



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y  
BIOLÓGICAS

CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli*  
SEROTIPO O157:H7 Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN  
ALIMENTOS TIPO BARF PARA PERROS EN LIMA, PERÚ, 2019”

Tesis para optar el título de:  
Médico Veterinario y Zootecnista

Presentado por:

Kiara Carolina Ortega Vassallo: (<https://orcid.org/0000-0002-2779-6526>)

Asesor:

Siever Morales Cauti: (<https://orcid.org/0000-0002-5396-8889>)

Lima – Perú

2020

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 07 de octubre del 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: <b>Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE</b>
Miembro: <b>Mg. ZARELA CABALLERO FLORES</b>
Miembro: <b>M.V. EGLINTON RUBEN VILLACAQUI AYLLON</b>

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* SEROTIPO O157:H7 Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN ALIMENTOS TIPO BARF PARA PERROS EN LIMA, PERÚ, 2019”**

Presentada por el bachiller:

**KIARA CAROLINA ORTEGA VASSALLO**

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario y Zootecnista**

Asesorada por: **Mg. SIEVER MIGUEL MORALES CAUTI**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la Bachiller de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime ( ---- ) por mayoría simple ( x ) calificar a:

Tesis: <b>KIARA CAROLINA ORTEGA VASSALLO</b>			Nota (en letras): Dieciocho
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena ( x )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



**Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE**  
**TEMOCHE**  
**Presidente**



**Mg. SIEVER MIGUEL MORALES CAUTI**  
**CAUTI**  
**Asesor**



**Mg. ZARELA CABALLERO FLORES**  
**Miembro 1**



**M.V. EGLINTON RUBEN VILLACAQUI AYLLON**  
**AYLLON**  
**Miembro 2**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* SEROTIPO O157:H7 Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN ALIMENTOS TIPO BARF PARA PERROS EN LIMA, PERÚ, 2019**

**DETERMINATION OF THE PRESENCE OF *Escherichia coli* SEROTYPE O157: H7 AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN BARF FOR DOGS IN LIMA, PERÚ, 2019**

Kiara Ortega Vassallo<sup>1</sup>, Siever Morales Cauti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Perú.

**RESUMEN**

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 y resistencia antimicrobiana en alimentos tipo BARF (Alimentos crudos biológicamente apropiados) para perros, comercializados en distintos distritos de Lima, Perú. Se analizaron 124 muestras de dietas crudas congeladas pertenecientes a 15 marcas diferentes, cada muestra de distinto lote. Se realizó el aislamiento microbiológico estándar haciendo uso de medios de cultivo MacConkey y EMB, y su identificación por medio de pruebas bioquímicas; para la serotipificación de *E. coli* O157, se utilizó Látex test (Oxoid TSMX4147C) con partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos reactivos al antígeno somático O157, y para la identificación del antígeno H7, similar Látex test específico (RIM *E. coli* O157:H7 Latex Test - Oxoid TSMX9410). El presente estudio no logró identificar cepas *E. coli* O157:H7 dentro de las muestras analizadas; sin embargo, el 65.32% (81/124) con un IC<sub>95%</sub>: 56.9% – 73.7% de las muestras evaluadas fueron positivas a *E. coli*. Del total de colonias positivas a *E. coli* aisladas de alimento tipo BARF, el 38.18% fueron resistentes a los 12 antimicrobianos evaluados. No existe la presencia de *E. coli* serotipo O157:H7 en dietas BARFs para perros comercializadas en Lima.

**Palabras claves:** *Escherichia coli*, O157: H7, carne, crudo, dieta, contaminación, perro, antimicrobiano, resistencia a fármacos

### ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the presence of *Escherichia coli* (*E. coli*) O157: H7 and antimicrobial resistance in BARF (Biologically Appropriate Raw Food Diet) for dogs, marketed in different districts of Lima, Peru. 124 samples of frozen raw diets belonging to 15 different brands were analyzed, each sample from a different batch. Standard microbiological isolation was performed using MacConkey culture media, and its identification through biochemical tests; for the respective serotyping of *E. coli* O157, Latex test (Oxoid TSMX4147C) was used with latex particles sensitized with antibodies reactive to the somatic antigen O157 and for the identification of the H7 antigen, a similar specific Latex test was carry out (RIM *E. coli* O157: H7 Latex Test - Oxoid TSMX9410). The present study failed to identify *E. coli* O157: H7 strains within the analyzed samples; however, 65.32% (81/124) of the evaluated samples were positive for *E. coli*. In addition, within the *E. coli* positive colonies assessed, 38.18% were resistant to the 12 antimicrobials evaluated. Therefore, it was confirmed that commercial BARFs foods could serve as potential sources for contamination of multiple antimicrobial resistant *E. coli*. There is no evidence for the presence of *E. coli* serotype O157:H7 in BARF diets for dogs marketed in Lima.

