agua, sales inorgánicas y vitaminas), esenciales para la vida, pero sin suministrar energía (Frandsen, 1988).

3.3.1 Proteínas

Las proteínas son los constituyentes primarios de los tejidos estructurales y protectivos, enzimas, hormonas, y ciertas secreciones corporales, siendo uno de los componentes más importantes de la dieta del animal.

En la composición de las proteínas participan carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Son grandes moléculas complejas de elevado peso molecular, formadas por aminoácidos que se polimerizan y forman cadenas polipeptídicas. La unión entre distintos aminoácidos se lleva a cabo mediante enlaces peptídicos, en los cuales se une el grupo amino (NH₂) de un ácido, con el grupo carboxilo (COOH) de otro ácido, proceso en el cual se libera una molécula de agua (Lewis y Morris, 1984).

Existen 20 tipos de aminoácidos alfa, todos necesarios para los animales. Los animales pueden sintetizar sólo 10 de estos aminoácidos en cantidad suficiente para suplir sus necesidades, siendo llamados aminoácidos no esenciales. Los aminoácidos que no pueden ser sintetizados en cantidad suficiente deben ser absorbidos a través de la dieta, siendo llamados aminoácidos esenciales (Lewis y Morris, 1984). En el canino, estos son:

CUADRO N° 1: AMINOÁCIDOS ESENCIALES PARA CANINOS*

AMINOÁCIDOS ESENCIALES REQUERIDOS EN LA DIETA DE CACHORROS Y PERROS ADULTOS	
Arginina	Metionina (1)
Histidina	Fenilalanina (2)
Isoleucina	Treonina
Leucina	Triptófano
Lisina	Valina

*Fuente: Church, 2003.

(1): La cistina preformada cubrirá hasta el 50% de las necesidades de metionina

(2): La tirosina formada cubrirá hasta el 50% de las necesidades de fenilalanina.

El término “calidad proteínica” se refiere a las proporciones relativas de los aminoácidos esenciales en una proteína cuando se la compara con las necesidades que tiene un animal de estos aminoácidos. Por ejemplo, una proteína de alta calidad proteínica entregará todos los aminoácidos esenciales necesarios en la cantidad exacta requerida por el animal, y la de bajo valor no contendrá todos los aminoácidos (Frandsen, 1988).

3.3.2 Carbohidratos

Los hidratos de carbono están compuestos por carbono, hidrógeno y oxígeno. Se clasifican en azúcares simples como monosacáridos, oligosacáridos (de 3 a 9 unidades de azúcar: ejemplo rafinosa, esteaquiosa) y polisacáridos (más de 9 unidades de azúcar) (Gross *et al.*, 2000). Conforme aumenta la complejidad de la estructura de estas sustancias, disminuye proporcionalmente su digestibilidad.

Los hidratos de carbono cumplen múltiples funciones en el organismo, principalmente aportando energía. Para el funcionamiento del sistema nervioso central es imprescindible un suministro constante de glucosa, y el glucógeno presente en el músculo cardíaco es una fuente de suministro rápido de energía para el corazón (Case *et al.*, 2000). El glucógeno almacenado en hígado y músculos constituye la principal reserva de carbohidratos en los animales. Tanto el glucógeno como el almidón producen glucosa como compuesto final de la hidrólisis y son elementos de reserva para la formación de azúcares (Frandsen, 1988).

Los carbohidratos también aportan cadenas de carbono para formar aminoácidos no esenciales, y son necesarios para la síntesis de otros compuestos orgánicos fundamentales, como ácido glucurónico, heparina, sulfato de condroitina, inmunopolisacáridos, ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN). Al conjugarse con proteínas o lípidos, algunos carbohidratos se convierten en componentes estructurales del organismo (Case *et al.*, 2000).

3.3.3 Lípidos

Los lípidos suministran energía, ácidos grasos esenciales (cuya ausencia genera signos clásicos de deficiencia), y un medio que favorece la absorción de vitaminas liposolubles (A, D, E, K). Asimismo, forman parte de todas las membranas celulares y de la vaina de mielina de los nervios, por lo que se encuentran en todos los órganos y tejidos (Gross *et al.*, 2000).

Se pueden clasificar en lípidos simples, lípidos compuestos y lípidos derivados. Los lípidos simples incluyen los triglicéridos, que son la forma más frecuente de grasa en la dieta, y las ceras. Los triglicéridos se componen de ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol, y las ceras tienen un mayor número de ácidos grasos unidos a una molécula de alcohol de cadena larga. Los lípidos compuestos constan de un lípido, como un ácido graso, unido a una molécula no lipídica. Los lípidos derivados incluyen los compuestos de esteroles, como el colesterol y las vitaminas liposolubles (Case *et al.*, 2000). Los lípidos de la dieta se asimilan y se almacenan como grasa en los adipocitos, se incorporan a los lípidos funcionales o se catabolizan para obtener energía, dependiendo del estado energético del animal.

3.3.4 Vitaminas

Son moléculas orgánicas necesarias en cantidades mínimas en la dieta. Cumplen múltiples funciones: cofactores de reacciones enzimáticas, participan en la síntesis de ADN, liberación de energía de los nutrientes, desarrollo óseo, balance de calcio, función ocular normal, integridad de las membranas celulares, coagulación sanguínea, depuración de radicales libres, metabolismo de aminoácidos y proteínas y transmisión de impulsos nerviosos (Gross *et al.*, 2000).

Las vitaminas se clasifican en dos grupos, según su solubilidad: vitaminas liposolubles que se disuelven en grasas o son absorbidas con ellas (A, D, E y K) y vitaminas hidrosolubles, las cuales se disuelven en agua o se absorben junto con ella (B1, B2, B6, B12, C, niacina y ácido fólico). Las vitaminas liposolubles se digieren y absorben usando los mismos mecanismos que los lípidos presentes en el alimento, y sus metabolitos se excretan principalmente por las heces, a través de la bilis. A su vez, las hidrosolubles se absorben de forma pasiva en el intestino delgado y se excretan por la orina (Case *et al.*, 2000). Tanto el exceso como la deficiencia de vitaminas generan alteraciones en el organismo.

3.3.5 Minerales

Los minerales corresponden a los elementos inorgánicos presentes en el alimento. Desempeñan funciones como componentes estructurales de órganos y tejidos, componentes de los líquidos y tejidos, catalizadores/cofactores en los sistemas enzimáticos y hormonales, componentes integrales y específicos de la estructura de las metaloenzimas o como activadores menos específicos en estos sistemas (Gross *et al.*, 2000).

Se clasifican en dos grupos: macroelementos y microelementos (Case *et al.*, 2000). Los primeros se encuentran en cantidades apreciables en el organismo y corresponden a la mayor parte del contenido mineral del cuerpo. Incluyen el calcio, el fósforo, azufre, magnesio y los electrolitos sodio, potasio y cloro. El segundo grupo, también llamados oligoelementos, comprenden un variado grupo de minerales que se presentan en el organismo en cantidades muy reducidas.

Es importante mencionar que existen interrelaciones entre numerosos minerales, las cuales pueden afectar la absorción, el metabolismo y la funcionalidad de los minerales. De este modo, el exceso o deficiencia de algunos minerales afecta de modo importante la capacidad del organismo para utilizar otros minerales presentes en la dieta. Es por esto que se debe considerar el nivel de la mayoría de los minerales en la dieta, en relación con los otros componentes de la ración, para así alcanzar un equilibrio global óptimo.

3.4 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE CANINOS

Estos se determinan principalmente en base a los boletines del “Nacional Research Council” (NRC) y los perfiles nutricionales de la “Association of American Feed Control Officials” (AAFCO).

Los requerimientos mínimos para perros en crecimiento y mantención determinados por el NRC fueron definidos en base a dietas purificadas de extrema digestibilidad y no con los alimentos comerciales presentes en el mercado, no considerando por tanto la biodisponibilidad de los nutrientes o efectos del procesamiento. Debido a esto no se aconseja utilizar dichos valores como cantidad mínima de ingesta diaria de un nutriente ya que subestima la cantidad real del nutriente entregado (Alvarado, 2003). Por otra parte, en las recomendaciones de ingesta diaria establecidas por la AAFCO se incorporan factores de seguridad que compensan las fluctuaciones en la biodisponibilidad de nutrientes del alimento causadas por las variaciones de los ingredientes, pérdidas durante el procesamiento y por las diferencias individuales de los requerimientos nutricionales.

Por otra parte, en Chile se publica en el año 2001 la Norma Chilena (NCh) 2546, en la cual se presentan los requisitos y la rotulación de alimentos completos para perros y gatos. En esta norma se utiliza el perfil nutricional de la AAFCO para definir los requerimientos para caninos y felinos.

3.4.1 Requerimientos energéticos

La energía es generada por las grasas, proteínas y carbohidratos. Es utilizada por el canino para mantener cuatro funciones: metabolismo basal, gastos de incremento de calor, actividad y producción (crecimiento, gestación, lactancia) (Steiff y Bauer, 2001). Según la AAFCO (2005), las formulaciones para caninos deben contener 3,5 Kcal de energía metabolizable (EM)/g base materia seca (BMS).

3.4.2 Requerimiento de proteínas

Las necesidades de proteína dependen de la calidad de las proteínas (contenido de aminoácidos esenciales), digestibilidad, ingesta de energía, estado nutricional previo, patrón de alimentación, edad, tasa de crecimiento, estado reproductivo y concentración de grasas de la dieta (proporción proteínas/energía) (Church, 2003). El contenido mínimo recomendado para un alimento seco es 18% BMS para un adulto en mantención y 22% para crecimiento y reproducción (AAFCO, 2005).

3.4.3 Requerimiento de minerales

En los minerales, si bien todos deben ser incluidos, son dos los más importantes al formular una dieta, calcio y fósforo. La recomendación de AAFCO para calcio es de 0,6% de MS para mantención, y entre 1,0 a 2,5% de la BMS para crecimiento y reproducción. Asimismo, para fósforo recomienda 0,5% y 0,8 a 1,6% de la BMS respectivamente. Asimismo, la proporción de ambos minerales debe ser cercana a 1:1, máximo 2:1 de calcio-fósforo.

3.4.4 Requerimiento de vitaminas

De las vitaminas liposolubles, la vitamina A tiene gran importancia para la visión y para la diferenciación de las células epiteliales. El mínimo recomendado por la AAFCO es de 5.000 UI/Kg de BMS, y el máximo de 50.000 UI/Kg de BMS. Los perros no pueden convertir los carotenos a vitamina A, y una deficiencia de dicha vitamina puede causar anorexia, xeroftalmia y disminución de la función reproductiva.

La vitamina E es un importante antioxidante, y sus requerimientos para caninos oscilan entre 50 UI/Kg a 1.000 UI/Kg de BMS (AAFCO, 2005).

3.4.5 Requerimiento de grasa

La grasa debe ser incluida en la dieta pues contiene dos ácidos grasos esenciales para los mamíferos (18:2n-6, ácido linoleico; 18:3n-3, ácido α -linoleico). La recomendación de la AAFCO es de 5% de lípidos para mantención, 8% para crecimiento

y reproducción, y la incorporación de 1% de ácido linoleico. Esto para una dieta que aporte 3,5 Kcal/g de BMS.

3.5 ALIMENTOS PARA MASCOTAS

Según la Norma Chilena 2546, se define alimento completo para mascotas a aquel preparado en distintas formas de presentación y distribuido para el consumo de perros y gatos, que es capaz de satisfacer por si solo todos los requerimientos nutricionales de éstos.

3.5.1 Requisitos

Los alimentos para mascotas deben cumplir ciertos requisitos (Cornejo, 1995):

- Deben contener y aportar niveles adecuados de energía.
- Deben contener y aportar niveles adecuados y disponibles de proteína (aminoácidos), ácidos grasos esenciales, vitaminas, minerales, además entregar agua, según las necesidades.
- Los alimentos que se utilicen para aportar los nutrientes, deben ser palatables y estar libres de contaminantes y/o principios tóxicos que limiten o anulen sus eventuales ventajas nutricionales.

Los alimentos para perros están compuestos por ingredientes tales como maíz, sorgo, trigo, arroz, salvado de trigo, harina de gluten de maíz, harina de soya, harina de carne, harina de carne y hueso, aves, harina de aves, harina de subproductos de aves, leche descremada en polvo, suero de leche, grasa animal, L-lisina, DL-metionina, sal, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, minerales traza y vitaminas. También pueden adicionarse estimulantes del apetito y sustancias tales como antioxidantes: hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, etoxiquina y galato de propilo (Church, 2003).

3.5.2 Tipos de alimentos

Actualmente existen varios tipos de alimentos comerciales para mascotas, clasificándose en húmedos, semi-húmedos y secos.

Los alimentos húmedos poseen entre 60 a 87% de humedad. Contienen altos niveles de carne y sus subproductos. También poseen mayores porcentajes de proteínas, fósforo, sodio y grasa que sus símiles secos o semi-húmedos. Presentan una densidad calórica baja, variando entre 0,7 a 1,4 Kcal de energía metabolizable/gr de alimento. Se preparan cocinando y mezclando todos los ingredientes conjuntamente, luego se enlata y cuece la mezcla y la lata sellada se esteriliza. La temperatura y duración de esta fase varía según el producto y tamaño de la lata, pero generalmente corresponde a 250°C durante 60 minutos (Case *et al.*, 2000). Con el fin de solidificar el alimento y disminuir el agua libre en el envase se utilizan gomas y agentes gelificantes.

Para su conservación, se esterilizan con calor y vacío en un ambiente anaeróbico. La estabilidad del producto es alta, siendo su fecha de vencimiento de hasta 18 meses, si se mantiene la integridad mecánica de las uniones y los sellos de las tapas (Crane *et al.*, 2000).

A su vez, los alimentos semi-húmedos poseen entre 15 a 35% de agua. En su elaboración se adicionan humectantes y se acidifican con ácidos orgánicos simples para disminuir el pH del producto e inhibir el crecimiento bacteriano. Son altamente palatables (Case *et al.*, 2000).

Por último, los alimentos secos contienen entre 6 a 10% de agua, y poseen una densidad calórica promedio de 3,5 Kcal de energía metabolizable/gr de alimento. Cuentan con menor contenido en proteínas, grasas y la mayoría de los minerales expresado en base de materia seca, que el promedio de los alimentos húmedos. Generalmente estos alimentos se elaboran mediante extrusión, pero también es factible los métodos de cocción, formación de copos, granulado, desmenuzado y las harinas secas (Crane *et al.*, 2000).

