



***Influencia de la dieta en la disrupción de la microbiota intestinal
canina: Revisión de la literatura***

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado

Bogotá D.C. Septiembre 2022-2



***Influencia de la dieta en la disrupción de la microbiota intestinal
canina: Revisión de la literatura***

Estudiantes

Gineth Vanessa Ariza Amado

María Angélica Zapata Narváez

Asesor interno

Walter Andrés Rincón Riveros PhD(c)

Asesor externo

Sergio Andrés Castañeda Garzón. Bsc. Esp. Msc. PhD(c).

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado Bogotá D.C. Septiembre 2022-2



***Influencia de la dieta en la disrupción de la microbiota intestinal
canina: Revisión de la literatura***

Aprobada: _____

Jurados: _____

Asesores: _____

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado Bogotá D.C. Septiembre 2022-2

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primero a Dios por permitirnos llegar hasta este punto y poner en nuestro camino personas que en el trayecto académico nos han aportado para ser integrales y competentes en la sociedad. Nos queda gratitud a los profesores que marcaron cada etapa de nuestro camino académico y profesional, especialmente a los asesores del trabajo de grado, al Doctor Walter Andrés Rincón quién en cuarto semestre nos motivó en la asignatura de Microbiología clínica a investigar sobre los productos BARF. Así mismo, a nuestro asesor externo, Sergio Andrés Castañeda Garzón por su paciencia, dedicación, comprensión brindada, conocimiento y recursos compartidos.

A la profesora Vilma Martínez Granados por el acompañamiento en las prácticas formativas, de igual forma, a la Decana Sandra Mónica Estupiñan Torres por su generosidad y compasión que siempre Gineth Ariza la va a recordar. Gracias a los amigos que siempre tuvieron la disposición para colaborar en diferentes situaciones académicas y por sus palabras de aliento. Finalmente, gracias a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por hacer parte de nuestra formación profesional.

DEDICATORIA

Le dedicamos este trabajo y los demás logros de nuestras vidas a nuestros padres y familiares más queridos; María del Rosario Narvaez, Alejandro Osorio, Didacio Ariza, Ana Briceida Amado y Sandy Lorena Ariza por brindarnos su confianza, por ser el pilar fundamental, que supieron guiar e inculcar buenos valores para ser cada día mejor con su apoyo incondicional, mucha paciencia y amor.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
OBJETIVOS.....	13
1. MARCO REFERENCIAL	14
1.1 El perro y el hombre.....	14
1.2 Alimentación canina	15
1.3 Dietas comerciales tipo croquetas	16
1.4 Dietas BARF y RMBD	17
1.5 Microbiota intestinal.....	19
1.6 Secuenciación del gen ARNr 16S	20
2. DISEÑO METODOLÓGICO	23
2.1. Tipo de investigación.....	23
2.2. Universo, población, muestra	23
2.3. Hipótesis.....	23
2.4 Variables.....	24
3. RESULTADOS	24
3.1 Tipo de documentos revisados.....	24
3.2 Año de publicación.....	25
3.3 Caracterización de la microbiota intestinal en perros sanos.....	25
3.4 Relación de la microbiota intestinal con la dieta suministrada.....	27
3.4.1 Dietas comerciales y combinaciones con distintos alimentos.....	28
3.4.2 Dietas RMBD o BARF y sus combinaciones	29
3.5 Rol indispensable de la microbiota intestinal.....	33

3.6 Enfermedades asociadas a disbiosis intestinal.....	35
3.6.1 Diabetes Mellitus en perros.....	38
3.6.2 Enfermedad intestinal inflamatoria.....	40
3.6.3 Diarrea aguda.....	41
3.6.4 Obesidad en perros.....	41
3.6.5 Dermatitis atópica-DA en perros.....	42
4. DISCUSIÓN	44
5. CONCLUSIONES	48
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Estudios relacionados con la dieta de la microbiota intestinal canina y sus metabolitos. **31**

Tabla 2. Resistencia a antimicrobianos probados en las cepas de *E. coli* aisladas de perros alimentados con dietas basadas en carne cruda-RMBD y alimentos comerciales tipo croquetas. **37**

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de documentos revisados.....	24
Figura 2 . Selección de la bibliografía de acuerdo al año de publicación.....	25
Figura 3. Proporción de los taxa predominantes en las heces de caninos alimentados con cinco dietas diferentes: con croquetas, bajas en fibra, con guisantes, ricas en remolacha y con hígado de pollo hidrolizado.....	26
Figura 4. Géneros bacterianos más comunes en caninos de acuerdo a la localización intestinal.....	27
Figura 5. Porcentaje de resistencia de cada antimicrobiano probado en las cepas de <i>E. coli</i> aisladas de perros alimentados con dietas basadas en carne cruda-RMBD y alimentos comerciales tipo croquetas.....	38