**Keywords:** *Escherichia coli*, O157:H7, meat, raw, diet, contamination, dog, antimicrobial, drug resistance

## INTRODUCCIÓN

La alimentación a base de carne cruda para gatos y perros, se ha ido incrementando en los últimos años a nivel mundial (Schlesinger y Joffe, 2011); estas dietas crudas se denominan “Alimento Crudo Biológicamente Apropriado” (ACBA) o en inglés “Biologically Appropriate Raw Food” (BARF), pudiendo ser elaborados de forma casera y comercializadas. En general, se elabora a base de ingredientes crudos derivados de animales domesticados y silvestres; estos ingredientes pueden incluir músculos, órganos internos, grasa y huesos de mamíferos, peces o aves de corral; además, leche sin pasteurizar, huevos crudos y diversos vegetales (Freeman *et al.*, 2013). Estos alimentos BARF se comercializan de forma fresca o congelada (Dadd *et al.*, 2019; Freeman *et al.*, 2013), siendo los congelados la presentación más comercial en el Perú.

Han sido identificados múltiples beneficios de la alimentación con este tipo de dietas; como la calidad nutricional, mejor palatabilidad, dientes y encías más sanas, pelaje más brillante, mejor microbiota intestinal, heces más duras y mejora de la energía del animal (Craig, 2020). Se ha reportado que las dietas a base de alimentación cruda promueven un crecimiento más equilibrado de comunidades bacterianas, y por ende un cambio positivo para las funciones intestinales saludables (Sandri *et al.*, 2017); sin embargo, los perros que son alimentados con este tipo de dietas, poseen un mayor riesgo de infecciones oportunistas que aquellos perros alimentados con dieta seca de formulación comercial (Kim *et al.*, 2017). Algunas dietas BARFs poseen elevados niveles de grasa, comparadas con las típicas dietas extruidas comerciales, esto mejoraría el brillo del pelaje percibido por los propietarios, pero a su vez puede causar problemas intestinales leves a severos y/o aumentar el riesgo de obesidad en los perros si se sobrealimentan con dietas altas en grasa (Freeman *et al.*, 2013).

Morelli *et al.* (2019) realizaron un estudio basado en encuestas, el 60% de los propietarios eligieron el tipo de alimentación cruda en base a una búsqueda de información por internet y solo 9% por medio de un veterinario; además, el 33% formulan el alimento siguiendo solo los consejos de personas por internet y el 94% de los encuestados considera el BARF completamente seguro. Un estudio similar reportó que en 39 hogares se confirmó una transmisión de patógenos desde el alimento crudo para mascotas a los humanos. De los casos confirmados, se determinó a la *Escherichia coli* (*E. coli*) como el agente causal al hallarlo en el alimento para mascotas como en los casos humanos. Asimismo, el 75% de los que confirmaron o sospecharon de una transmisión cruzada, utilizaban el mismo lugar de manejo para la dieta cruda y para alimentos de los humanos (Anturaniemi *et al.*, 2019).

En la actualidad, existen numerosos estudios que indican los riesgos potenciales para la mascota asociados al uso de la alimentación con BARF. De las dietas crudas, solo la minoría son elaboradas por médicos veterinarios especializados en el área de nutrición; mientras que, la mayoría son preparadas de forma empírica (Morelli *et al.*, 2019). Esto genera una nutrición desequilibrada con exceso o falta de uno o múltiples nutrientes esenciales para el animal, lo que puede ser perjudicial, particularmente en animales que se encuentran en crecimiento (Freeman *et al.*, 2013). Los numerosos casos con deficiencias nutricionales resultan en problemas metabólicos y esqueléticos, siendo más propensos a cojeras, fracturas y deformidades como secuelas de estas; un ejemplo de esto, fue reportado en un ovejero inglés de 4 meses con signos de cojera progresiva alimentado con una dieta cruda casera desbalanceada; los análisis detectaron una hipovitaminosis D y una deficiencia de calcio, evidenciando una osteopenia difusa severa, que con ejercicio y un cambio de dieta apropiado para la edad y tamaño del perro tuvo una mejora evidente (Dadd *et al.*, 2019). Se han reportado, que recetas

elaboradas bajo esta estructura para mantenimiento de perros, el 95% presentan por lo menos un nutriente por debajo del mínimo dado por la Association of American Feed Control Officials (AAFCO), y un 83.5% contenía múltiples deficiencias (Stockman *et al.*, 2013), posible desarrollo de hiperparatiroidismo secundario (Kohler *et al.*, 2012 ; Taylor *et al.*, 2009), y fractura de los dientes, lesión y/u obstrucción a nivel de la cavidad oral y a lo largo del tracto gastrointestinal (Freeman *et al.*, 2013).