Entre las ventajas y desventajas de la dieta seca se destacan (Saavedra, 1996):

Ventajas

- Economía en el producto terminado: su costo es entre un 30% y 50% menor que los de humedad intermedia o en los enlatados.
- Pueden ser ofrecidos a libre disposición.
- Mantienen a los perros saludables y bien nutridos.
- Ofrecen comodidad de manejo para los dueños.

Desventajas

- Son menos palatables que las otras dos categorías.
- Sólo pueden incorporarse ingredientes secos (no puede usarse tejido fresco de animales).
- El contenido graso que se incluye debe ser restringido.
- El consumo por parte de lactantes y cachorros es dificultoso.
- La digestibilidad tiende a ser menos que en las otras formas de presentación.
- Reducido contenido de ácidos grasos esenciales.
- Vencimiento no superior a los 12 meses en la mayoría de los casos.

El proceso de extrusión de los alimentos mejora la digestibilidad de los hidratos de carbono complejos y refuerza su sabor. Además, el calor esteriliza el producto, lo cual aunado a la escasa humedad presente en dichos alimentos ayudará a evitar la contaminación con hongos y bacterias (Case *et al.*, 2000). Asimismo, destruye a la mayoría de los inhibidores enzimáticos y a los microorganismos sensibles a la temperatura, generando un producto altamente estable (Horn, 1979).

La extrusión también mejora la digestibilidad de la proteína, aunque esta es mayor en alimentos húmedos (varía entre 80% en alimentos secos a 90% en enlatados, dependiendo de la calidad del alimento). Asimismo, la digestibilidad depende de la fuente de la proteína; la de origen vegetal tiene menor digestibilidad que la de origen animal.

3.6 PROCESO DE EXTRUSIÓN

3.6.1 Características

La extrusión es una tecnología para impartir nueva textura a materias primas, siendo una más entre varios procedimientos de texturización (Muller y Riel, 1990). Este proceso forma parte de los denominados como HTST (“High Temperature Short Time”).

Este proceso facilita la denaturación de las proteínas, la gelatinización del almidón, la inactivación de enzimas, destrucción de factores tóxicos y disminución de la carga microbiana en el producto final (Vivanco, 1995). Se ha utilizado en la elaboración de diversos productos de la industria alimentaria, destacándose en la fabricación de alimentos para mascotas, animales de producción y peces; panadería; cereales para el desayuno; alimento para bebés; entre otros (APV, 1988).

Las ventajas técnicas y económicas del proceso de extrusión son muchas, entre las que se cuentan (Horn, 1979):

- Versatilidad: El sistema puede producir un amplio rango de productos terminados, con formas y tamaños distintos a partir de ingredientes crudos.
- Eficiencia de operación: El sistema de extrusión desempeña todas las funciones necesarias para transformar cereales crudos y otros ingredientes en alimentos terminados, ya sea para uso humano, animal o industrial.
- Alta calidad del producto: Debido a que es un proceso de alta temperatura y corto tiempo (HTST), puede destruir la mayoría de los microorganismos o denaturar enzimas que causan la rancidez en aceites. Los factores antinutricionales pueden ser inactivados mientras que hay mínimo detrimento en reacciones tales como la pérdida de la lisina disponible o la disminución de la actividad de las proteínas.
- Alta productividad: La producción promedio de un sistema de extrusión oscila entre los 1.000 a 10.000 kg de producto terminado por hora. Para controlar ese proceso hacen falta muy pocos trabajadores por lo que redundan en menores costos de producción.

- Ausencia de efluentes: Se requiere un mínimo de humedad para el proceso, y por tanto no se generan descargas o efluentes contaminantes.
- Atractivo económico: La eficiencia del proceso a gran escala lo convierte en una de las mejores alternativas de uso eficiencia de la energía.

3.6.2 Descripción del proceso

Un extrusor se compone de los siguientes elementos (Casp, 1999):

- Una carcasa con regulación térmica
- Uno o dos tornillos que giran dentro de esta carcasa
- Una boquilla de forma variable
- Los dispositivos de alimentación de productos sólidos y/o líquidos de caudal variable
- Un motor-reductor de velocidad variable que arrastra al o a los tornillos

El proceso de elaboración de los alimentos extruídos comienza con la molienda de los ingredientes seleccionados. La uniformidad el tamaño de las partículas facilita el pasaje a través del extrusor, la absorción adecuada de agua y el cocinado completo. Posteriormente, el resultado de la molienda se combina en mezcladoras especiales. Es importante considerar que la molienda es el paso más limitante en la producción de alimentos balanceados y representa el 50-60% de los costos de manufactura. Asimismo es de gran importancia en el mezclado ya que esta afecta directamente la homogeneidad de la mezcla y del producto final (Bortone, 2002).

También la molienda juega un papel importante en el preacondicionamiento. A menor tamaño de partícula más superficie de área será expuesta a la acción del vapor. Esto va a permitir que el vapor se condense en más partículas y al hacer esto, transfiera su calor y el agua sea absorbida o internalizada más rápidamente. Partículas más grandes requerirán de mayor tiempo de residencia en el preacondicionador para lograr la gelatinización de los almidones, lo cual juega un papel muy importante en la estabilidad de los pellets (Bortone, 2002).

Paso seguido, vienen la etapa de preacondicionamiento de la mezcla seca para permitir la gelatinización de los almidones, ubicándose la mezcla seca dentro del preacondicionador, el cual posee un sistema de pesaje que mantiene una proporción constante de alimento. Este posee paletas mezcladoras/transportadoras, que revuelven la mezcla seca y agregan líquido (grasa, carne molida, etc.), junto con agua y vapor para aumentar el contenido de humedad y alistar la mezcla para la cocción y el formado. Tanto la mezcla como el líquido se retienen dentro del preacondicionador alrededor de 45 segundos. En este proceso se alcanza un 20-25% de cocción del almidón (una mezcla del tiempo completo de cocción por extrusión) (Cowell *et al.*, 2000).

Los extrusores de tornillo único consisten en un tonel cilíndrico multisegmentado con un tornillo único que empuja, mezcla y cocina el material y lo fuerza a través de un cuño con múltiples agujeros donde es cortado a la longitud deseada por cuchillos rotatorios, funcionando mediante el principio de fricción. El cocimiento de la masa se alcanza cuando el material toma contacto con la pared del barril (Cowell *et al.*, 2000). En este tipo de extrusor la distancia desde la superficie del tornillo a la carcasa puede ser constante o decreciente. En el primer caso, el paso del tornillo será decreciente, mientras que en el segundo caso será constante. La reducción de la distancia entre tornillo y carcasa se puede lograr de dos formas: usando un tornillo cilíndrico y una carcasa cónica o usando una carcasa cilíndrica y un tornillo cónico (Casp, 1999).

Los extrusores de tornillos dobles son muy similares a los de tornillos únicos, salvo que poseen dos tornillos, los cuales pueden ser corrotatorios o contrarrotatorios, engranados o no engranados. Los beneficios del modelo engranado es que sus tornillos engranados mezclan de forma más uniforme, entregan más energía de fricción y transportan la masa hacia delante con mayor efectividad, permitiendo acortar el tiempo de cocción y de hacer dicho proceso más uniforme. Además, ciertos productos con alto porcentaje de grasa (25%) sólo deben procesarse en extrusores de tornillos dobles, debido al efecto lubricante de la grasa. Las mezclas muy pegajosas también deben ser extruídas en este modelo doble ya que posee mejor acción bombeadora y mayor capacidad de cocción (Cowell *et al.*, 2000).

La diferencia principal desde el punto de vista funcional, entre un extrusor de uno o dos tornillos radica en el mecanismo de transporte. En los extrusores de un tornillo el transporte del producto se genera gracias a las fuerzas de rozamiento y su eficacia depende, esencialmente, de la adherencia del material a la carcasa. Si el material se adhiere al tornillo la eficacia será menor, ya que tanto el material como el tornillo girarán dentro de la carcasa sin que se produzca cizallamiento. Aunque estos equipos son más baratos que los de dos tornillos, su uso se limita a materias primas que tengan una humedad comprendida entre el 10 y el 30% y una concentración baja de lípidos (Casp, 1999).

Con el fin de obtener distintos tipos de productos, se modifican ciertas condiciones del proceso. Como ejemplo, si la dieta es rica en fibras y baja en grasas se genera más fricción, siendo más propensa al cocimiento en exceso. De este modo, se puede reducir la velocidad del tornillo, el perfil del tornillo, la proporción de alimento o la cantidad de preacondicionamiento, aumentar la grasa, o combinar algunas de estas variables permitirán reducir el tiempo de cocción, el cual varía entre 10 a 270 segundos con temperaturas entre los 80° a 270° C (Cowell *et al.*, 2000).

El sistema de HTST (High Temperatura Short Time) empleado en la elaboración de alimentos para mascotas incorpora beneficios tales como (Casp, 1999):

- Cocción completa
- Destrucción de microorganismos
- Desnaturalización de factores antinutricionales similares al inhibidor de tripsina y de las enzimas hidrolíticas que conducen a la rancidez.

Lamentablemente, también se presenta pérdida de nutrientes debido a las altas temperaturas y a las fuerzas de deslizamiento, principalmente de pérdidas de vitaminas A y E del 21 al 26% y de tiamina del 12%. Para compensar tales pérdidas, se agregan niveles de vitaminas más altos a la premezcla (Cowell *et al.*, 2000).

Producto de la cocción, se obtiene una masa gelificada, la cual pasa a través de un cuño, el cual le otorgará la forma definitiva al producto. El cuño consiste en una placa removible con una o más aberturas con la forma requerida, que se une a la cabeza de la

camisa del extrusor. Además de otorgar la forma final del alimento, entrega la presión de retroceso que se necesita para el deslizamiento y es también el punto final de cocción. El número de aberturas del cuño, la forma de éstas y el espesor del cuño contribuyen con la densidad, textura y forma del extruído. El cuño posee una cuchilla ensamblada a su parte externa, la cual corta las croquetas una vez que salen del extrusor, dejándolas del tamaño deseado.

Una vez cortadas, se transportan por medio de aire al secador, el cual elimina entre 10 a 15 % de humedad, además del 2 ó 3% perdidos durante el transporte hacia el secador. El aire caliente elimina la humedad del centro de la croqueta hacia la superficie externa donde la humedad se evapora en la atmósfera. Una vez que el producto reduce su humedad a 8 ó 10%, inhibe el crecimiento de hongos y bacterias, aumentando la vida útil del producto (Cowell *et al.*, 2000).

Finalmente, las croquetas son revestidas por coberturas, las cuales se aplican en un tambor rotatorio al cual se adicionan líquidos (grasas, exaltadores del sabor o ambos). Posteriormente, el producto es envasado en bolsas de tamaño variable.

3.7 DETERIORO DE LOS ALIMENTOS

Los elementos que constituyen la materia prima para producir alimentos de mascotas (productos agrícolas, cárnicos, harinas, granos, entre otros) contienen una amplia variedad de microorganismos sobre los mismos o en su interior al ser recolectados, sacrificados y procesados. El número y el tipo de microbios que forman esta contaminación primaria varían de un producto a otro, con la región geográfica y con los métodos de sacrificio, recolección y de producción del alimento. Algunos se multiplican sobre el alimento provocando su alteración; otros generan riesgos para salud de los consumidores al causar enfermedades por infección o por intoxicación después de multiplicarse en el alimento y generar una toxina (ICMSF, 1991).

Un alimento puede ver alteradas sus características organolépticas y de composición por varias razones (Frazier y Westhoff, 1993):

- Crecimiento y actividad microbiana.
- Insectos.
- Acción de enzimas presentes en el alimento vegetal o animal.
- Reacciones químicas no enzimáticas.
- Cambios físicos, tales como los causados por congelación, quemaduras, desecación, presión, etc.

3.7.1 Factores de deterioro de los alimentos

Respecto al crecimiento y actividad microbiana, existen varios factores que influyen en dicha actividad, los cuales se clasifican en (Mossel y Moreno, 1994):

1- Factores Intrínsecos

Estos corresponden a los atributos propios del alimento; pH, actividad del agua, potencial redox, nutrientes, etc.

- Concentración de iones hidrógeno (pH)

El pH de los alimentos es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesado, almacenaje y distribución (ICMSF, 1983). Este valor es variable, siendo mayoritariamente neutro o ácido. Del mismo modo, cada microorganismo tiene un pH mínimo, máximo y óptimo, en función de su crecimiento. Los alimentos con pH bajo (inferior a 4,5) no son fácilmente alterados por las bacterias, siendo más sensibles a levaduras y mohos (Frazier y Westhoff, 1993).

- Actividad del agua

La actividad de agua (a_w) es un factor que incide directamente en el desarrollo bacteriano. Se define como la presión de vapor de la solución dividida por la presión de vapor del disolvente (generalmente agua). En el agua pura, este valor es de 1,00. La mayoría de los microorganismos, incluyendo bacterias patógenas, crecen más rápidamente a niveles de a_w de 0,99-0,98; a valores inferiores, la velocidad de crecimiento

y la población estacionaria o la masa celular final disminuye y la fase de latencia aumenta, llegando finalmente a detenerse. A valores elevados (0,98-1,0) se favorece el crecimiento de casi todos los microorganismos, siendo las bacterias las que crecen con mayor rapidez; a valores menores de 0,95 disminuye la importancia de los bacilos gram negativos y aumenta el de cocos y lactobacilos gram positivos; y a valores menores de 0,87 se inhibe el desarrollo de bacterias y disminuye el desarrollo de levaduras, pudiendo proliferar únicamente los mohos (ICMSF, 1983).

Cuando la humedad relativa del aire que rodea al alimento corresponde a la humedad disponible o actividad del agua del alimento, éste y el aire estarán en equilibrio respecto a humedad. Si la humedad relativa del aire es mayor que la a_w del alimento, éste absorberá humedad; en cambio, si la humedad relativa del aire es menor que la a_w del alimento, éste perderá humedad en su superficie (Frazier y Westhoff, 1993). Los alimentos comerciales extruídos poseen una a_w menor a 0,60 (ICMSF, 1984), esto mientras están sellados. Una vez que el envase es abierto (lo que sucede con los alimentos vendidos “a granel”), la presión del vapor del agua ambiental que rodea al alimento incidirá sobre su a_w , aumentándola, lo que facilita la difusión de bacterias móviles y arrastra a las no móviles, además de permitir el crecimiento de mohos.