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de ciencias de la salud programa Bacteriología y Laboratorio clínico

***Influencia de la dieta en la disrupción de la microbiota intestinal canina: Revisión
de la literatura***

RESUMEN

La microbiota intestinal se refiere a un complejo sistema de múltiples microorganismos que favorecen estructural, inmune, nutritiva y metabólicamente la salud y pueden alterarse por factores como: la dieta, infecciones y uso de antibióticos. Además, la microbiota puede ayudar al establecimiento, la estructura y la actividad funcional en el tracto gastrointestinal- TGI.

Actualmente, las croquetas hechas de harinas y distintos carbohidratos se conocen como el tipo de dieta principal en la alimentación del perro, pese a ello surgen las dietas con alimentos netamente crudos a base de cárnicos, vegetales y otras formulaciones para volver al instinto primitivo del lobo. Esta revisión bibliográfica permitió conocer mediante secuenciación del gen ARNr 16S que los taxa bacterianos predominantes en heces de caninos son *Bacillota*, *Actinomycetota*, *Pseudomonadota*, *Bacteroidota* y *Fusobacteria*

independientemente de la dieta suministrada. También asociados a estados de disbiosis, presentación de infecciones y predisposición a enfermedades como la Diabetes Mellitus, enfermedad intestinal inflamatoria- EII y diarrea aguda no complicada.

PALABRAS CLAVES: Microbiota intestinal, secuenciación, disbiosis, dietas, alimentos tipo croquetas, BARF y RMDB

INTRODUCCIÓN

Hace miles de años los perros han desempeñado un rol trascendente en la sociedad humana. La relación entre mascotas y dueños es cada vez más estrecha, convirtiéndose en los principales animales de compañía para los humanos¹. Además, con la llegada de la urbanización en la era moderna no solo han cambiado los hábitos humanos, sino que han alterado por completo el estilo de vida de las mascotas¹.

Industrias comercializadoras de alimentos para mascotas ofrecen una amplia gama de productos que suplen las necesidades nutricionales y que atienden diferentes momentos y estilos de vida, prometiendo ayudar a mejorar condiciones asociadas a enfermedades y discapacidades crónicas².

La alimentación canina por muchos años se ha basado principalmente en croquetas, compuestas por la harina de diferentes proteínas como la carne de res, la carne de pollo o el pescado. Luego del descubrimiento del método térmico con el uso de caldo de carne, grasa, y residuos de granos inyectados en la creación de croquetas, hizo que la economía del alimento seco se convirtiera en la elección más popular entre los consumidores de alimento para animales de compañía².

La dieta Biologically Appropriate Raw Food -BARF entra al mercado como una propuesta para volver a la alimentación primitiva imitando el comportamiento alimentario del lobo. Esta dieta se compone de huesos y alimentos crudos; contienen una gran cantidad de componentes animales como carne, vísceras, despojos y huesos carnosos crudos, combinados con vegetales como verduras y frutas, así como diferentes tipos de aceites y suplementos^{3,4}. Esta dieta guarda similitud con la oferta de las dietas a base de carne cruda- RMBD.

Tanto los alimentos crudos como las croquetas comerciales aseguran mejorar la calidad de vida de los perros. Al consumir una cantidad considerable de carbohidratos en la dieta, como los materiales fibrosos, comúnmente presentes en las croquetas para mascotas o incluso un aporte continuo de proteínas hace que la fisiología gastrointestinal, los procesos metabólicos y la etiología de la enfermedad intestinal cambien para la salud y la enfermedad intestinal⁵. También es cierto que los perros no dependen en gran medida de la fermentación microbiana en lo que respecta a los requisitos de energía, pero la microbiota equilibrada y estable es fundamental para mantener la salud gastrointestinal⁵.

En caninos como en otros animales monogástricos, la diversidad microbiana es mayor en el intestino grueso en comparación con otras regiones del cuerpo. El tracto gastrointestinal-TGI alberga los tres dominios principales de la vida: Archaea, Bacteria y Eukarya, siendo las bacterias el grupo de microorganismos más abundante y metabólicamente activos⁶. La microbiota intestinal tiene funciones vitales como la protección frente a patógenos, estimulación del sistema inmune, regulación del metabolismo, balance energético, entre otros⁷. Sin embargo, puede verse alterada por factores extrínsecos como lo son: el estrés, los fármacos, el estilo de vida y la dieta⁷.