El tema más discutido en la actualidad es el riesgo para la salud animal y la salud pública, debido a la posible contaminación de BARFs con agentes patógenos. La presencia y propagación de microorganismos patógenos en los alimentos, ya sea de manera directa a través de insumos contaminados, superficies, animales infectados representan un riesgo para la salud (Weese *et al.*, 2005). Van bree *et al.* (2018) evaluaron 35 dietas comerciales congeladas a base de carne cruda de 8 marcas diferentes, en el 23% se aisló *E. coli* O157:H7 y en el 80% *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido, en 54% estaba presente *Listeria monocytogenes* (Lister, 1857), *Salmonella spp* (Lignieres, 1900) en 20%; además también se hallaron parásitos, en 11% *Sarcocystis cruzi* (Miescher, 1843) y en 6% *Toxoplasma gondi* (Nicolle & Manceaux, 1908); evidenciando la presencia de múltiples agentes patógenos en las dietas BARFs, llegando a ser un potencial riesgo para la salud el animal.

La *E. coli* es un patógeno que toma gran relevancia en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). La *E. coli* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, la cual puede encontrarse como miembro comensal de la microbiota intestinal de animales y humanos. Sin embargo, algunas cepas resultan ser patógenos causales de diversas enfermedades intestinales y

extra intestinales (Mainil, 2013). La presencia de *E. coli* patógena puede generar en el perro una colibacilosis, produciendo daño a nivel del tracto gastrointestinal, generando signos de diarreas, vómitos, pérdida de peso, deshidratación, anorexia, cuadros de shock y en casos extremos puede conllevar a la muerte del animal (Zotta et al., 2015).

Aquellos serotipo de *E. coli* patógenos que causan daño a nivel intestinal generando el signo diarrea en el hospedador se les denomina *E. coli* diarreogénica, ésta a su vez se subdivide en 6 patotipos: enterotoxigénica (ECET), enteropatógena (ECEP), enteroinvasiva (ECEI), enteroagregativa (ECEA), enterohemorrágica (ECEH) y de adherencia difusa (ECAD) (Rodríguez-Angeles, 2002; Mainil, 2013). La ECEH también es conocida como productora de toxina Vero o toxina semejante a Shiga (VTEC o STEC); la cepa más frecuente de este subgrupo es la *E. coli* serotipo O157:H7, y la que toma más relevancia en investigaciones a nivel mundial, debido a su alta patogenicidad, y su relación en cuanto a su presencia en productos crudos de consumo humano y animal; teniendo al bovino como su principal reservorio (Rodríguez-Angeles, 2002; Saeedi et al., 2017).

La resistencia bacteriana a antimicrobianos adquiere importancia debido a que puede ser adquirida por las mascotas a través del consumo de productos BARFs contaminados. Una investigación en Lima reveló un elevado nivel de resistencia de antimicrobianos en carne de pollo, res y cerdo, de mercados de abasto (Ruiz-Roldan et al., 2018). A su vez, se reportó también un alto porcentaje de resistencia en dietas crudas, donde el 62.7% de las enterobacterias aisladas eran resistentes, siendo la



mayoría resistentes a cefalosporinas de tercera generación y productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) (Nuesch-Iderbinen et al., 2019).

Se plantea que los médicos veterinarios deben tomar un rol más activo en relación a la toma de decisión de los dueños en cuanto a la alimentación de su mascota; plantearles y explicarles los posibles riesgos que implica las dietas tipo BARFs. Para que la intervención del veterinario tenga más relevancia, es importante que estos médicos posean los conocimientos y la data previa necesaria para entender en su totalidad la situación epidemiológica y poder asesorar correctamente a los propietarios (Hinney, 2018).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población y Muestra de estudio

La población de estudio comprendió unidades de dietas comerciales BARFs congeladas, comercializadas en Lima metropolitana, obtenidas durante los meses de julio a diciembre del 2019. El tamaño de muestra se estimó utilizando un 23% de prevalencia obtenida de un estudio similar realizado en Europa (Van Bree *et al.*, 2018), debido a que no existen estudios similares realizados en el Perú o Latinoamérica; con un 95% de confiabilidad y 5% de error; utilizándose la siguiente fórmula de presencia o ausencia (Thrusfield, 2005):

$$n = \left(1 - (1 - NC)^{\frac{1}{d}}\right) \cdot \left(N - \frac{(d-1)}{2}\right)$$

Dónde:

NC = Nivel de confianza.  
referencia.

N = Tamaño de la población de

d = Prevalencia esperada.

n = Tamaño mínimo de muestra.

Finalmente se obtuvo un total de 120 muestras como mínimo; sin embargo, se evaluaron 124 muestras cada muestra perteneciente a lotes distintos, las cuales fueron obtenidas de 15 marcas más comerciales disponibles en Lima, Perú.

### **Muestreo y Lugar de Estudio**

El presente estudio fue de tipo observacional, prospectivo, descriptivo y transversal. Se realizó un muestreo aleatorio en el universo de muestras disponibles en comercialización. Se seleccionó como muestras a aquellos alimentos tipo BARF para perros, fabricados a base de carne cruda de diferente origen animal y diversos vegetales crudos, los cuales se encontraron de forma congelada, comercializadas vía delivery y/o en tiendas veterinarias.