- Potencial de óxido-reducción (O-R)

El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular (ICMSF, 1983). El potencial de O-R del alimento y la tensión de oxígeno en torno al alimento tienen influencia en la clase de microorganismos que en él se desarrollan. Cuando el potencial de O-R es alto (oxidante), favorece el crecimiento de los aerobios pero permite el desarrollo de los microorganismos facultativos. Los potenciales bajos (reductores) facilitan el crecimiento de los gérmenes anaeróbicos y facultativos. El potencial de O-R de un sistema se denomina Eh y se expresa en milivoltios (mV). Si el sustrato es muy oxidado tendrá un Eh positivo, mientras que si es reducido será Eh negativo. Los microorganismos aerobios necesitan valores de Eh positivos y los anaerobios, negativos (Frazier y Westhoff, 1993).

2- Factores extrínsecos

Corresponden a las características propias del ambiente donde se almacena el alimento, como la temperatura, humedad, gases atmosféricos.

3- Factores implícitos

Son las relaciones de dependencia entre los distintos microorganismos que permanecen en el alimento, las cuales pueden ser sinérgicas o antagónicas.

4- Métodos de procesamiento de los alimentos

Se refiere a los tratamientos tecnológicos a los que ha sido sometido el alimento y que modifican la microflora inicial, como ejemplo, irradiación, tratamientos térmicos, uso de sustancias químicas, etc.

3.8 MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS

La proliferación de microorganismos en los alimentos es de gran importancia pues estos pueden atacar al alimento de dos formas (Mossel y Moreno, 1994):

- Deteriorando el alimento.
- Produciendo enfermedades transmitidas por los alimentos.

Asimismo, las enfermedades de origen alimentario se dividen en dos (Miller y Cullor, 2002):

- Infecciones alimentarias: Generalmente de origen bacteriano, causadas por ingestión de células microbianas infecciosas que invaden los tejidos del huésped y después de un periodo de incubación producen la enfermedad.
- Intoxicaciones alimentarias: Originadas por la ingestión de un alimento que ya contiene una toxina microbiana. Como no necesitan replicación celular, los signos de intoxicación son muy rápidos, ocurriendo a veces antes de 1 a 6 horas después del consumo.

3.9 MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN CANINOS

En los caninos, los microorganismos pueden generar cuadros clínicos diversos, destacándose las diarreas bacterianas, de tipo toxigénica (en la cual una enterotoxina es el principal mecanismo patogénico) y las de tipo invasivo (en la cual el microorganismo penetra la superficie de la mucosa como evento primario).

Los microorganismos toxigénicos elaboran toxinas que causan secreción de fluidos y electrolitos en el intestino; estas enterotoxinas se unen a la célula y causan hipersecreción de fluidos a una tasa que supera la capacidad de reabsorción de las vellosidades vecinas y la capacidad de reserva del colon. La enterotoxina puede ser ingerida directamente en el alimento, como la intoxicación por estafilococo. A pesar que la diarrea puede llegar a ser severa, en la mayor parte de los casos no hay evidencia de lesión en la mucosa intestinal. Entre los organismos toxigénicos se encuentra *E. coli*, la cual posee una toxina termolábil (LT) que se une a la célula epitelial, y una toxina termoestable (ST) que induce una diarrea secretoria a través de alteraciones en el cGMP (Larenas, 1995).

En las de tipo invasivo, se afectan la porción caudal, principalmente de ileon y colon, teniendo la capacidad de invadir el epitelio intestinal. Las alteraciones histológicas incluyen ulceración de la mucosa, con una reacción inflamatoria aguda en la lámina propia. Aunque los diferentes patógenos (*Salmonella*, *E. coli*, *Yersinia*) tienen sitios y cursos clínicos distintos, el evento inicial es la invasión de la mucosa. La diarrea y producción de fluido inicial, puede ser causado por la liberación concomitante de enterotoxina. Los organismos invasivos pueden incrementar la síntesis local de prostaglandinas en el sitio de inflamación y el epitelio dañado puede no reabsorber líquido. Por otra parte en infiltraciones severas y crónicas lo prolongado de la enfermedad y la pérdida del epitelio y su función, puede llevar a una enteropatía con pérdida de proteína (Larenas, 1995).

Una diarrea inflamatoria invasiva puede ser causada por la invasión de la mucosa además de un daño celular por una citotoxina. La mayoría de los microorganismos de este grupo invaden primeramente el ileon posterior (*Shigella*, *Yersinia enterocolitica* y *Campylobacter jejuni*). Hay una respuesta inflamatoria a la invasión y las fecas contienen

células inflamatorias, grandes cantidades de proteína y frecuentemente sangre sin digerir. Los organismos raramente invaden la circulación sanguínea y producen linfadenitis (*Salmonella*). Los signos sistémicos dependen del sitio de la invasión y la respuesta del huésped, pero son inespecíficos (Larenas, 1995).

A continuación se describirán algunas características importantes de los microorganismos mencionados:

3.9.1 *Salmonella sp.*

Salmonella sp., es un bacilo de la familia Enterobacteriaceae, móvil, no forma esporas y es gramnegativa (Greene, 1993). A diferencia de las demás bacterias entéricas (excepto *Yersinia*), son con frecuencia parásitos intracelulares facultativos. Las cepas invasoras son englobadas por macrófagos y su diseminación es a través del sistema linfático (Carter, 1991). Puede residir en el tubo intestinal de una gran variedad de mamíferos, aves, reptiles e incluso insectos (Ettinger y Feldman, 2002). Suele aislarse de fecas de perros sanos, existiendo un 10% de portadores asintomáticos. Afecta al ileon y en menor grado al colon. El cuadro clínico suele estar limitado a la invasión de la mucosa con signos típicos de una enterocolitis aguda o puede desarrollar una septicemia potencialmente fatal con signo de enfermedad sistémica y aún una coagulación intravascular diseminada. Las formas leves son autolimitantes y la infección se localiza en la mucosa y ganglios linfáticos mesentéricos.

La infección se genera a través de la ruta fecal-oral, principalmente a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados, pudiendo sobrevivir en el ambiente por largos períodos de tiempo (Ettinger y Feldman, 2002).

La salmonela se encuentra en todo el mundo y es considerada una de las enfermedades zoonóticas más importantes. Asimismo, es uno de los patógenos de mayor relevancia en las enfermedades transmitidas por los alimentos en el mundo desarrollado (Del Cerro *et al*, 2003). Se describe que en humanos causa 1,4 millones de casos de enfermos al año, y aproximadamente 500 muertes (Li, 2004). En los seres humanos, *Salmonella sp.* puede causar gastroenteritis desde ligeras hasta graves (Greene, 1993).

Los síntomas típicos incluyen náuseas, vómitos y diarrea, pudiendo presentarse complicaciones tales como septicemia o artritis reactiva (Li, 2004).

Los brotes en seres humanos se pueden producir por el consumo de alimentos de origen animal contaminados; sin embargo, se ha reconocido que los perros son también vectores importantes debido a sus hábitos de coprofagia, ingestión de carroña y proximidad a la gente. La incidencia de casos de infecciones por *Salmonella sp.* en caninos es mayor en perros vagos y de caniles que en perros domésticos (Hackett y Lappin, 2003).

3.9.2 *E. coli*

Se aísla en una gran variedad de de infecciones, en muchas especies animales.

Se distinguen dos tipos de *E. coli*: cepas oportunistas y cepas enteropatógenas (enterotoxigénicas) o productoras de enterotoxina. Algunas cepas tienen una sola posibilidad invasora, determinada por su capacidad para atravesar la mucosa intestinal. Puede estar afectado el sistema linfático y no pocas veces se produce septicemia terminal. La colonización del intestino delgado por cepas enterotóxicas de *E. coli* depende de ciertos pili. Las cepas enterotóxicas producen dos enterotoxinas: una termolábil (LT) y una termoestable (ST), diferenciándose ambas en sus propiedades tóxicas, inmunológicas, físicas y químicas. Generalmente las cepas productoras de enterotoxinas no son invasoras, pero su enterotoxina es adsorbida en las células epiteliales. La enterotoxina LT activa la enzima adenilciclase, produciendo esta última la transformación del ATP en AMP cíclico, generando la excreción de Cl⁻ e inhibiendo la adsorción de Na⁺, dando como resultado una gran pérdida de líquidos (Carter, 1991).

También pueden producir una verotoxina (VT), la cual genera alteraciones letales en células Vero, denominándose también como "Shiga-like toxin" por estar relacionada en estructura y función con la toxina Shiga producida por *Shigella dysenteriae*. Las cepas de *E. coli* verotoxigénicas (VTEC) pueden sintetizar VT1, VT2 o ambas citotoxinas que inhiben la síntesis proteica. Son liberadas en el intestino, pasan a la sangre, lesionan el endotelio, provocan coagulación intravascular local, acumulación de fibrina en el SNC, en el tubo digestivo y en los riñones (Zamora, 2000).

Como *E. coli* es un componente normal de la microflora intestinal su sólo aislamiento no indica infección. La identificación de las cepas patogénicas requiere procedimientos especializados como los bioanálisis para toxinas y sondas genómicas para la identificación de marcadores de patogenicidad (Ettinger y Feldman, 2002).

Uno de los principales patógenos emergentes es *E. coli* O157:H7, que causa anualmente 73.000 casos de enfermos humanos y 61 muertes por año en los Estados Unidos. La enfermedad generada por esta bacteria produce en los individuos susceptibles un amplio rango de síntomas, incluyendo colitis hemorrágica y otras complicaciones, incluyendo síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica trombocítica (Li, 2004). Se han presentado varios brotes asociados a transmisión por alimentos, especialmente por consumo de pollo, hamburguesas, sandwiches de jamón y queso, leche y carne de vacuno (Kim *et al.*, 2004).

3.9.3 *Campylobacter*

Campylobacter es un género de bastones gramnegativos, delgados, curvos, móviles, que se encuentran solos, en parejas o en cadenas con tres o cinco espirales, siendo *C. jejuni* el microorganismo que se relaciona con la enfermedad diarreica en perros, gatos y seres humanos, generando enteritis. La mayoría de los casos de campilobacteriosis son eventos aislados o esporádicos y no suele asociarse a brotes epidémicos (Rodrigo, 2005).

A pesar de no estar muy clara la patogénesis de la enfermedad gastrointestinal, se piensa que los microorganismos son invasivos. Además, se han aislado una serie de factores de virulencia como enterotoxinas, citotoxinas o propiedades de adherencia e invasión (Larenas, 1995).

Campylobacter puede actuar como agente primario o como patógeno oportunista. Adicionalmente, los perros aparentemente sanos pueden infectarse y hospedar a los microorganismos sin desarrollar diarrea (Miller y Cullor, 2000). Se describe que la mayoría de las infecciones son asintomáticas y las tasas de portación en animales sanos ascienden hasta el 50% (Ettinger y Feldman, 2002).

En el perro, el síndrome clínico se presenta con mayor frecuencia en animales menores de seis meses de edad. Del mismo modo, son más sensibles cuando están estresados, padecen de otra enfermedad o durante la preñez (Ettinger y Feldman, 2002).

La principal vía de infección es la transmisión fecal-oral, asociado a la contaminación de alimentos o de agua para consumo. El contacto con fecas de animales infectados también puede ser una ruta de contagio (Miller y Cullor, 2000).

La diarrea tiene un amplio espectro clínico y varía desde fecas de menor consistencia, o blandas, a diarrea acuosa y/o sanguinolenta. La campilobacteriosis aguda de cachorros y algunos perros adultos se manifiesta por diarrea llena de moco, líquida o manchada de bilis (con o sin sangre y leucocitos), de 5 a 15 días de duración. En algunos casos la diarrea se hace crónica, durando dos o más semanas, intermitente o en algunos casos por varios meses (Greene, 1993).

Respecto a la salud pública, se reconoce que *C. jejuni* es una de las principales causas de enfermedades entéricas en seres humanos, y que cachorros y gatos pueden ser fuentes de infección para las personas. En seres humanos la infección suele ser grave y además de diarrea se presenta vómitos, fiebre y molestias abdominales (Greene, 1993). También se describe enterocolitis aguda y bacteremia (Miller y Cullor, 2000).

3.9.4 *Yersinia*

Yersinia enterocolítica es un cocobacilo gramnegativo, móvil, que ha sido reconocida como causante de enterocolitis aguda y crónica en humanos (Ettinger y Feldman, 2002).

Se ha aislado desde perros y gatos clínicamente sanos y se piensa que puede ser un microorganismo comensal. Por otra parte, también se aisló desde fecas de perros jóvenes con enfermedad digestiva sintomática, y desde personas con enfermedad clínica que contrajeron los microorganismos por contacto con las fecas de mascotas infectadas. Los animales domésticos actúan más bien como importantes reservorios de estos agentes, a pesar de que la literatura ha descrito a *Y. enterocolítica* en infecciones entéricas en diferentes especies y como causante de abortos en ovinos (Zamora, 1997).

El contagio se produce principalmente por el consumo de alimentos y/o agua contaminada, aunque también existe la transmisión fecal-oral (Miller y Cullor, 2000).

El cuadro presenta antecedentes de diarrea por varias semanas caracterizada por incremento en la frecuencia de las evacuaciones, tenesmo, sangre y moco. Asimismo, se le asocian signos y síntomas tales como linfadenitis mesentérica, ileítis terminal, pseudoapendicitis, entre otros (Zamora, 1997). En contraste con los seres humanos, el perro no presenta la enfermedad sistémica (Greene, 1993).

3.9.5 *Shigella*

Las Shigellas comprenden un género de bacterias gramnegativas, no móviles, y que causan el síndrome diarreico conocido como disentería bacilar en humanos y primates.

A pesar de ser principalmente patógena para humanos y primates, los perros pueden infectarse mediante alimentos y agua contaminados por heces humanas. Una vez que el perro contrae la infección, tal vez no sea portador sino sólo excretor pasajero de los microorganismos (Greene, 1993).

Shigella dysenteriae tipo 1 posee una enterotoxina que aumenta las secreciones de líquidos intestinales, pudiendo generar ulceración. Puede invadir las células epiteliales intestinales con necrosis y hemorragia. Las manifestaciones sistémicas incluyen coagulación intravascular diseminada, con insuficiencia renal, trombocitopenia, y anemia hemolítica microangiopática (Greene, 1993).