La alteración de este ecosistema puede desencadenar procesos patológicos como obesidad, un estado que predispone al canino a sufrir alteración en los niveles de glucosa en sangre favoreciendo la aparición de Diabetes Mellitus-DM^{8,9,10,11}. Así mismo, se ha relacionado a la dieta con otras afecciones como enfermedad intestinal inflamatoria-EII y diarrea aguda^{12,13,14,15,16,17,18}.

La literatura sobre estudios experimentales y clínicos en humanos orientados a describir los efectos en la microbiota en respuestas fisiológicas, es abundante; sin embargo, en caninos son pocos los modelos experimentales realizados, así mismo, los estudios que

analizan la interacción entre comunidades de procariontes y eucariontes son escasos¹⁹. En caninos, no existe una clasificación de una microbiota denominada “normal o patológica”, ni mucho menos se ha esclarecido qué taxa predominan en el TGI de acuerdo a la dieta suministrada. De igual forma, no se conoce si el estado fisiológico del perro, es decir, la edad, el peso, sexo, consumo de antibióticos, influye en las comunidades que conforman esta microbiota o si incluso la incorporación de nuevos alimentos en la dieta pueden aumentar o disminuir su riqueza y diversidad²⁰.

Cabe aclarar, que la mayoría de estudios datan sobre los cambios en la microbiota fecal humana inducidos por la dieta y estos se han extrapolado a perros, a pesar de tener requerimientos dietéticos muy diferentes²¹. Por esta razón, esta revisión bibliográfica pretende describir estudios moleculares como lo es la secuenciación de nueva generación, cuáles son los taxa bacterianos que alberga la microbiota intestinal canina de acuerdo a la dieta suministrada y cómo se relaciona con un proceso de salud y enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Comparar estudios relacionados con la secuenciación de la microbiota intestinal en caninos alimentados con diferentes formulaciones dietarias y su relación con enfermedades subyacentes.

Objetivos específicos

- Describir la microbiota intestinal en caninos a través de técnicas de secuenciación del gen ARNr 16S.
- Identificar los principales taxa y géneros bacterianos presentes en la microbiota intestinal de caninos que consumen alimentos comerciales tipo croquetas, alimentos crudos tipo BARF o RMBD y sus distintas combinaciones.
- Determinar la influencia de la microbiota en el estado de salud del canino en base al tipo de dieta suministrada.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 El perro y el hombre

Los perros han sido un pilar fundamental en la vida del hombre no solo como animal de compañía, sino que además son una pareja de trabajo, ya que desarrollan actividades de guardia, caza, competencia, guía e incluso terapia. Son animales sociables con una jerarquía de dominancia bien establecida y un promedio de vida de 15 años aproximadamente¹³. Los cánidos pertenecen a la familia Canidae, donde se encuentran los perros en la subespecie *Canis lupus familiaris*, la cual guarda cierta homología genética con los lobos grises clasificados dentro del mismo género taxonómico, pero dentro de la subespecie *Canis lupus*²².

La relación entre el hombre y el perro ha sido cada vez más eficiente; desde su domesticación se pueden ver perros ejerciendo algún tipo de función facilitando el trabajo del ser humano y transformándose en un cooperador además de ser un acompañante. Según la definición de perros de trabajo del sitio web Hundsport²³, “son los que apoyan a los humanos en labores específicas” en este ámbito se categoriza a los caninos en: asistencia, protección o defensa, rescate y competencia. Los primeros ayudan a personas con habilidades diferentes como terapia o compañía, aquí se incluyen los lazarillos. Los segundos corresponden a los entrenados para detectar a través de su olfato materiales como drogas, dinero, explosivos o restos humanos. Los terceros son perros que ayudan a policías y paramédicos a rescatar personas, ya sea en grandes campos abiertos o en estructuras colapsadas²³.

La mantención de este tipo de animales de compañía se ve reflejada en Colombia siendo el cuarto país Latinoamericano con mayor consumo de productos para mascotas, seguido de Brasil, México y Chile²⁴; existen datos que muestran la importancia que están

alcanzando las mascotas en el gasto mensual familiar, como es el caso de Rojas²⁵ que mediante agencias especializadas en estudios de mercados, afirman que para el año 2018 el gasto mensual promedio en Colombia de alimentos para mascotas fue de \$170.000 y el consumo se ubica en 34 kilos. Además, pronosticaron un crecimiento para los años 2018-2023 de 79,5% en alimentos²⁵.