El aislamiento e identificación de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur, localizada en Villa el Salvador, Lima, Perú. Las muestras fueron almacenadas en congelamiento (-18°C) y llevadas posteriormente al laboratorio dentro de cajas térmicas, conservando de esta manera la cadena de frío. Una vez llegado al laboratorio, las muestras fueron descongeladas siendo ubicadas en agua a temperatura ambiente.

### **Identificación de *Escherichia coli***

Todos los ingredientes fueron previamente homogenizados para la fabricación de las dietas BARF. La identificación de *E. coli* se realizó de forma convencional (INS, 2001) se tomaron 10 gr por cada muestra (ya homogenizada), y fueron puestas en un enriquecimiento previo en caldo Trypticase de soya a 37°C por 24h; posteriormente, para su aislamiento se sembró en agar MacConkey y EMB (Eosina y Azul de Metileno agar) incubadas a 37°C por 24h. Las cepas sospechosas de *E. coli* fueron confirmadas

través de las pruebas bioquímicas: LIA (Lisina Hierro agar), citrato de Simmons, SIM, urea y TSI (Triple Sugar Iron agar), cultivadas a 37°C por 24h. Además, algunas de las cepas confirmadas se les realizaron la tinción Gram, y fueron observadas al microscopio.

### **Identificación de *Escherichia coli* serotipo O157:H7**

Las cepas compatibles con *E. coli* fueron subcultivadas en agar MacConkey sorbitol. Las colonias que no fermentaron sorbitol (colonias incoloras) fueron aisladas y sometidas al E. coli O157 Latex Test (Oxoid TSMX4147C), el cual posee partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos específicos reactivos al antígeno somático O157. Para la serotipificación se utilizó RIM E. coli O157:H7 Latex Test (Oxoid TSMX9410), con similar mecanismo al test antes mencionado, resultando positivo la aglutinación.

### **Identificación de Resistencia a Antimicrobianos**

Las cepas positivas a *E. coli* confirmadas mediante las pruebas bioquímicas, fueron almacenadas en crioviales con caldo Tripticasa de soya, hasta ser nuevamente analizadas. Se determinó la sensibilidad antimicrobiana frente a 12 fármacos, mediante el método de difusión en disco (método Kirby-Bauer), siguiendo el modelo de la guía CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Los antimicrobianos fueron: Ac. Nalidíxico (30ug/ml), Azitromicina (15ug/ml), Imipenem (10ug/ml), Cotrimoxazol (25ug/ml), Gentamicina (10ug/ml), Cloranfenicol (30ug/ml), Amoxicilina con ac. Clavulánico (30ug/ml), Ciprofloxacina (5ug/ml), Furazolidona (100 ug/ml), Nitrofurantoina (300ug/ml), Ampicilina (10ug/ml) y Tetraciclina (30ug/ml) (Cuadro 1). Se sembró las cepas en agar Muller Hinton, posteriormente se ubicaron 6 discos en cada placa, y se incubó nuevamente a 37°C por 24h.

## **RESULTADOS**

El 65.32% (81/124) con un IC<sub>95%</sub>: 56.9% – 73.7% de las muestras analizadas fueron positivas a *E. coli*; sin embargo, no se logró identificar ninguna cepa *E. coli* serotipo O157:H7; de las cuales 8 marcas presentaron por lo menos el 80% de positivos a *E. coli* (Cuadro 1).

**Cuadro 1: Frecuencia de presentación de positivos de *E. coli* según el número de muestras por marca de alimento tipo BARFs comerciales de Lima, 2019**

Marca	N° muestras	N° positivos	%*	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
D	10	10	100.00	100.00	100.00
L	9	9	100.00	100.00	100.00
M	9	9	100.00	100.00	100.00
C	2	2	100.00	100.00	100.00
F	2	2	100.00	100.00	100.00
N	9	8	88.89	68.36	100.00
J	7	6	85.71	59.79	100.00
Ñ	10	8	80.00	55.21	100.00
A	10	7	70.00	41.60	98.40
G	9	6	66.67	35.87	97.46
I	9	4	44.44	11.98	76.91
K	9	4	44.44	11.98	76.91
B	10	3	30.00	1.60	58.40
H	9	2	22.22	0.00	49.38
E	10	1	10.00	0.00	28.59
Total	124	81	65.32	56.95	73.70

\* Porcentaje de positivos según el número de positivos del número de muestras totales por marca

De los insumos, la carne de res fue el tipo de proteína más utilizada y evaluada, el 73.33% (22/30) resultó positivo; el pollo un 38.10% positivo (8/21); y el pavo 85.71% (12/14) (Cuadro 2).