3.9.6 Mohos

Los mohos, además de provocar alteraciones organolépticas, generan micotoxinas, las cuales pueden ocasionar cuadros clínicos de gravedad en animales, aún al estar presentes en concentraciones muy bajas.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de mohos, producidos en la etapa final del crecimiento exponencial de una colonia fúngica y no tienen aparentemente importancia en el crecimiento o metabolismo de de estos organismos (Alvarado, 2005). Estos metabolitos provocan cambios patológicos tanto en seres humanos como animales, denominándose micotoxicosis a los síndromes de la toxicidad resultante de la absorción de micotoxinas. Las micotoxinas pueden ser producidas antes o después de la cosecha, durante el almacenaje, transporte, procesamiento o en el momento de ser utilizados en alimentación.

Son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$) y suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies de un mismo género. El mismo compuesto, no obstante, puede ser también elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos. En general, cuanto más compleja es la ruta biosintética de una micotoxina, menor será el número de especies fúngicas capaces de elaborarla (De Luca, 2005).

Estas toxinas no pueden ser completamente evitadas o eliminadas de los alimentos por los procesos agronómicos y de manufactura, y son consideradas contaminantes inevitables (Sharma y Marquez, 2001). Asimismo, han sido asociadas a sustanciales pérdidas agrícolas y económicas, estimándose que las micotoxinas contaminan un cuarto de las cosechas mundiales, lo que implica pérdidas económicas de US\$ 1,4 billones sólo en Estados Unidos (Bingham, 2003).

El crecimiento de los mohos puede presentarse en cualquier momento, desde el estado de precosecha hasta cuando el alimento es proporcionado al animal. El desarrollo en precosecha ocurre especialmente bajo condiciones de stress en la época de crecimiento. Sin embargo, excepto en aquellos años donde la incidencia de la infestación precosecha es muy alta, la mayoría de los crecimientos significativos en alimentos ocurren después que el grano, ingrediente alimenticio o alimento completo ha sido almacenado. De esta manera se viene a reconocer el crecimiento de mohos como un problema de almacenamiento y manipulación. Asimismo, tienden a alojarse en cualquier parte y permanecen latentes hasta que las condiciones son adecuadas para la esporulación (González, 1990).

Los síntomas característicos de las micotoxicosis corresponden a la manifestación de los efectos de las micotoxinas en procesos metabólicos críticos de los animales. Estos efectos son el resultado de las interacciones de las micotoxinas con funciones moleculares específicas y no específicas y organelos intracelulares. Las lesiones bioquímicas primarias ocurren donde las micotoxinas y sus objetivos/blancos tienen alta afinidad con bajas concentraciones. La actividad biológica de las micotoxinas varía de acuerdo a la diversidad de las estructuras químicas y de la influencia de factores biológicos, nutricionales y ambientales (Hsieh, 1979).

Varios son los procesos metabólicos identificados que se ven seriamente afectados por las micotoxinas: metabolismo de carbohidratos, funciones mitocondriales, metabolismo lipídico y la biosíntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Existen al menos cuatro mecanismos a través de los cuales las micotoxinas alteran dichos procesos metabólicos. Las micotoxinas pueden servir como inhibidores de enzimas claves requeridas en varios procesos metabólicos; reaccionar con RNA y DNA para impedir la síntesis de proteínas incluyendo la producción de enzimas claves; interactuar con las membranas biológicas para alterar el transporte molecular en la célula y causar liberación de enzimas hidrolíticas que destruyen moléculas vitales y, finalmente reaccionar con cofactores enzimáticos para reducir la actividad enzimática (Hsieh, 1979).

Las alteraciones patológicas y productivas generadas por las micotoxinas tienen una base metabólica en algunos casos bien establecida, y en base a estudios experimentales se han podido determinar los siguientes efectos (Hendl, 1990):

- Efecto letal
- Micotoxicosis sub-letal: Hepatotoxinas, Nefrotoxinas, Genitotoxinas, Dermatotoxinas.
- Efecto Carcinogénico
- Efecto Mutagénico y Teratogénico.

Las micotoxinas poseen distintos grados de toxicidad (Hendl, 1990):

- Intoxicación Aguda Primaria: Con manifestaciones violentas como hemorragias, hepatitis aguda, necrosis y muerte.

- Intoxicación Crónica Primaria: Generando alteraciones en el crecimiento, producción y reproducción.
- Intoxicación Crónica Secundaria: Predispone a enfermedades infecciosas por reducción de los mecanismos naturales de resistencia o inmunidad.

Algunas de las micotoxinas más conocidas son:

3.9.6.1 Aflatoxinas

Constituyen un grupo de metabolitos secundarios producidos por mohos, de potente acción tóxica y carcinogénica para animales y para el hombre.

Son producidas principalmente por *Aspergillus flavus*, pero también la generan ciertas especies toxigénicas como *A. parasiticus*, *A. Níger*, *A. ruber*, *Penicillium citrinum*, entre otros. Se ha demostrado su acción carcinogénica, mutagénica y teratogénica (López, 1988).

La aflatoxina más tóxica es la Aflatoxina B1, la cual tiene el mayor poder carcinogénico hepático conocido. Además, existe evidencia que indica que bajos niveles de exposición a la aflatoxina produce inmunosupresión. Esta micotoxina es excretada a través de la leche y puede generar problemas reproductivos. La exposición durante la preñez produce transmisión transplacentaria de la toxina y disfunción inmune en la camada (Bingham, 2003). Otras aflatoxinas involucradas en contaminación de alimentos son Aflatoxina B1, B2, G1 y G2.

Una vez ingerida por el animal, la aflatoxina se absorbe en el intestino delgado y es transportada al hígado, donde es metabolizada. Tanto la tasa de transferencia de la toxina dentro de los hepatocitos como la tasa de metabolismo varía según la especie, edad, estado nutricional y concentración de hormonas circulantes. La susceptibilidad a la aflatoxina, según especie, refleja las variaciones en la actividad enzimática hepática, especialmente del citocromo P450 (Bingham, 2003).

En el perro, *Aspergillus sp* causa ulceración de la mucosa y necrosis ulcerativas que se extienden hacia capas más profundas de la pared intestinal, resultando en diarreas

crónicas (Ettinger y Feldman, 2002). También se describen hepatitis agudas y crónicas; e histopatológicamente, infiltración grasa y necrosis de hepatocitos, proliferación de conductos biliares y necrosis de los túbulos renales (Bingham, 2003). El cuadro clínico se manifiesta en anorexia, alteraciones gastrointestinales graves, ictericia y hemorragia, con un incremento asociado de la actividad enzimática hepática y una reducción de los valores de proteínas séricas. También puede presentarse coagulación intravascular diseminada (Miller y Cullor, 2000).

En estudios realizados sobre presencia de micotoxinas en alimentos para perros, se detectó la presencia de Aflatoxina B1 en casi todas las muestras, estando varias de estas sobre los límites de tolerancia para la salud de las mascotas (Sharma y Márquez, 2001). Tanto perros como gatos se describen como las especies más sensibles a esta toxina, y sus efectos se manifiestan aún con una DL50 de 0,5 a 1 mg/kg. Debido a esto, la FDA ha establecido un nivel máximo de 20 ppb para aflatoxinas totales en alimentos para perros (Miller y Cullor, 2000).

3.9.6.2 Zearalenona

Es un compuesto generado por miembros de género *Fusarium*, especialmente por *F. graminearum*. Se ha detectado como principal contaminante de maíz, trigo, sorgo, avena y sésamo. Estas especies invaden los granos en desarrollo durante períodos de lluvia intensa y proliferan en ellos debido a su alto contenido de humedad, ya sea por causa del clima húmedo durante la cosecha o por ser almacenados sin una etapa de secado previo (López, 1988). Las especies más frecuentemente aisladas en granos son *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. graminearum*, seguidos por *F. subglutinans*, *F. culmorum* y *F. equiseti* (Velluti et al., 2004).

La estructura de la zearalenona permite su unión a los receptores estrogénicos en mamíferos. A continuación, zearalenona induce efectos estrogénicos en mamíferos e interfiere con la concepción, ovulación, implantación, desarrollo fetal y viabilidad de animales recién nacidos. Se describen efectos tales como disminución de la fertilidad, aumento del número de reabsorciones, reducción del tamaño de la camada, cambios en las glándulas pituitarias y tiroideas y en los niveles séricos de progesterona y estradiol. No se han observado efectos teratogénicos (EFSA, 2004a). El síndrome más grave generado

por esta toxina es la vulvovaginitis, contando como signo principal la esterilidad (Hendl, 1990).

3.9.6.3 Tricotecenos

Son metabolitos secundarios elaborados por cepas de *Fusarium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Trichotecium*, *Acremonium*, *Stachybotrys*, *Cylindrocarpon* y *Verticimonosporium*, cuya presencia ha sido detectada en granos y forraje. Se conocen más de 40 compuestos entre los cuales se pueden nombrar deoxynivalenol (DON), toxina T-2, diacetoxyscirpenol, neosolaniol, T-2 tetraol y otros. En animales, su toxicidad comprende efectos en la mucosa del estómago e intestino delgado, lo cual se traduce en erosión y gastroenteritis hemorrágica severa. En dosis mayores, se presentó un cuadro clínico de hemorragias extensivas, enfermedades hepáticas, renales, del aparato circulatorio y de los órganos hematopoyéticos y la superficie serosa de todas las vísceras internas (López, 1988).

La toxina T-2 ha causado brotes de enfermedad hemorrágica en animales y está relacionada con la formación de lesiones bucales y efectos neurotóxicos en aves de corral. El efecto más importante de la toxina T-2 (y de otros tricotecenos) es su actividad inmunodepresora, que se ha demostrado claramente en animales de experimentación y que probablemente está relacionado con el efecto inhibidor de la biosíntesis de macromoléculas de esta toxina. Hay escasas pruebas de la carcinogenicidad de la toxina T-2 en estudios con animales de experimentación (FAO, 2003).

El deoxynivalenol (DON) contamina diversos cereales, especialmente el maíz y el trigo, tanto en países desarrollados como en desarrollo. Debido a los brotes de síndromes eméticos (y de rechazo a los alimentos) en el ganado, ocasionados por la presencia de DON en los piensos, esta micotoxina se conoce vulgarmente como vomitoxina (FAO, 2003).

3.9.6.4 Ochratoxinas

Son producidas por cepas de *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium cyclopium*, *P. viridicatum* y otros. Se ha detectado en trigo, avena y centeno. Su acción tóxica en

animales se manifiesta principalmente en riñón. También es carcinogénica (López, 1988). La ocurrencia de estas micotoxinas se asocia a deficiencias en el proceso de secado de los cereales previo a su almacenamiento, o a malas condiciones de almacenamiento, principalmente en sitios con presencia de la toxina (EFSA, 2004b).

Dentro de las ocratoxinas se destaca la Ocratoxina A, que es un metabolito secundario producido por mohos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, la cual tiene un efecto nefrotóxico, inmunotóxico, teratogénico y carcinogénico (Suárez-Quiroz, 2004).

Después de la ingestión oral de alimentos contaminados, la Ocratoxina A es absorbida en el intestino delgado. En la sangre, se une exclusivamente a proteínas séricas y se acumula en los riñones, generando residuos detectables, además de bajas concentraciones residuales en hígado, músculos y grasa. Se ha detectado transmisión de la toxina a la leche en ratas, conejos y humanos, pero el porcentaje de Ocratoxina A excretado en la leche por rumiantes es muy baja, debido a la degradación de la ocratoxina por la microflora del rumen (EFSA, 2004b).

Esta ocratoxina es un potente nefrotóxico en todos los animales testeados, y también carcinogénico, aunque se desconoce el mecanismo a la fecha, pudiendo ser del tipo genotóxico. Generalmente los tumores se producen a dosis mayores que las nefrotóxicas (EFSA, 2004b).

3.9.6.5 Fumosinas

Están producidas por *Fusarium moniliforme*, un moho hallado comúnmente en granos, semillas y frutas. La fumonisina B₁ (FB1) causa encefalomalacia en caballos y hepatopatías en otras especies. Actualmente existe poca información sobre la toxicidad de fumosinas sobre perros y gatos, y no se ha registrado información sobre problemas causados por alimentos para mascotas contaminados con dichas fumosinas (Miller y Cullor, 2000).

La FB1 produce también efectos tóxicos en el sistema nervioso central, hígado, páncreas, riñones y pulmones, de varias especies de animales (FAO, 2003).

3.9.6.6 Patulina

La patulina es un antibiótico producido por varios mohos. Está presente en manzanas podridas contaminadas con *Penicillium expansum* y, por lo tanto, puede encontrarse en jugos de manzana y otros productos elaborados con manzanas.

Se ha comprobado en estudios experimentales que la patulina es una neurotoxina y que produce lesiones anatomopatológicas graves en las vísceras. Aunque se ha dicho que la patulina induce sarcomas localizados, no se ha detectado actividad mutagénica en la mayoría de los ensayos a corto plazo (FAO, 2003).

3.10 CONTROL Y PREVENCIÓN

Los métodos de control y prevención en alimentos para mascotas se aplican tanto durante la elaboración de éstos, como en la etapa de comercialización y almacenamiento. Con este fin, se supervisan y controlan cuidadosamente los ingredientes utilizados (especialmente los crudos), se emplean tecnologías adecuadas y se observan buenas prácticas de fabricación, prestando especial atención a la recontaminación (ICMSF, 1991).

Es de vital importancia el control de la materia prima y el proceso de fabricación. Para esto, es esencial mantener un programa de calidad para asegurar la integridad de la materia prima. Son elementos claves de esta etapa las especificaciones de los ingredientes, la recepción y procedimientos de prueba de los ingredientes y los procedimientos de manipulación de los ingredientes en la planta.

Para obtener un programa de calidad en la elaboración de alimentos para mascotas, se debe analizar a cada una de las unidades de fabricación y su efecto sobre el producto terminado. Una vez entendidos estos efectos se pueden determinar los puntos críticos de control alrededor de las operaciones de la unidad y poner en marcha los sistemas de calidad para controlar y asegurar la conformidad. El proceso de elaboración incluye, básicamente, la correcta combinación de los ingredientes y el posterior trabajo de esta mezcla para los productos terminados. Por lo tanto, los programas de calidad deben incluir procedimientos de calibración para el transporte de los ingredientes individuales, la medición del tiempo y temperatura adecuados y procedimientos de calibración para el

proceso de cocción. También es necesario mantener registros detallados de cada lote de producto fabricado y de las condiciones de procesamiento, así como pruebas analíticas y físicas del producto terminado (Cowell *et al.*, 2000).