1.2 Alimentación canina

El concepto de alimentación canina acogido en la actualidad, es el tomado del boletín oficial del estado²⁷ titulado Real Decreto relativo a los alimentos para animales destinados a objetivos de nutrición específicos expedido a finales de 1995 por la Ministerio de Presidencia, allí se establece que “los alimentos para animales son productos de origen vegetal o animal en estado natural, frescos o conservados y los derivados de su transformación industrial, así como las sustancias orgánicas o inorgánicas, simples o en mezclas, contengan o no aditivos, destinados a la alimentación animal por vía oral”. Así mismo, determinan los lineamientos, requisitos de etiquetado, comercialización, uso y controles oficiales que permiten la regulación de alimentos de consumo animal²⁶.

De igual forma, la Norma Técnica Colombiana -NTC 3686 del 2014²⁸ establece los requisitos que debe cumplir un alimento canino, los ensayos a los cuales se debe someter, las prácticas permitidas y no permitidas en el producto final, además de los límites microbiológicos de aceptación y/o rechazo de los mismos.

Como análogo está la resolución 61252 del 3 de febrero del 2020 del instituto Colombiano Agropecuario -ICA²⁹ por medio de la cual se establecen los requisitos y el procedimiento para el registro de los fabricantes e importadores de alimentos para animales, así como el rotulado prohibiciones, entre otras disposiciones acerca de las Buenas Prácticas

de Manufactura -BPM. Las BPM en productos para alimentación canina establece los principios básicos y prácticas generales sanitarias en la manipulación, procesamiento, envasado, almacenamiento y transporte de alimentos para animales con el objeto de garantizar que estos se fabriquen en condiciones sanitarias que disminuyan los riesgos biológicos inherentes a la fabricación²⁹.

1.3 Dietas comerciales tipo croquetas

Para ilustrar los alimentos comerciales, se remite a la historia de los piensos comerciales resumida por Gutierrez³⁰ en el año 2016, donde resalta la aparición de los alimentos tipos croquetas a mediados del año 1860 por James Spratt en Ohio, creador de la primera comida de perros procesada, la cual consistía en una galleta elaborada a base de trigo, remolacha y sangre de res. El producto recibió el nombre de Sparrt, a partir de este alimento, otras compañías reinventaron los alimentos horneados para perros.^{2,30}

Posteriormente, se desarrollaron centros de investigación para la nutrición en mascotas y se introdujo la harina de carne como materia prima, sin embargo, al pasar de los años se demostró que esta fuente de alimento era una factor para el desarrollo de enfermedades metabólicas tales como la obesidad. En consecuencia entre 1970 y 1980 surgen dietas especializadas, las cuales son formuladas para tratar enfermedades o desórdenes específicos en caninos.^{2,30}

A finales de los 90's se acuñó el concepto de alimento nutracéutico por Perez³⁰ uniendo los términos nutrición y farmacéutico, por lo que se refiere a "Cualquier sustancia que pueda ser considerada como alimento o como parte de éste y que proporcione beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades".

A pesar de la cantidad de croquetas en el mercado, todas se realizan bajo el mismo proceso de extrusión que consiste en cocinar los ingredientes a temperaturas extremadamente

elevadas, lo que da lugar a una pérdida de componentes termolábiles, como las vitaminas A, C y B1, así como de algunas enzimas y aminoácidos como lisina, metionina y cisteína. Adicionalmente, para asegurar una larga durabilidad, las croquetas requieren el uso de un alto contenido de lípidos, conllevando a una oxidación relacionada con alteraciones sensoriales y una disminución del valor nutricional que incluso provoca la formación de compuestos con potencial mutagénico y genotóxico³¹. Otro factor relevante en la producción de este tipo de alimento es el bajo contenido de humedad que reduce el riesgo de contaminación microbiana³¹.

En cuanto al almacenamiento de este tipo de productos, las croquetas han sido el alimento para mascotas más común adoptado por los dueños con un almacenamiento más apropiado es dentro de envases plásticos y no dentro de materiales metálicos que pudiesen acelerar el proceso oxidativo en los sustratos de los alimentos con los que entran en contacto. Lo anterior, les permitió concluir que el almacenamiento es un factor determinante tanto en productos comerciales como en una comida casera³¹.

1.4 Dietas BARF y RMBD

El acrónimo ACBA traduce Alimentos Crudos Biológicamente Apropriados también conocidos como BARF del inglés Biologically Appropriate Raw Food. Esta dieta fué lanzada como base de una dieta cruda en 1993 por el veterinario Billinghurst, I. en el libro "Give your dog a bone", en donde se asegura que la fórmula evolutiva para un perro, es una dieta a base de proteína de origen animal de buena calidad ya que estos animales no están programados para nutrirse de alimentos artificiales³².