**Cuadro 2: Frecuencia de muestras positivas a *E. coli* según el total de muestras por cada tipo de proteína utilizada en el alimento tipo BARF comerciales de Lima, 2019**

Tipo de proteína animal	N° muestras	N° positivos	%*	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
Res	30	22	73.33	57.51	89.16
Res y pavo	22	13	59.09	38.55	79.64
Pollo	21	8	38.10	17.33	58.87
Pavo	14	12	85.71	67.38	100.00

Res y pollo	11	8	72.73	46.41	99.05
Res y cerdo	9	7	77.78	50.62	100.00
Pollo, pavo y pato	5	5	100.00	100.00	100.00
Pavo y pato	4	1	25.00	0.00	67.43
Res y equino	3	3	100.00	100.00	100.00
Cordero	3	1	33.33	0.00	86.68
Res, pavo y pollo	1	1	100.00	100.00	100.00
Pavo y pollo	1	0	0.00	0.00	0.00
<b>Total</b>	<b>124</b>	<b>81</b>	<b>65.32</b>	<b>56.95</b>	<b>73.70</b>

\* Porcentaje de positivos según el número de positivos del número de muestras totales por proteína

Del total de muestras positivas a *E. coli*, el 38.18% del total de colonias evaluadas resultaron resistentes y el 17.04% intermedias. En Ampicilina, Cotrimoxazol, Ac. Nalidixico y Cloranfenicol se encontró un porcentaje de resistencia superior al 50%, en Tetraciclina, Furazolidona e Imipenem superior al 30%. Solo una colonia evaluada contra Azitromicina resulto resistente, todas las demás fueron sensibles (Cuadro 3).

**Cuadro 3: Frecuencia de la resistencia a antimicrobianos de las cepas de *Escherichia coli* aislados en BARFs comerciales de Lima, 2019**

Antimicrobiano	Sensible		Intermedio		Resistente	
	n	%*	n	%*	n	%*
Ampicilina	7	10.45	14	20.90	46	68.66
Cloranfenicol	3	4.48	19	28.36	45	67.16
Ácido nalidíxico	10	14.93	16	23.88	41	61.19
Cotrimoxazol	23	34.33	5	7.46	39	58.21
Tetraciclina	30	44.78	4	5.97	33	49.25
Imipenem	22	32.84	20	29.85	25	37.31
Furazolidona	26	38.81	19	28.36	22	32.84
Ciprofloxacina	43	64.18	4	5.97	20	29.85
Gentamicina	46	68.66	8	11.94	13	19.40
Nitrofurantoina	35	52.24	21	31.34	11	16.42
Amoxicilina						
Ácido clavulánico	49	73.13	7	10.45	11	16.42
Azitromicina	66	98.51	0	0.00	1	1.49
<b>Total</b>	<b>360</b>	<b>44.78</b>	<b>137</b>	<b>17.04</b>	<b>307</b>	<b>38.18</b>

\*Porcentajes calculado sobre el número total de colonias positivas evaluadas

"Número total de colonias evaluadas calculado sobre la suma de todos los n por cada antimicrobiano

## DISCUSIÓN

El presente estudio no identificó cepas *E. coli* O157:H7 en las muestras analizadas; sin embargo, a nivel de Latinoamérica se han reportado prevalencias de *E. coli* O157:H7 productora de toxina Shiga en productos cárnicos de res de 1.4% y 3.5%, en Argentina y Brasil, respectivamente (Morato *et al.*, 2007; Jure *et al.*, 2015), y 1.54% en carne molida en el Perú (Mendez *et al.*, 2013). A nivel mundial, en Turquía y Etiopía se reportó 1.94% y 10.2% en carne de pollo y en carne de res, oveja y cabra, respectivamente (Bekele *et al.*, 2014; Dincoglu *et al.*, 2016), en España en preparados cárnicos y en Sudáfrica en carne seca, carne picada y embutidos se aisló con 19.41% y 2.8%, respectivamente (Abong'ó y Momba, 2009; Ripodas *et al.*, 2017). Los reportes de hallazgos en diversos países, confirma la alta posibilidad y el potencial riesgo de la presencia del serotipo antes mencionado; por lo que, el uso de una técnica más sensible, otras circunstancias de muestreo, o un mayor número de muestras analizadas hubiese permitido el aislamiento de las cepas *E. coli* O157:H7.

Llanos *et al.* (2012) reportaron que el 9.2% de los niños con cuadros de diarrea sanguinolenta evaluados en el Perú se asociaron a *E. coli* productora de toxina Shiga, demostrando el riesgo permanente que este patógeno representa, tras la posible contaminación de las dietas crudas de las mascotas, puede ser también una ruta de transmisión al humano, generando un riesgo para la salud pública.