La calidad del producto terminado es verificada mediante la exactitud con la cual ese cumple el contenido nutritivo formulado, así como parámetros críticos tales como apariencia uniforme, integridad física, integridad del empaque, suficiencia en la esterilización y ausencia de toxinas y problemas microbiológicos (Cowell *et al.*, 2000).

El almacenamiento adecuado del alimento terminado es una medida preventiva importante y necesita controlar la temperatura, la humedad y la biodisponibilidad de oxígeno. La temperatura óptima de almacenamiento para alimentos comerciales oscila entre los 4,4 y los 15,6°C. Temperaturas más elevadas reducen la vida en el estante de los alimentos enlatados y secos, sobretodo si exceden los 20° C (Miller y Cullor, 2000).

Asimismo, en la prevención de contaminación por micotoxinas se proponen sistemas integrados de manejo de micotoxinas (FAO, 2003) basados en sistemas HACCP, los cuales consideran los riesgos en todas las fases de producción, manejo y procesamiento, considerando como pre-requisito la observancia de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). En el campo, la contaminación por micotoxinas es el resultado de las condiciones ambientales tales como temperatura, precipitaciones, humedad relativa, humedad del producto y su susceptibilidad, y la inoculación del hongo que ocurre naturalmente en la naturaleza (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, etc.). Debido a que la formación de micotoxinas ocurre en varias de las etapas del procesamiento, el control debe ser efectuado durante la etapa de pre-cosecha, cosecha y post-cosecha, la cual incluye almacenamiento y todas las formas de procesamiento. Es importante que esos puntos de manejo sean identificados, analizados y bien manejados; así, cada fase identificada y bien manejada ayudará a prevenir el riesgo de exposición a las toxinas.

3.11 MICROORGANISMOS INDICADORES

Se denomina así a los grupos (o especies) de microorganismos cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicas. Corresponden a microorganismos que de por sí no implican, generalmente, peligros sanitarios pero que pueden ser indicativos de la presencia de patógenos peligrosos para la salud (ICMSF, 1982).

Este concepto es creado para detectar patógenos que se diseminan por la vía fecal-oral en el agua y desde entonces se ha aplicado a los alimentos. Un microorganismo indicador adecuado debe estar presente en cantidades relativamente elevadas para facilitar su detección, no se debe multiplicar en el medio en que está siendo controlado y su supervivencia debe ser similar a la del patógeno para el cual se emplea como indicador (Adams, 1997).

Entre los principales microorganismos indicadores se encuentra el recuento de aerobios mesófilos (RAM), el cual indica la calidad sanitaria de los alimentos y puede considerarse un indicador general de contaminación. Permite establecer si factores tales como la limpieza y desinfección, así como el control de la temperatura durante las fases de producción, transporte y almacenamiento han sido adecuados. Asimismo, entrega información sobre la alteración de los alimentos, su vida útil y fallas en las temperaturas de refrigeración (ICMSF, 1983).

También se emplean como indicadores a los coliformes, que incluyen miembros de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. Debido al origen fecal de *E. coli*, su detección implica que el alimento está contaminado por materia de origen fecal. La supervivencia de estas bacterias en medios no entéricos es limitada por lo que su presencia indica una contaminación reciente. Por estas razones, *E. coli* es el microorganismo índice ideal para la detección de contaminaciones recientes. La presencia de coliformes fecales indica que otros patógenos pueden haber contaminado los alimentos, como *Salmonella* y *Shigella*. Estas bacterias son destruidas por los tratamientos de pasteurización, tratamientos térmicos o el clorado de las aguas con gran facilidad. Por esto, la presencia de altos valores de enterobacteriáceas en los alimentos

es síntoma de fallas en el proceso de elaboración o de conservación que pueden acarrear riesgos para el consumidor (Adams, 1997).

Otro indicador es el recuento de mohos y levaduras, especialmente en alimentos ácidos y con baja actividad de agua, en donde tienen un crecimiento mayor que las bacterias (ICMSF, 1983). La presencia de dichos microorganismos en el alimento indica que la materia prima estaba contaminada o que existe alta contaminación en el ambiente.

Del análisis de la información recopilada en la revisión bibliográfica, se puede afirmar que los alimentos comerciales para perros expendidos a granel presentan riesgo potencial de contaminación microbiana, con el consiguiente peligro para la salud del consumidor, es por esto que el presente estudio se propone estudiar la calidad microbiológica de alimentos para perros que se comercializan a granel.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Estudiar la calidad microbiológica de algunas marcas de alimentos comerciales para perros, cuya forma de expendio se realiza a granel.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el recuento de aerobios mesófilos (RAM).
- Determinar el Número Más Probable (NMP) de coliformes totales.
- Identificar la presencia de *E. coli*
- Investigar la presencia de *Salmonella sp.*
- Determinar el recuento de mohos y levaduras.
- Comparar la calidad microbiológica de los alimentos vendidos “a granel” y sellados.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DETERMINACIÓN DE LA MUESTRA Y TÉCNICA DE MUESTREO

La recolección de muestras fue realizada durante los meses de octubre y noviembre del año 2002, en cinco comunas de la ciudad de Santiago. Las tiendas seleccionadas eran similares en volúmenes de ventas, almacenamiento e higiene.

En la realización de este proyecto se analizaron cinco marcas de alimentos para perros comercializadas en cinco comunas de la Región Metropolitana (Estación Central, La Florida, Maipú, Recoleta y Renca). Se tomaron cinco muestras de 1k para cada uno de ellos, inmediatamente después de abrir el envase, constituyendo las muestras selladas. Transcurridos tres días de exposición a la venta en la tienda, se procedió a obtener otras cinco muestras de 1k para cada marca, representando la comercialización “a granel”. En este estudio, se entenderá por alimento “a granel” a aquel comercializado a partir de envases abiertos, en contacto directo con el medio ambiente.

Los alimentos analizados en este estudio son elaborados en Chile. Las marcas comerciales fueron seleccionadas debido a su alta representatividad en el mercado y por presentar importantes volúmenes de ventas. Con el fin de mantener la reserva de dichas marcas, se representaron con los números 1, 2, 3, 4 y 5.

5.2 TÉCNICAS DE LABORATORIO

A cada muestra, se le determinaron los siguientes indicadores de contaminación microbiana:

- Recuento de aerobios mesófilos (RAM).
- Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales
- Presencia de *E. coli*
- Presencia de *Salmonella sp.*
- Recuento de mohos y levaduras

Las técnicas de laboratorio utilizadas para cada uno de los parámetros analizados fueron las siguientes:

- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos, según Bacteriological Analytical Manual (1992).
- Determinación de coliformes totales, según técnica del Número Más Probable (NMP), descrita en Bacteriological Analytical Manual (1992).
- Para confirmar la presencia *E. coli*. se usaron las pruebas IMVIC según Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Koneman, 1983).
- Investigación de la presencia de *Salmonella sp.*, según técnica descrita en el Bacteriological Analytical Manual (1992).
- Recuento de mohos y levaduras, según el Bacteriological Analytical Manual (1992).

Actualmente no existe una reglamentación específica en alimentos para perros, por lo tanto en el análisis de los resultados se utilizaron valores recomendados para productos de consumo humano que se consideran de similares características que los alimentos extruídos para perros, esto es, del tipo deshidratado y de consumo inmediato, sin ningún procesamiento previo. El programa de muestreo usado fue el descrito por la International Commission of Microbiological Specifications for Foods (1982) y los límites microbiológicos del Nuevo Reglamento de los Alimentos (2006). Los parámetros microbiológicos recomendados para alimentos extruídos de consumo animal fueron planteados por la Unidad de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (ver cuadro N°2).

CUADRO N°2: PROGRAMA DE MUESTREO Y LÍMITES MICROBIOLÓGICOS RECOMENDADOS PARA ALIMENTOS EXTRUÍDOS DE CONSUMO ANIMAL*.

PARÁMETRO	PLAN DE MUESTREO		LÍMITE POR GRAMO			
	CATEGORÍA	CLASE	n	c	m	M
RAM (1)	5	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Coliformes (1)	5	3	5	2	<3	20
<i>E. coli</i> (1)	10	2	5	0	0	-
<i>Salmonella sp.</i> (2)	10	2	5	0	0	-
Recuento mohos y levaduras (3)	2	3	5	2	10	10 ²

*Fuente: Vivanco, 1995

(1): Valores recomendados en el Reglamento Sanitario de los Alimentos, 2006, cereales para el desayuno.

(2): Valores recomendados en el Reglamento Sanitario de los Alimentos, 2006, caldos, sopas, cremas, salsas y purés de papas.

(3): Valores recomendados en el Reglamento Sanitario de los Alimentos, 2006, productos farináceos para cóctel.

Para el análisis de los resultados se utilizaron 2 planes de muestreo:

1. “Plan de muestreo de 3 clases, que consta de un número “n” de unidades de muestra y dos límites: “m”, que separa la calidad aceptable de la medianamente aceptable y puede ser sobrepasada por un número “c” de unidades de muestra, y “M”, que separa la calidad medianamente aceptable de la rechazable y no puede ser sobrepasado por ninguna unidad de muestra (ICMSF, 1983). Este plan se utilizó en el recuento de aerobios mesófilos (RAM), en la numeración de coliformes totales y en el recuento de mohos y levaduras.
2. “Plan de muestreo de 2 clases”, donde no existe una calidad medianamente aceptable sino que “m” determina un nivel crítico de aceptabilidad o sólo está orientada a comprobar la ausencia o presencia de un microorganismo (ICMSF, 1983). Este se utilizó en la determinación de la presencia de *E. coli* y de *Salmonella sp.*

5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Comprende un análisis de varianza (ANOVA), para lo cual se empleó el modelo de varianza multifactorial de 5 x 2 x 5 en bloques aleatorios. La variable a analizar fue el recuento de aerobios mesófilos. Asimismo, este valor fue transformado a logaritmos debido al tipo exponencial de replicación de los microorganismos.

El modelo lineal se presenta a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + T_j + (MT_{ij}) + C_k$$

Donde, Y_{ijk} = la observación; μ = la media paramétrica de la población; M_i = marca del alimento i-ésimo; T_j = tipo de expendio del alimento (sellado/a granel) j-ésimo; MT_{ij} = interacción marca-tipo de alimento; C_{ijk} = comuna k-ésima.

Para finalizar se empleó la prueba de Tukey para determinar cuales de las marcas presentan diferencias significativas entre ellas. El valor tubular utilizado, obtenido a partir de la tabla de rangos estudentizados es de 4,11, y el valor de significación de la prueba de un 5%.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se entregan los resultados de la calidad microbiológica de las 5 marcas de alimentos comerciales para perros analizadas. Para esto, se comenzará presentando en los cuadros 3 al 7, los valores de los análisis microbiológicos efectuados a los alimentos sellados y “a granel”, por marca y según comunas, analizados según el plan de muestreo y límites microbiológicos descritos en el capítulo anterior.

CUADRO N°3: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 1, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

COMUNA	SELLADO		A GRANEL	
	RAM(ufc/g)	MyL (ufc/g)	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)
E. CENTRAL	120	<10M <10L	2.400	40M 30L
LA FLORIDA	90	10M <10L	300	30M 20L
MAIPÚ	110	<10M <10L	4.200	80M <10L
RECOLETA	140	10M <10L	3.400	30M 10L
RENCA	800	10M <10L	2.400	20M <10L

*Fuente= Elaboración propia

RAM= Recuento de aerobios mesófilos

ufc/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

MyL= Mohos y Levaduras

Para la marca 1 (cuadro N°3), las muestras correspondientes a alimentos sellados excedieron los límites establecidos para recuento de mohos y levaduras, haciéndola no apta para consumo, a pesar de que el recuento total de aerobios mesófilos se encuentra dentro de los límites fijados.

Asimismo, esta marca expendida en la modalidad “a granel”, también sobrepasa los límites exigidos para recuento de aerobios mesófilos y recuento de mohos y levaduras,

siendo por tanto rechazado para consumo. No se detectó a los patógenos *E. coli* y/o *Salmonella sp.*, y los coliformes totales están dentro de los límites fijados para todas las muestras desde envases “a granel”.

CUADRO N°4: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 2, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

COMUNA	SELLADO		A GRANEL	
	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)
E. CENTRAL	60	10M <10L	1.100	60M <10L
LA FLORIDA	50	<10M <10L	2.300	10M <10L
MAIPÚ	70	<10M <10L	800	10M 20L
RECOLETA	170	<10M <10L	8.000	10M <10L
RENCA	900	10M <10L	4.800	10M 10L

*Fuente= Elaboración propia

RAM= Recuento de aerobios mesófilos

ufc/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

MyL= Mohos y levaduras

Al estado sellado, la marca 2 (cuadro N°4) cumple con los límites establecidos para recuento de aerobios mesófilos, recuento de mohos y levaduras y coliformes totales. Tampoco se detectó a los patógenos *Salmonella sp.* y/o *E. coli*, siendo por lo tanto apta para consumo. Por otra parte, al expenderla en la modalidad “a granel” se superan los límites fijados para el recuento de aerobios mesófilos y de mohos y levaduras, lo cual hace que este alimento no sea apto para su consumo. Los coliformes totales están dentro de los límites fijados en todas las muestras, y no se detectó la presencia de *E. coli* y/o *Salmonella sp.*

CUADRO N°5: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 3, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

COMUNA	SELLADO		A GRANEL	
	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)
E. CENTRAL	300	10M	12.000	70M
		<10L		10L
LA FLORIDA	500	<10M	6.300	20M
		<10L		<10L
MAIPÚ	500	<10M	9.400	50 M
		10L		20 L
RECOLETA	600	10M	21.600	100M
		10L		10L
RENCA	160	<10M	3.600	<10M
		<10L		10L

*Fuente= Elaboración propia

RAM= Recuento de aerobios mesófilos

ufc/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

MyL= Mohos y levaduras

La marca 3 (cuadro N°5), al estado de sellada, no está en condiciones de ser consumida pues superó el límite establecido para el recuento de mohos y levaduras. En esta muestra tampoco se detectó presencia de *E. coli* y/o *Salmonella sp.*, y los coliformes totales están dentro de los límites fijados.

Al analizar la misma marca en la modalidad "a granel", se sobrepasan los límites determinados para RAM, considerándose por tanto no apta para consumo. Lo mismo sucede con el recuento de mohos y levaduras, en la que también se sobrepasó el límite. Los coliformes totales están dentro de los límites establecidos para todas las muestras. No se detectó *E. coli* y/o *Salmonella sp.*

CUADRO N°6: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 4, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

COMUNA	SELLADO		A GRANEL	
	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)
E. CENTRAL	400	10M <10L	5.400	110M <10L
LA FLORIDA	100	<10M <10L	1.500	40M 10L
MAIPÚ	100	<10M 10L	2.000	30M <10L
RECOLETA	200	10M 10L	6.000	50M <10L
RENCA	1.800	<10M <10L	10.200	30M <10L

*Fuente= Elaboración propia

RAM= Recuento de aerobios mesófilos

ufc/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

MyL= Mohos y levaduras

En el alimento sellado de la marca 4 (cuadro N°6), el recuento de aerobios mesófilos está dentro de los límites establecidos; no así con el recuento de mohos y levaduras en que se superan los límites establecidos, haciendo que el alimento analizado no sea apto para consumo. Los coliformes totales están dentro de los límites determinados, y no se detectó *E. coli* y/o *Salmonella sp.*

Al estado "a granel", esta marca se excedió en el recuento de aerobios mesófilos y en recuento de mohos y levaduras, lo que hace que dicho alimento sea rechazado para consumo. Los coliformes totales están dentro de los límites establecidos para todas las muestras, y no se detectó a los patógenos *Salmonella sp.* y/o *E. coli*.

CUADRO N°7: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO MARCA 5, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE ALIMENTO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

COMUNA	SELLADO		A GRANEL	
	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)	RAM (ufc/g)	MyL (ufc/g)
E. CENTRAL	110	<10M	5.600	20M
		<10L		20L
LA FLORIDA	120	<10M	4.800	<10M
		<10L		10L
MAIPÚ	140	<10M	2.200	<10M
		<10L		<10L
RECOLETA	100	<10M	4.300	10M
		<10L		<10L
RENCA	20	<10M	8.000	20M
		<10L		<10L

*Fuente= Elaboración propia

RAM= Recuento de aerobios mesófilos

ufc/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

MyL= Mohos y levaduras

El alimento correspondiente a la marca 5 (cuadro N°7), en su envase sellado, cumple con los límites establecidos para todos los parámetros, y es, por tanto, apto para consumo. Al analizar las muestras correspondientes al expendio “a granel” se demostró que no cumple con los límites exigidos, superando los límites tanto para recuento de aerobios mesófilos como para el recuento de mohos y levaduras. Los coliformes totales están dentro de los límites establecidos para todas las muestras. No se detectó presencia de *Salmonella sp.* y/o *E. coli*.

Respecto al análisis estadístico, se observó que los valores de la variable RAM para alimentos expendidos “a granel” eran mayores que los para alimentos sellados. Asimismo, también se presentaban diferencias en RAM entre marcas de alimentos (ver cuadro N°8).

CUADRO N°8: DESCRIPCIÓN ESTADÍSTICA DE RAM EN MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA PERROS POR TIPO DE EXPENDIO SEGÚN MARCA (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

MARCA	TIPO DE EXPENDIO DEL ALIMENTO			
	SELLADO		A GRANEL	
	MG	DS	MG	DS
1	2,22	0,23	3,27	0,06
2	2,10	0,32	3,37	0,10
3	2,57	0,05	3,94	0,53
4	2,43	0,11	3,59	0,23
5	1,91	0,49	3,66	0,28
Total	$\mu = 2,91$			

*Fuente: Elaboración propia

MG: Media Geométrica

DS: Desviación Standard

A partir del análisis de varianza se puede afirmar que tanto Marca como Tipo de Expendio influyen significativamente sobre el recuento de aerobios mesófilos para el nivel de significación definido ($\alpha = 5\%$). Asimismo, el factor Comuna y la Interacción Marca-Tipo de Expendio no tienen efectos significativos sobre el RAM.

La prueba de Tukey, efectuada para determinar cuales de las marcas presentan diferencias significativas entre ellas, arrojó que las marcas 3 y 4 no presentan diferencias significativas entre si para RAM; tampoco las 1, 2, 4 y 5 presentan diferencias significativas entre ellas para dicho recuento. Por otra parte, el alimento 3 presenta diferencias significativas con todas las marcas para el recuento de aerobios mesófilos, exceptuando con la marca 4.

Los resultados de la prueba de Tukey se grafican a continuación:

Marca 3 4 5 1 2

Al analizar los resultados del recuento de aerobios mesófilos, del total de muestras analizadas en el estudio (50), incluyendo alimentos sellados y “a granel”, se puede afirmar que en 62% (31) de las muestras están bajo el valor que separa recuentos aceptables de recuentos marginalmente aceptables “m” (1.000 ufc/g), y el 32% (16) está sobre dicho valor. Asimismo, el 6% (3) de las muestras están sobre “M” (10.000 ufc/g), el cual indica el límite entre los recuentos marginalmente aceptables y los recuentos inaceptables.

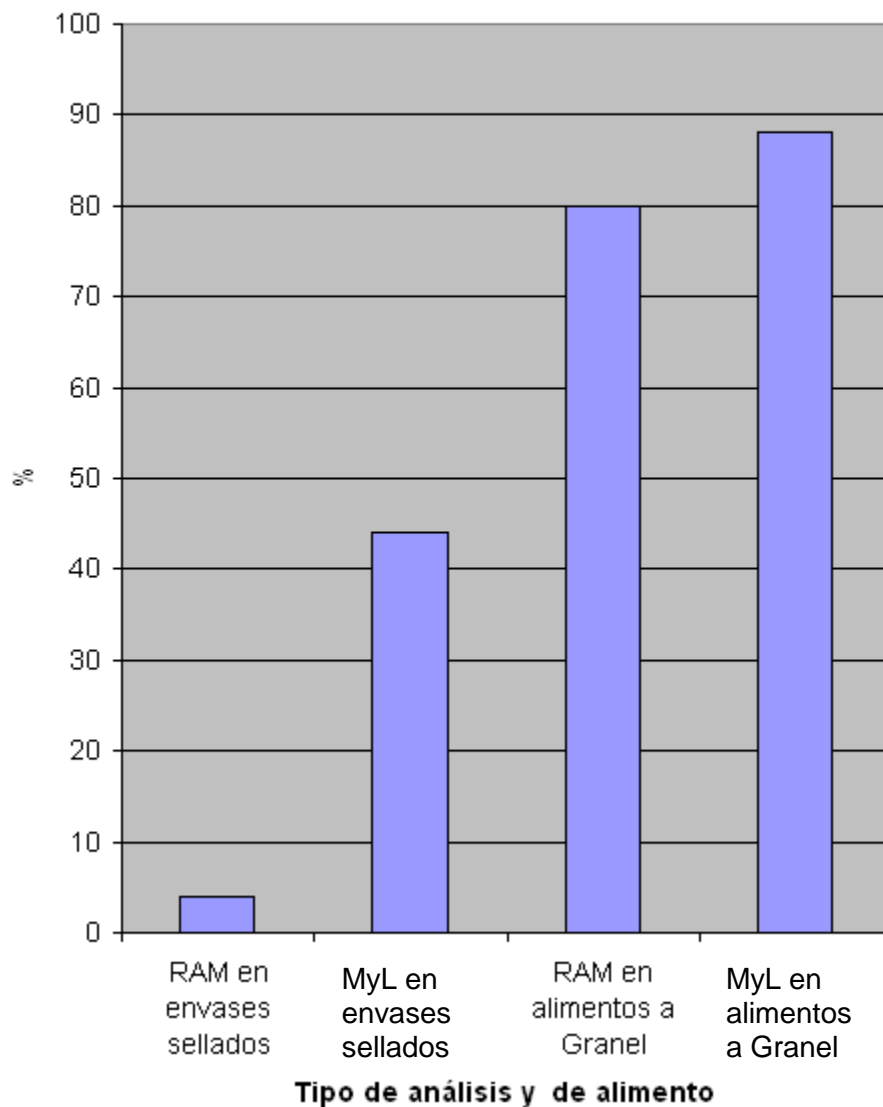
Por otra parte, en el recuento de mohos y levaduras, el 30% (15) de las muestras están bajo “m” (10 ufc/g), el 66% (33) sobre “m”, y el 4% (2) sobrepasan el valor “M” (100 UFC/gr).

A su vez, en alimentos sellados, el RAM posee valores inferiores a “m” en el 96% (24) de las muestras, y sobre “m” en el 4% (1). En el recuento de mohos y levaduras, el 56%(14) de las muestras están bajo “m”, y el 44% (11) sobre “m” (Ver gráfico N°1).

En alimentos expendidos “a granel”, el RAM presenta valores inferiores a “m” en el 8% (2) de las muestras, sobre “m” en el 80% (20) y el 12% de las muestras presentaron valores mayores a “M”. En el recuento de mohos y levaduras, el 4% (1) de las muestras están bajo “m”, el 88% (22) presentan valores sobre “m” y el 8% (2) sobre “M”.

Grafico N° 1

Unidades de Muestra que sobrepasan los limites inferiores (m)



Al determinar la aceptación o rechazo de la muestras, y por lo tanto cuales de ellas eran aptas para consumo se observó que al caracterizar las marcas según el tipo de expendio, en alimentos sellados sólo 2 marcas eran aprobadas. Asimismo, en muestras de alimentos expendidos “a granel”, todas las marcas fueron rechazadas y por tanto no aptas para el consumo (ver cuadro N°9).

CUADRO N°9: ACEPTACION O RECHAZO DE LAS MARCAS DE ALIMENTOS ANALIZADOS, SEGÚN TIPO DE EXPENDIO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

TIPO EXPENDIO	MARCAS				
	1	2	3	4	5
SELLADO	R	A	R	R	A
A GRANEL	R	R	R	R	R

*Fuente: Elaboración propia

R: Rechazado

A: Aprobado

Por otro lado, se determinó la aceptación o rechazo de las muestras según comunas para los distintos tipos de expendio. Así, tres comunas presentaron alimentos aptos para el consumo cuando se comercializaban al estado de sellados; valor que cambia cuando se trata de alimentos expendidos “a granel”. Para esta última modalidad, ninguna comuna presentó alimentos aptos para el consumo (ver cuadro N°10).

CUADRO N°10: ACEPTACION O RECHAZO DE ALIMENTOS ANALIZADOS, SEGÚN COMUNA Y TIPO DE EXPENDIO (SANTIAGO, AÑO 2002)*.

TIPO EXPENDIO	COMUNAS				
	E. CENTRAL	L. FLORIDA	MAIPU	RECOLETA	RENCA
SELLADO	A	A	A	R	R
A GRANEL	R	R	R	R	R

*Fuente: Elaboración propia

R: Rechazado

A: Aprobado

En las muestras analizadas, no se detectó la presencia de los patógenos *E. coli* o *Salmonella sp.* Esto es importante pues en la fabricación de los alimentos para mascotas suelen utilizarse productos cárnicos crudos, además de harinas de sangre y hueso, lo cual hace factible que exista contaminación con *Salmonella sp.* Si bien en el proceso de extrusión se alcanzan temperaturas que destruyen dichas bacterias, existe el riesgo de contaminación cruzada del producto extruído con algún ingrediente crudo.

Por otra parte, en el análisis de coliformes, todas las unidades de muestra están bajo “m” (límite que separa un recuento aceptable de uno medianamente aceptable), tanto

en alimentos sellados como a granel y para todas las marcas. Debido a que los coliformes sirven como indicadores de la calidad higiénica de los alimentos, su ausencia señala que los alimentos analizados fueron elaborados y conservados bajo condiciones sanitarias adecuadas, y que no fueron expuestos a contaminación fecal.

De las marcas analizadas, la que tuvo mayor recuento de aerobios mesófilos fue la 3, y a su vez, la que contó con menor recuento fue la 1. En el recuento de mohos y levaduras, la marca 3, nuevamente, tuvo el mayor desarrollo. Esta vez correspondió a la 5 el menor valor. En el resto de los parámetros estudiados se observaron resultados satisfactorios.

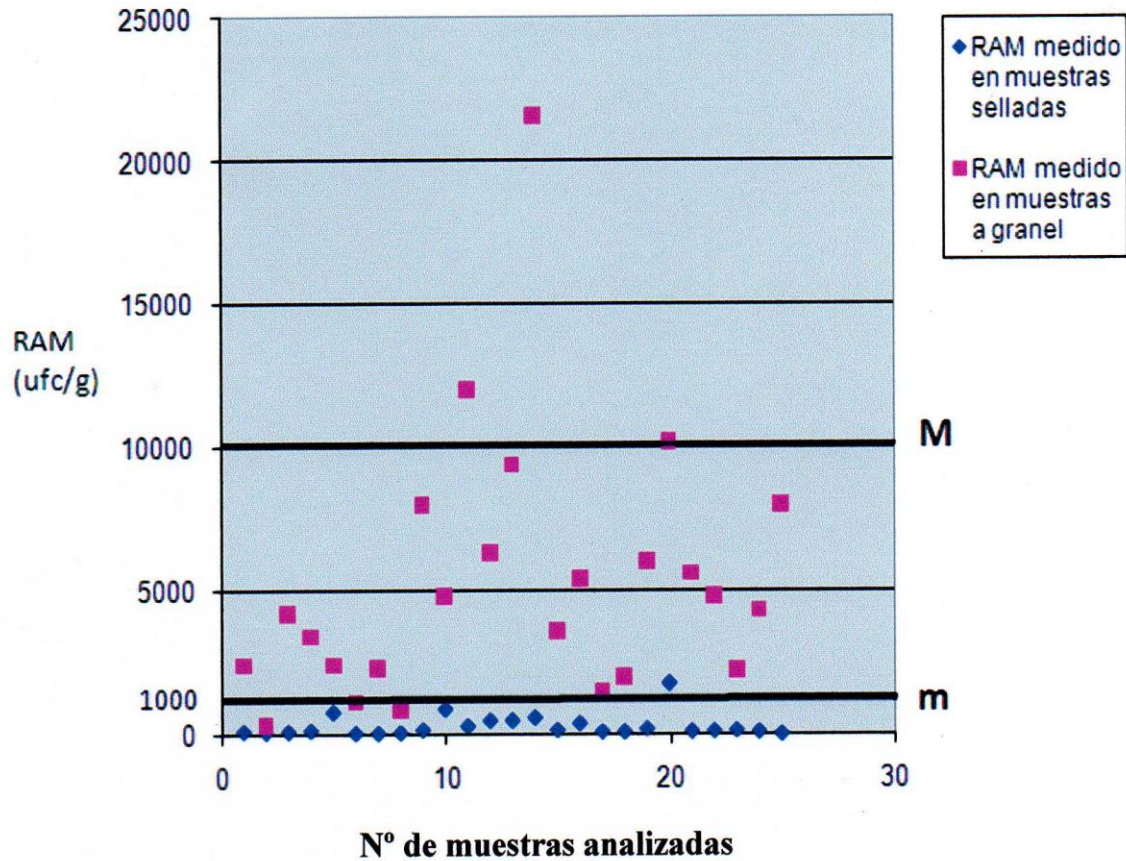
En las muestras correspondientes a alimentos sellados, el recuento de aerobios mesófilos, para todas las marcas, está dentro de los límites establecidos. A su vez, en el recuento de mohos y levaduras, 3 marcas sobrepasaron “c” (número máximo permitido de resultados positivos; en el plan de muestreo utilizado en este estudio es 2), correspondiendo a la 3, 1 y 4. El resto de las variables analizadas tuvieron valores satisfactorios.