El 65.32% (81/124) con un IC<sub>95%</sub>: 56.9% – 73.7% de las muestras que resultaron positivas a *E. coli* en el presente estudio se encuentra dentro del rango de resultados reportados en muestras de mercados de abasto de la ciudad de Lima, 87.18% positivos en muestras de carne molida (Mendez *et al.*, 2013) y 42% de puestos de venta de

carne de pollo (Lucas *et al.*, 2016). Esto representa un riesgo importante, pues la mayoría de insumos necesarios para la elaboración del BARFs son adquiridos en este tipo de mercados. A su vez, Weese *et al.* (2005) reportó que los coliformes fueron hallados en todas las muestras de dieta cruda comercial analizadas, donde *Escherichia coli* fue identificada en 64%, similar al reporte del presente estudio. En años posteriores, se reportó un porcentaje aún más elevado de aislamiento de *E. coli* (86%) en dietas crudas congeladas comerciales (Van Bree *et al.*, 2018).

En la totalidad de muestras en 5 marcas evaluadas se aisló *E. coli* como contaminante, pese a que cada muestra provenía de diferente lote; esto posiblemente se debe, a que los insumos se encuentran ya contaminados desde el puesto de venta donde se adquirieron (los mercados de abasto antes mencionados), o que en uno o varios puntos de la cadena de producción haya un mal manejo o equipos contaminados, representando un riesgo permanente de contaminación.

El gran porcentaje de positivos (65.32%) a *E. coli* puede deberse a que las dietas BARFs son productos altamente manipulados, incrementando de esta manera el riesgo a la exposición de agentes patógenos. La carne molida, base de la mayoría de las dietas evaluadas, por su gran manipulación fueron aún más susceptible a la contaminación microbiana; además, al ser un producto procesado y triturado, generó la destrucción de las facias protectoras y esto aumentó las posibles superficies de contaminación (Mendez *et al.*, 2013), otros factores que potencialmente influyen es la cadena de frío necesaria para una adecuada conservación de las mismas.

Según el tipo de fuente animal, la carne de res fue el tipo de proteína en las dietas BARFs más analizada en este estudio, pese a que no fue reportado el serotipo deseado,

y el bovino estar considerado el principal reservorio para la *E. coli* O157:H7; se obtuvo un 73.33% de muestras positivas a *E. coli*, mayor a lo reportado en el estudio de Strohmeyer *et al.* (65.74%). Por otro lado, la carne de aves de corral, también ingredientes muy utilizados en las dietas crudas, se convierte en posible fuente de contaminación, debido a una potencial la contaminación cruzada durante su manipulación (Lucas *et al.*, 2016); corroborado por reportes altos de esta bacteria en el tipo de proteína de las aves de corral, 85.71% en carne de pavo, 38.1% en carne de pollo (Strohmeyer *et al.*, 2006).

No solo los productos de origen animal son una fuente de contaminación, un estudio realizado en Lima reportó que el 18,9% de verdura fresca presentaron niveles de *E. coli* fecales superior a lo establecido como apto por la ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods), siendo la espinaca la más contaminada (Muñoz *et al.*, 2013), la cual fue ingrediente de varios BARFs evaluados en el presente estudio.

Las muestras evaluadas a pesar de estar almacenadas a -18°C, no afectó el aislamiento de la *E. coli*; un estudio reportó que la *E. coli* O157:57 es capaz de sobrevivir en carne molida a una temperatura de 7°C por 11 días y a -18°C por 35 días (Uyttendaele *et al.*, 2001); concluyendo, que el congelamiento no sería una forma de afectar la contaminación con esta bacteria y esto representa el potencial riesgo de exposición a para aquellas personas que manipulan directamente dietas BARFs contaminadas (Weese *et al.*, 2005); siendo reportados estos casos positivos en humanos (Anturaniemi *et al.*, 2019), y posibilitando por el contacto con los animales una potencial zoonosis.



El presente estudio reportó un 38.18% de nivel de resistencia a 12 antimicrobianos evaluados, porcentaje mayor al reportado por Nilsson (2015), donde en 23% de las muestras de dietas crudas para perros se aisló *E. coli* resistente a cefalosporinas de espectro extendido, productoras de betalactamasas de espectro extendido en el 80% de dietas crudas evaluadas (Van Bree *et al.*, 2018), y los reportes de *E. coli* aisladas de carnes de pollo y cerdo en de mercados en Lima, con altos niveles de resistencia a múltiple antimicrobianos (MDR).

Ampicilina fue el antimicrobiano con el mayor nivel de resistencia (68.66%), porcentaje inferior a los reportados años anteriores con 94.6% en carne de pollo y en carne de cerdo con 95.4%, y superior al 44% en carne de res (Ruiz-Roldan *et al.*, 2018). Segundo en nivel de resistencia está el Cloranfenicol (67.16%), porcentaje inferior al encontrado en carne de pollo con 82.1% y superior en carne de res con 4% y en carne de cerdo con 54.5% (Ruiz-Roldan *et al.*, 2018); un estudio reportó que en el 52% de las heces analizadas se aisló *E. coli* productora de betalactamasa de espectro extendido de perros alimentados con dieta cruda, a diferencia del 4 % aislado en aquello con dietas secas (Runesvard *et al.*, 2020). Reportando una asociación entre la posible contaminación bacteriana de las dietas y la expulsión de estos agentes resistentes por medio de las heces. Estos resultados indican que este tipo de dietas puede ser una fuente potencial de agentes resistente a fármacos de primera elección (Nilsson, 2015).