En los análisis realizados a partir de muestras “a granel”, todas las marcas superaron “c” en recuento de aerobios mesófilos y en el recuento de mohos y levaduras, siendo por tanto, no aptas para consumo. Tal como en los alimentos sellados, el resto de las variables estudiadas presentaron valores dentro de los límites establecidos.

El recuento de aerobios mesófilos suele utilizarse como indicador de la calidad sanitaria del alimento, siendo un indicador general de contaminación. En las muestras obtenidas desde alimentos expendidos “a granel” se observó un recuento mucho mayor que en aquellas muestras analizadas desde envases sellados (ver gráfico N°2). Esto puede ser explicado por las condiciones deficientes de almacenamiento y conservación (humedad, temperaturas y/o tiempos inadecuados), lo que facilitó la proliferación microbiana. Además, este indicador suele utilizarse en aquellos alimentos que no deben tener microorganismos, como por ejemplo alimentos deshidratados y/o extruídos, aunque un bajo recuento no significa que el alimento no tenga microorganismos patógenos ya que no existe una relación directa entre flora mesófila y presencia de microorganismos patógenos (ICMSF, 1983).

Gráfico N° 2

RAM en Muestras a Granel y Selladas

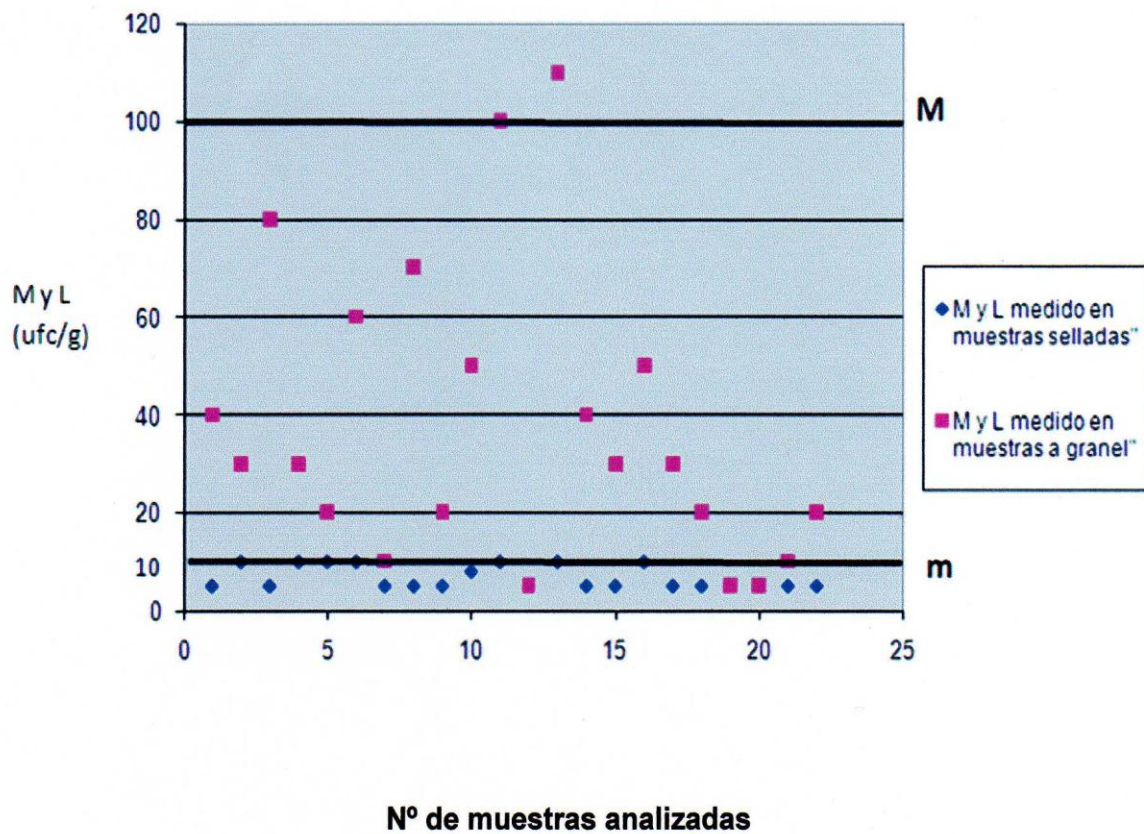


Es importante destacar que se detectó presencia de mohos y levaduras aún en envases sellados. Estos, además de ser potenciales generadores de daño a la salud del consumidor, producen deterioro del alimento, y por lo tanto pérdidas económicas. En alimentos expendidos "a granel", el recuento de mohos y levaduras fue considerablemente mayor que en alimentos sellados (44% v/s 8% de muestras sobre "m", respectivamente), aumento que podría ser explicado por deficientes condiciones de almacenamiento y transporte, propias de dicha modalidad de expendio (Ver gráfico N°3). Asimismo, la detección de mohos y levaduras en envases sellados implicarían uso de

materias primas contaminadas, malas condiciones de procesamiento y sellado, entre otras.

Gráfico N° 3

Recuentos de Mohos y levaduras en Muestras a Granel y Selladas



En el análisis estadístico efectuado se verificó que para recuento de aerobios mesófilos, tanto la marca como el tipo de expendio del alimento (sellado/ "a granel") eran significativos y afectaban dicha variable. A su vez, la interacción entre la marca y el tipo de alimento no generaban efectos significativos sobre el recuento de aerobios mesófilos.

También se determinó que para recuento de aerobios mesófilos, las marcas 1, 2, 4 y 5 no presentaban diferencias significativas entre ellas. Por otro lado, la marca 3

presentó diferencias significativas con todas las marcas, exceptuando a la marca 4. Debe destacarse que la marca 3 es la que presenta mayor recuento de aerobios mesófilos y recuento de mohos y levaduras.

En todas las comunas muestreadas se superaron los límites aceptables para alimentos expendidos a granel, y tanto Recoleta, como Renca y Estación Central presentaron valores superiores a "M" (límite que separa la calidad medianamente aceptable de la rechazable y que no debiera ser sobrepasado por ninguna unidad de muestra). La comuna con mayor recuento de aerobios mesófilos fue Recoleta, y la con menor recuento, La Florida.

Asimismo, el mayor recuento de mohos y levaduras se presentó en Estación Central, siendo que tanto dicha comuna como La Florida y Recoleta obtuvieron recuentos que superaban el límite que separa la calidad medianamente aceptable de la rechazable y que no debiera ser sobrepasado por ninguna unidad de muestra, "M". La comuna con menor desarrollo fue Renca. El resto de las variables estudiadas fueron iguales para todas las comunas. Cabe destacar que el análisis de varianza indicó que la procedencia del alimento (comuna de venta) no presenta efectos significativos sobre el recuento de aerobios mesófilos.

Como resumen, se puede afirmar que únicamente las marcas 2 y 5, al estado de selladas, cumplen con los requisitos exigidos y son, por lo tanto, aptas para consumo. Ambas marcas cambian de condición al ser comercializadas "a granel", aumentando sus recuentos en forma tal, que pasan a ser rechazadas. El resto de las marcas analizadas, tanto selladas como "a granel", sobrepasan los límites microbiológicos establecidos y son, por tanto, rechazadas.

Es necesario señalar que el análisis efectuado en este estudio corresponde a una visión parcial de la calidad microbiológica de los alimentos analizados, y que ésta se encuentra supeditada a una multiplicidad de variables, presentando un valor dinámico en la dimensión temporal. Sería necesario efectuar monitoreos periódicos a los alimentos para garantizar su calidad e inocuidad en el tiempo.

A partir de los resultados obtenidos, se puede sostener que los alimentos para perros, en su estado de sellados, tienen una carga microbiana (de los microorganismos analizados) que no involucraría riesgo para la salud del consumidor. Del mismo modo, permitiría mantener por largo tiempo las características organolépticas y la vida útil del producto.

Una vez que se vulnera el envase -lo que sucede en la modalidad de venta “a granel”- el alimento toma contacto con el medio ambiente, y por consiguiente, con microorganismos y humedad. Todo esto conlleva un aumento en los recuentos microbiológicos de dichos alimentos, representando un peligro potencial para la salud del consumidor y, además, facilita el deterioro físico del alimento. Es por esto que las condiciones de almacenamiento, tanto las ambientales (temperatura, humedad, entre otras) como las físicas (envase de expendio, limpieza del lugar, presencia de vectores, etc.) son de suma importancia para mantener la calidad microbiológica del alimento, especialmente al ser expendido a granel, por lo que deben ser supervisadas y controladas en forma permanente. Por lo tanto, la venta “a granel” implica un mayor riesgo de contaminación y multiplicación bacteriana, disminuyendo la vida útil del alimento y siendo una fuente potencial de daño a la salud del consumidor.

7. CONCLUSIONES

- No se detectó la presencia de los microorganismos patógenos *E. coli* y *Salmonella sp.* en las muestras analizadas, tanto al estado sellado como “a granel”.
- En los alimentos expendidos “a granel”, el recuento de aerobios mesófilos y el recuento de mohos y levaduras aumentan en forma considerable, sobrepasando los límites definidos como aptos para consumo, en todas las marcas analizadas.
- En los alimentos sellados, el recuento de aerobios mesófilos se encuentra dentro de los límites establecidos en el programa de muestreo para todas las marcas analizadas. En cambio, el recuento de mohos y levaduras sobrepasa dichos límites en 3 de las marcas analizadas.
- En el recuento de mohos y levaduras, el 8% de las muestras obtenidas del expendio “a granel” presentaban valores sobre “M” (límite que separa la calidad medianamente aceptable de la rechazable y que no debiera ser sobrepasado por ninguna unidad de muestra), no así en las muestras desde envases sellados, que no presentaron valores sobre “M”. Cabe destacar que en alimentos sellados, el 44% de las muestras presentaban valores sobre “m” (límite que separa la calidad aceptable de la medianamente aceptable).
- En el recuento de aerobios mesófilos, 4% de las muestras obtenidas desde envases sellados presentaban valores sobre “m”, el que aumenta a 80% en las muestras obtenidas desde alimentos expendidos “a granel”. El 12% de las muestras desde envases a granel presentaron valores mayores a “M”.
- Tanto el lugar de expendio (comuna) del alimento como la Interacción Marca-Tipo de Expendio no produjeron efectos estadísticamente significativos sobre el recuento aerobios mesófilos.

8. BIBLIOGRAFÍA

ADAMS, M. 1997. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 464 p.

ALVARADO, C. 2003. Evaluación de alimentos secos para perros (*Canis familiaris*) en etapa de crecimiento a través de su composición química. Memoria Título Ingeniero Agrónomo. Valdivia, Chile. U. Austral. 67 p.

ALVARADO, C. 2005. Micotoxinas en nutrición animal. [en línea]. Chile. <<http://www.monografias.com/trabajos16/micotoxinas/micotoxinas.shtml>> [consulta:07-03-2005]

APV. 1988. Food extrusion. Marketing Bulletin.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. 2002. Official publication. AAFCO. Atlanta, USA.

BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL.1992. 7ma Edición. Editado por AOAC International. Arlington, USA. 529 p.

BINGHAM, A.; PHILLIPS, T.; BAUER, J. 2003. Potencial for dietary protection against the effects of aflatoxins in animals. JAVMA 222(5):591-596.

BORTONE, E. 2002. Interacción de ingredientes y procesos en la producción de alimentos hidroestables para camarones. En: Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, México. 3-6 Septiembre del 2002. Facultad de Cs. UNAM.

CARTER, G. 1991. Fundamentos de microbiología y micología veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 305 p.

CASE, L.; CAREY, D.; HIRAKAWA, D. 2000. Nutrición canina y felina. Editorial Harcourt Brace. Madrid, España. 411 p.

CASP, A. 1999. Procesos de conservación de alimentos. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 494 p.

CHILE. INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION. 2001. Norma Chilena (NCh) 2546. Alimentos completos para perros y gatos.

CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2006. DECRETO Supremo N° 997. NUEVO REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS. Santiago, Chile. 13 de mayo de 1997. Actualizado 3 de agosto del 2006. 286 p.

CHURCH, D. 2003. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 2ª ed. Editorial Limusa-Wiley. México. 635 p.

CORNEJO, S. 1995. Aspectos nutricionales básicos de energía, carbohidratos, lípidos y proteínas, con especial referencia a particularidades nutricionales y metabólicas de carnívoros domésticos. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Depto. Fomento de la Producción Animal. 16 p.

COWELL, C.; STOUT, N.; BRINKMANN, M.; MOSER, E.; CRANE, S. 2000. Preparación comercial de alimentos para mascotas. En: Hand, M. Nutrición clínica en pequeños animales. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp. 149-173.

CRANE, S.; GRIFFIN, R.; MESSENT, P. 2000. Introducción a los alimentos comerciales para mascotas. En: Hand, M. Nutrición clínica en pequeños animales. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp. 127-147.

DE LUCA, L. 2005. Micotoxinas. [en línea]. Chile. http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=464&AREA= [consulta: 07-03-2005]

DEL CERRO, A.; SOTO, M.; MENDOZA, M. 2003. Virulence and microbial-resistance gene profiles determined by PCR-based procedures for *Salmonella* isolated from samples of animal origin. Food Microbiology 20(4):431- 438.

EFSA. 2004a. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal 89:1-35.

EFSA. 2004b. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to Ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal 101:1-36.

ETTINGER, S.; FELDMAN, E. 2002. Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. 2274 p.

FAO. 2003. Manual sobre la aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas. FAO. Roma, Italia. 135 p.

FRANDSON, R. 1988. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. Editorial Interamericana. México. 527 p.

FRAZIER, W; WESTHOFF, D. 1993. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 681 p.

GONZÁLEZ, N. 1990. Hongos y micotoxinas. Informaciones Avícolas y de Cerdos. 0 (143):21-25.

GREENE, C. 1993. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México.1020 p.

GROSS, K.; WEDEKIND, K.; COWELL, C.; SCHOENHER, W.; JEWELL, D.; ZICKER, S.; DEBRAEKELEER, J.; FREY, R. 2000. Nutrientes. En: Hand, M. Nutrición clínica en pequeños animales. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp. 23-124

HACKETT, T.; LAPPIN, M. 2003. Prevalence of enteric pathogens in dogs of north Central Colorado. Journal of the American Animal Hospital Association 39(1):52-56.

HENDL, H. 1990. Presencia de hongos toxigénicos y algunas de sus toxinas en alimentos de uso animal. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 93 p.

HERRERA, J. 2001. Algunas características de los hábitos alimentarios y comercialización de los alimentos de uso en las poblaciones canina y felina en el gran Santiago. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 220 p.

HODGKINSON, C. 2004. Evaluación químico-nutricional de alimentos secos comerciales en Chile para perros adultos en mantención. Revista Archivos de Medicina Veterinaria. 36(2):173-181

HORN, R. 1979. Advantages of using extrusion processing. Cereals Foods World. 24(4):143-145

HSIEH, D. 1979. Basic metabolic effects of mycotoxins. **En:** Interactions of mycotoxins in animal production. Proceedings of a Symposium. National Academy of Sciences. Washington, Estados Unidos. pp 43-53.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1982. Microorganismos en los alimentos. Técnicas de análisis de laboratorio. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 422 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1983. Ecología microbiana de los alimentos, 1; Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Vol I. 332 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1984. Ecología microbiana de los alimentos, 2; Productos alimenticios. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Vol II. 989 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1991. El sistema de análisis de riesgo y puntos críticos. Editorial Acribia. España. 332 p.

KIM, H.; PARK, S.; PARK, H. 2004. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. Food Microbiology. 21:105-110.

KONEMAN, E. 1983. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 2da Edición. Editorial J. B. Lippincott Company. Pennsylvania, USA. 689 p.

LARENAS, J. 1995. Principales patologías infecciosas gastrointestinales en caninos. MEVEPA. 9(2):24-30.

LEWIS, L.; MORRIS, M. 1984. Small animal clinical nutrition. Editorial Mark Morris Associates. Kansas, U.S.A. 350 p.

LI, Q.; SHERWOOD, J.; LOGUE, C. 2004. The prevalence of *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *E.coli* O157:H7 on bison carcasses during processing. Food Microbiology. 21(6):791-799.

LOPEZ, L. 1988. Introducción al tema de micotoxinas y micotoxicosis. Boletín Micológico. 4(1):1-26.

MILLER, E.; CULLOR, J. 2000. Seguridad alimentaria. En: Hand, M. Nutrición clínica en pequeños animales. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp. 219-237.

MOSSEL, D.; MORENO, B. 1994. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

MULLER, P.; RIEL, R. 1990. Tecnología de extrusión. En: Tecnologías de América del Norte para el procesamiento de los alimentos. IILCA. San José, Costa Rica. pp. 79-80.

RODRIGO, S.; ADESEIYUN, Q.; ASGARALI, Z.; SWANSTON, W. 2005. Prevalence of *Campylobacter sp.* on chickens from selected retail processors in Trinidad. Food Microbiology. 22:125-131.

SAAVEDRA, C. 1996. Valor Nutritivo de dietas secas comerciales para perros. Memoria Título de Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 92 p.

SHARMA, M.; MARQUEZ, C. 2001. Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. Animal Feed Science and Technology. 93:109-114.

STEIFF, E.; BAUER, J. 2001. Nutritional adequacy of diets formulated for companion animals. JAVMA. 129(5):601-604.

SUÁREZ-QUIROZ, M.; GONZÁLES-RÍOS, O.; BAREL, M.; GUYOT, B.; SCHORR-GALINDO, S.; GUIRAUD, J. 2004. Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee. Food Microbiology. 21:629-634.

VELLUTI, A.; MARIN, S.; GONZALES, P.; SACHIS, V. 2004. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticilloides*, *F. proliferatum* y *F. graminearum* in maize-based agar media. Food Microbiology. 21(6):649-656.

VIVANCO, B. 1995. Caracterización microbiológica de alimentos concentrados para perros. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 95 p.

ZAMORA, J; REINHARDT, G.; POLETTE, M.; MACIAS, P.; ENGLISH, J. 1997. Aislamiento de *Yersinia enterocolitica* y de *Yersinia kristensenii* en fecas de ovinos. Archivos de Medicina Veterinaria. 29(2):301-305.

ZAMORA, J; REINHARDT, G.; POLETTE, M.; MACIAS, P. 2000. Detección rápida en el diagnóstico de *Escherichia coli* toxigénica productora de LT y VT. Archivos de Medicina Veterinaria. 32(1):83-87.

ANEXOS

PERFILES DE NUTRIENTES RECOMENDADOS POR AAFCO PARA PERROS EN ETAPAS DE MANTENCIÓN Y CRECIMIENTO- REPRODUCCIÓN*.

Nutriente	Base Materia Seca	Mínimo Crecimiento y Reproducción	Mínimo Adulto en Mantenición	Máximo
Proteína	%	22.0	18.0	-
Arginina	%	0.62	0.51	-
Histidina	%	0.22	0.18	-
Isoleucina	%	0.45	0.37	-
Leucina	%	0.72	0.59	-
Lisina	%	0.77	0.63	-
Metionina-cistina	%	0.53	0.43	-
Fenilalanina-tirosina	%	0.89	0.73	-
Treonina	%	0.58	0.48	-
Triptófano	%	0.20	0.16	-
Valina	%	0.48	0.39	-
Grasa^b	%	8.0	5.0	-
Ácido linoleico	%	1.0	1.0	-
Minerales				
Calcio	%	1.0	0.6	2.5
Fósforo	%	0.8	0.5	1.6
Relación Ca:P		1:1	1:1	2:1
Potasio	%	0.6	0.6	-
Sodio	%	0.3	0.06	-
Cloro (Cl)	%	0.45	0.09	-
Magnesio	%	0.04	0.04	0.3
Hierro^c	mg/kg	80.0	80.0	3,000.0
Cobre^d	mg/kg	7.3	7.3	250.0
Manganeso	mg/kg	5.0	5.0	-
Zinc	mg/kg	120.0	120.0	1,000.0
Yodo	mg/kg	1.5	1.5	50.0
Selenio	mg/kg	0.11	0.11	2.0
Vitaminas				
Vitamina A	IU/kg	5,000.0	5,000.0	250,000.0
Vitamina D	IU/kg	500.0	500.0	5,000.0
Vitamina E	IU/kg	50.0	50.0	1,000.0
Vitamina B1 (tiamina)^e	mg/kg	1.0	1.0	-
Vitamina B2 (riboflavina)	mg/kg	2.2	2.2	-
Vitamina B5 (ácido pantoténico)	mg/kg	10.0	10.0	-
Vitamina B3 (niacina)	mg/kg	11.4	11.4	-
Vitamina B6 (piridoxina)	mg/kg	1.0	1.0	-
Acido Fólico	mg/kg	0.18	0.18	-

Vitamina (cianocobalamina)	B12	µg/kg	22.0	22.0	-
Colina		g/kg	1.2	1.2	-
<p>^a Presume una densidad energética de 3.5 kcal ME/g DM (energía metabolizable /gramo materia seca), basado en los valores del factor de Atwater , de 3.5, 8.5, y 3.5 kcal/g de proteína, grasa, y carbohidratos (extracto libre de Nitrógeno , NFE), respectivamente.</p> <p>Las raciones mayores de 4.0 kcal/g Deben ser corregidas por la densidad energética; raciones menores de 3.5 kcal/g no deben ser corregidas.</p> <p>^b A pesar de que no se ha establecido el requerimiento real de grasa, el nivel mínimo esta basado en el reconocimiento de la grasa como una fuente de ácidos grasos, transportador de vitaminas liposolubles, mejorador de la palatabilidad y aporte de densidad calórica.</p> <p>^c Debido a su baja biodisponibilidad, el hierro del carbonato y de las fuentes de óxidos que son adicionadas a la dieta no deben ser consideradas como componentes para alcanzar el mínimo nivel de nutrientes.</p> <p>^d Debido a su baja biodisponibilidad, el cobre obtenido desde Fuentes de óxidos que son adicionadas a la dieta no deben ser consideradas como componentes para alcanzar el nivel mínimo requerido.</p> <p>^e Debido a que el procesamiento puede destruir sobre el 90% de la tiamina de la dieta, la formulación debe asegurar alcanzar el nivel mínimo requerido del nutriente después del procesamiento.</p>					

*Fuente: AAFCO, 2002.

REQUERIMIENTOS MÍNIMOS DE CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN ALIMENTOS FORMULADOS PARA PERROS EN ETAPA DE CRECIMIENTO (BASE MATERIA SECA Y 3.670 KCAL DE EM/MS) RECOMENDADO POR NRC*.

NUTRIENTE	UNIDADES	CONCENTRACIÓN
PROTEÍNA		
Aminoácidos esenciales		
Arginina	%	0.50
Histidina	%	0.18
Isoleucina	%	0.36
Leucina	%	0.58
Lisina	%	0.51
Metionina-Cisteína	%	0.39
Fenilalanina-Tirosina	%	0.72
Treonina	%	0.47
Triptofano	%	0.15
Valina	%	6.39
Aminoácidos no esenciales	%	6.26
LÍPIDOS	%	5.0
Ácido linoleico	%	1.0
MINERALES		
Calcio	%	0.59
Fósforo	%	0.44
Potasio	%	0.44
Sodio	%	0.06
Cloro	%	0.09
Magnesio	%	0.04
Hierro	mg/kg	1.09
Cobre	mg/kg	2.90
Manganeso	mg/kg	5.10
Zinc	mg/kg	35.60
Yodo	mg/kg	0.59
Selenio	mg/kg	0.11

*Fuente: Church, 2003.

DEFICIENCIAS, EXCESOS Y PRINCIPALES FUENTES DIETÉTICAS DE LAS VITAMINAS*.

VITAMINA	DEFICIENCIA	EXCESO	FUENTES
A	Alteración del crecimiento, falla en la reproducción, pérdida de la integridad epitelial, dermatosis	Anomalías esqueléticas, hiperestesia	Aceites de hígado de pescado, leche, hígado, yema de huevo
D	Raquitismo, osteomalacia, hipoparatiroidismo secundario nutricional	Hipercalcemia, reabsorción ósea, calcificación de tejidos blandos	Hígado, algunos pescados, yema de huevo, luz solar
E	Falla en la reproducción, panesteatitis en gatos	No tóxico, pueden aumentar las demandas de vitaminas A y D	Aceites de soja, maíz y germen de trigo
K	Aumento del tiempo de coagulación, hemorragia	Ninguno registrado	Vegetales de hoja verde, hígado, algunos pescados
Tiamina	Disfunción de SNC ^a , anorexia, pérdida de peso	No tóxico	Carne, germen de trigo
Riboflavina	Disfunción del SNC, dermatitis	No tóxico	Leche, vísceras, verduras
Niacina	Enfermedad de "lengua negra"	No tóxico	Carne, legumbres, granos.
Piridoxina	Anemia microcítica, hipocrómica	Ninguno registrado	Vísceras, pescados, germen de trigo
Acido Pantoténico	Anorexia, pérdida de peso	Ninguno registrado	Hígado, riñón, lácteos, legumbres
Biotina	Dermatitis	No tóxico	Huevos, hígado, leche legumbres
Acido Fólico	Anemia, leucopenia	No tóxico	Hígado, riñón, verduras de hoja verde
Cobalamina	Anemia	No tóxico	Carne, pescado, aves
Colina	Disfunción neurológica, hígado graso	Diarrea	Yema de huevo, pescado, aves
C	No necesaria para perros/gatos	No tóxica	Cítricos, verduras de color verde intenso

^a: Sistema nervioso central

*Fuente: Case et al, 2000.

DEFICIENCIAS, EXCESOS Y PRINCIPALES FUENTES DIETÉTICAS DE MINERALES*.

MINERAL	DEFICIENCIA	EXCESO	FUENTES
Calcio	Raquitismo, osteomalacia, hiperparatiroidismo secundario nutricional	Alteraciones del desarrollo esquelético. Contribuye a otras deficiencias minerales	Lácteos, carnes y aves, huesos
Fósforo	Igual que la deficiencia de calcio	Causa deficiencia de calcio	Carne, aves, pescado
Magnesio	Calcificación de tejidos blandos, hipertrofia de la metafisis de huesos largos	Es improbable el exceso dietético. La absorción se regula de acuerdo con las necesidades	Soya, maíz, cereales integrales, harina de hueso
Azufre	No descrita	No descrita	Carne, aves, pescado
Hierro	Anemia microcítica hipocrómica	Es improbable el exceso dietético. La absorción se regula según las necesidades	Vísceras
Cobre	Anemia microcítica hipocrómica; deterioro del crecimiento esquelético	El trastorno hereditario del metabolismo del cobre provoca hepatopatía	Vísceras
Cinc	Dermatosis, despigmentación del pelo, retraso del crecimiento, problemas reproductivos	Provoca deficiencia de calcio y cobre	Hígado de buey, carne de pollo, leche, yema de huevo, legumbres
Manganeso	La deficiencia dietética es improbable. Deterioro del crecimiento esquelético; problemas reproductivos	Es improbable el exceso dietético	Carne, aves, pescado
Yodo	Es improbable la deficiencia dietética. Bocio, retraso del crecimiento, problemas reproductivos	Es improbable el exceso dietético. Bocio	Pescado, buey, hígado
Selenio	Es improbable la deficiencia dietética. Miopatías cardíacas y esqueléticas	Es improbable el exceso dietético. Miocarditis necrosante, nefritis y hepatitis tóxica	Cereales, carne, aves
Cobalto	Es improbable la deficiencia dietética. Deficiencia de vitamina B12; anemia	No descrita	Pescado, lácteos

*Fuente: Case et al, 2000.