A diferencia de los alimentos de consumo humano, no hay una autoridad específica que sea responsable del monitoreo microbiológico constante de los alimentos para perros a base de productos crudos como las dietas tipo BARFs (Strohmeier *et al.*, 2006). En el Perú, el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), es la entidad encargada de la inocuidad agroalimentaria, mas no posee reglamentación específica

para las dietas crudas para mascotas; exponiendo a estos animales a este tipo de prácticas.

La ausencia de positivos para la cepa O157:H7 en este estudio, pudo ser distinto con la utilización de otro tipo de serotipificación, utilizados en otros estudios, como separación inmunomagnética (Jure *et al.*, 2015), test de concentración por inmunocaptura (Marzocca *et al.*, 2006) o molecularmente mediante PCR (Mora *et al.*, 2006; Mendez *et al.*, 2013; Lucas *et al.*, 2016); los reportes antes mencionados respaldan la presencia de esta bacteria en diversos productos cárnico.

El aumento creciente de propietarios que deciden alimentar a sus perros con dietas BARFs justifica mayores investigaciones de este tipo de dietas. Análisis y reportes de aislamiento de patógenos de las dietas crudas junto con el seguimiento a aquellos perros que son alimentados con ellas (Strohmeyer *et al.*, 2006).

## CONCLUSIONES

En el 100% de las muestras evaluadas de alimentos tipo BARF no se logró aislar *E. coli* serotipo O157:H7.

En el 65.32% (81/124) con un IC<sub>95%</sub>: 56.9% – 73.7% de las muestras analizadas de alimento tipo BARF se aisló *E. coli*.

El 100 % de las cepas presentan resistencia a al menos a un antimicrobiano evaluado, siendo la resistencia a la ampicilina la frecuencia más alta con un 68.66% (46/67) y la frecuencia más baja correspondió a la azitromicina con un 1.49% (1/67).

## LITERATURA CITADA

1. Abong'ó BO, Momba MN. 2009. Prevalence and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from meat and meat products sold in Amothe district, Eastern Cape province of South Africa. *Food Microbiology* 26: 173-176. doi: doi:10.1016/j.fm.2008.10.001
2. Anturaniemi J, Barrouin-Melo SM, Zaldivr-López S, Sinkko H, Hielm-Bjorkman A. 2019. Owners' perception of acquiring infections through raw pet food: a comprehensive internet-based survey. *Vet Record*. doi:10.1136/vetrec-2018-105122
3. Bekele T, Zewde G, Tefera G, Feleke A, Zerom K. 2014. *Escherichia coli* O157:H7 in raw meat in Addis Ababa, Ethiopia: Prevalence at an abattoir and retailers and antimicrobial susceptibility. *International Journal of Food Contamination* 1:4. doi: 10.1186/s40550-014-0004-9
4. Craig JM. 2020. Raw feeding in dogs and cats. *Companion animal* 24 (11): 578-584. <https://doi.org/10.12968/coan.2018.0068>
5. Dadd S, Barry M, Grant C, Verbrugghe A. 2019. Abnormal bone mineralization in a puppy fed an imbalanced raw meat homemade diet diagnosed and monitored using dualenergy X-ray absorptiometry. *J Anim Physiol Anim Nutr* 00: 1-8. doi: 10.1111/jpn.13118
6. Dincoglu AH, Gunulalan Z. 2016. Determination of *Escherichia coli* O157:H7 in chicken meats sold in Sanliurfa región. *MJEN* 4: 25-68.
7. Freeman LM, Chandler ML, Hamper BA, Weeth LP. 2013. Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *JAVMA*, Vol 243, No. 11: 1549-1558.
8. Hinney B. 2018. The trend of raw meat-based diets: risks to people and animals. *Vet record* 182: 47-49. Doi: 10.1136/vr.k7
9. INS. 2001. Manual de procedimientos bacteriologicos en infecciones intrahospitalarias. Serie de norma técnica 28, 89p.
10. Jure MA, Condorí MS, Perez G, Catalan M, López A, Zolezzi G, et al. 2015. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157 en productos cárnicos bovinos y medias reses en la provincia de Tucumán. *Rev Argent Microbiol* 47 (2): 125-131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.006>
11. Kim J, An J, Kim W, Lee S, Cho S. 2017. Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathog* 9:68. doi 10.1186/s13099-017-0218-5
12. Kohler B, Stengel C, Neiger R. 2012. Dietary hyperthyroidism in dogs. *JSAP* 53: 182-184. doi: 10.1111/j.1748-5827.2012.01189.x
13. Llanos A, Lee J, Lopez F, Contreras C, Barletta F, Chea-Woo E, et al. 2012. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Peruvian Children with Bloody Diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 31(3): 314-316. doi:10.1097/INF.0b013e318244000c.
14. Lucas JR, Morales S, Salazar EP, Eslava C, Alvarado D. 2016. Contaminación por *Escherichia coli* Shigatoxigénica en Puestos de Expendio de Carne de Pollo en un

- Distrito de Lima. Rev Inv Vet Perú 27(3): 618-625.  
<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i3.12000>
15. Mainil J. 2013. *Escherichia coli* virulence factors. Veterinary Immunology and Immunopathology 152: 2 - 12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.09.032>
  16. Mendez CR, Vergaray G, Morante HY, Flores PR, Gamboa RA. 2013. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú. Rev. peru. biol. 20(2): 159-154.
  17. Mora A, Leon SL, Blanco M, Blanco JE, Lopez C, Dahbi G, et al. 2006. Phages types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 insolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). Intertational Journal of Food Microbiology 114: 204-210.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.009>
  18. Morelli G, Bastianello S, Castellani P, Ricci R. 2019. Raw meat-based diets for dogs: survey of owners' motivations, attitudes and practices. BMC Veterinary Research 15:74. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1824-x>
  19. Morato AM, Simoes M, Irino K, Tardelli TA, Cabilio BE. 2007. Prevalence and characteristics of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (stec) strains in ground beef in São Paulo, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 38: 553-556.
  20. Marzocca MA, Marucci PL, Sica MG, Álvarez EE. 2006. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. Revista Argentina de Microbiología 38: 38-40.
  21. Muñoz S, Vilca M, Ramos D, Lucas J. 2013. Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expendidas en cuatro mercados de Lima, Perú. Rev Inv Vet Perú 24(3): 300-306.
  22. Nilsson O. 2015. Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. Infection Ecology and Epidemiology 5: 28758.  
<http://dx.doi.org/10.3402/iee.v5.28758>
  23. Nuesch-Inderbinen M, Treier A, Zurfluh K, Stephan R. 2019. Raw meat-based diets for companion animals: a potential source of transmission of pathogenic and antimicrobial-resistant Enterobacteriaceae. R. Soc. open sci. 6: 191170.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rsos.191179>
  24. Ripodas A, Fernández D, Macho M. 2017. Investigación de *Escherichia Coli* productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. Sanidad mil. 73 (3): 147-152. doi: 10.4321/S1887-85712017000300002
  25. Rodríguez-Angeles G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex 44(5): 464-475.
  26. Ruiz-Roldán L, Martínez-Puchol S, Gomes C, Palma N, Riveros M, Ocampo K, et al. 2018. Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Rev Peru Med Exp Salud Pública 35(3): 425-32.
  27. Runesvard E, Mikstrom C, Fernstrom L, Hansson I. 2020. Presence of pathogenic bacteria in faeces from dogs fed raw meat- based diets or dry kibble. Vet Record. doi:10.1136/ vetrec-2019-105644

28. Saeedi P, Yazdanparast M, Behzadi E, Hatef A, Latif S, Nazarian S. 2017. A review on strategies for decreasing *E. coli* O157:H7 risk in animals. *Microbial Pathogenesis* 103: 186-195. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.01.001>
29. Sandri M, Dal Monego S, Conte G, Sgorlon S, Stefanon B. 2017. Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Veterinary Research* 13:65. doi: 10.1186/s12917-017-0981-z
30. Schlesinger DP, Joffe D. 2011. Raw food diets in companion animals: A critical review. *Can Vet J* 52: 50-54.
31. Stockman J, Fascetti AJ, Kass PH, Larsen JA. 2013. Evaluation of recipes of home-prepared maintenance diets for dogs. *JAVMA* 242(11): 1500-1505.
32. Strohmeyer RA, Morley PS, Hyatt DR, Dargatz DA, Scorza V, Lappin MR. 2006. Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *JAVMA* 228(4): 537-542.
33. Taylor MB, Geiger DA, Saker KE, Larson MM. 2009. Diffuse osteopenia and myelopathy in a puppy fed a diet composed of an organic premix and raw ground beef. *JAVMA* 234(8): 1041-1048.
34. Uyttendaele M, Vankeirsbilck S, Debevere J. 2001. Recovery of heat-stressed *E. coli* O157:H7 from ground beef and survival of *E. coli* O157:H7 in refrigerated and frozen ground beef and in fermented sausage kept at 7°C and 22°C. *Food Microbiology* 18: 511-519. doi:10.1006/fmic.2001.0445
35. Van Bree FP, Bokken GC, Mineur R, Franssen F, Opsteegh M, van der Giessen J, et al. 2018. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *Vet Record*. doi: 10.1136/vr.104535
36. Weese JS, Rousseau J, Arroyo L. 2005. Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *Can Vet J* 46: 513-516.
37. Zotta CM, Lavayén S, Hollman P, Lanfranconi V. 2015. Animales Domésticos Como Reservorio De *Escherichia coli* Productor De Toxina Shiga En Mar del Plata. *J. Selva Andina Res. Soc.* 6(1): 2-9.