Según Sillero et al.³³, la dieta BARF se basa en carne de los músculos, huesos, grasa, vísceras y materiales vegetales, típicamente se compone de un 60-80% de huesos carnosos crudos, es decir los huesos con carne y músculos de res con más del 50% de carne (por ejemplo, cuello, espalda o alas de pollo) y el 20-40% de fruta y vegetales crudos, huevos, vísceras y cualquier otro alimento similar. Cabe aclarar, que surge una variación de la dieta BARF y es alimentar a los animales de compañía con dietas basadas en carne cruda- RMBD, por sus siglas en inglés, siendo los cárnicos el único ingrediente en la dieta, compartiendo casi el mismo principio de la alimentación tipo BARF³⁴.

Para el 2018 Loaiza et al²⁰ en el trabajo de grado titulado Diseño de dietas BARF para perros en tres etapas fisiológicas, formula una dieta BARF a base vísceras, tejido muscular, junto con otros materiales vegetales para cachorros, adultos y seniles. Como muestra de estudio se usaron perros de razas grandes y dentro de los resultados se destacan: buenos aportes energéticos, lipídicos, vitaminas liposolubles, proteínas con los 10 aminoácidos esenciales y un adecuado requerimiento de calcio y fósforo diario para cada edad. Esta información permitió concluir que para formular una dieta RMBD o BARF es necesario conocer aspectos como el estado fisiológico, la talla, la edad y la actividad física de cada canino, para así poder establecer la cantidad de nutrientes que requiere el canino para su vida diaria²⁰.

La revisión de Sillero et al.³³ reitera que este tipo de alimentación cruda puede presentar diferentes riesgos en los animales, pues la incorporación de carne fresca tiene un gran potencial para desequilibrar la dieta de la mascota. Los principales riesgos de este tipo de dieta dependen de dos factores: la formulación realizada y la inocuidad de sus materias primas. El primero tiene que ver con las diferentes formulaciones alimentarias según el

estado fisiológico, la raza, el peso, estilo de vida, nivel de actividad o problemas de salud particulares de los caninos; el segundo, está relacionado con el mal manejo de las materias primas como lo es la pérdida de la cadena de frío o la contaminación cruzada con otros alimentos.

Lo anterior ha conllevado a un manejo inadecuado antes, durante y después de la preparación de las dietas crudas, deteriorando la calidad del producto y aumentando el recuento de microorganismos de importancia sanitaria, por tal razón es de cuidado preservar el perfil sensorial, valor nutricional y seguridad microbiológica hasta la administración al perro.

Apoyado a esto, en el año 2019 Davies et al.³⁵ indica las advertencias que debe tener los empaques de los alimentos en cuanto al manejo higiénico, ya que suelen estar ausentes e incluso presentar defectos y fugas, convirtiéndolos en una vía de ingreso de microorganismos patógenos con capacidad de replicación. En los mismos términos, Ríos et al.³⁶ relaciona este tipo de alimentos como vehículos de transmisión de enfermedades.

Es más, News Desk³⁷, para el año 2019 advierte que las RMBD disponibles comercialmente pueden contener perfiles de resistencia a los antimicrobianos y cefalosporinas de tercera generación debido a la producción de β -lactamasas de espectro extendido- BLEE.

1.5 Microbiota intestinal

Alarcón et al.⁷ en el libro Procedimientos en Microbiología Clínica asegura que el microbioma ha evolucionado conjuntamente con los humanos y los animales, ayudando en procesos de digestión, desintoxicación, inmunidad, protección contra patógenos invasores y manteniendo la salud en general; constituye el componente genético más grande del

superorganismo humano y animal. Se refiere a todo el hábitat, incluyendo microorganismos, genes, metabolitos y condiciones ambientales. Según las diferentes localizaciones del cuerpo se encuentran nichos microbianos complejos, que interactúan como comensales, mutualistas o patógenos⁷.

También, Soriano et al.³⁸ expone que la microbiota intestinal es un conjunto de microorganismos que conviven a través de una relación simbiótica y comensal en el intestino de los mamíferos. Humanos, perros y gatos poseen una gran diversidad de microbiota, con comunidades bacterianas, protozoarios, virus y hongos^{38,42} muy similares entre ellas pero no iguales, sin embargo, todas convergen en un único fin, brindar buena salud al individuo.

Añadido a esto, Ziese et al.¹² señala que entre las funciones del microbioma están: modular el sistema inmune, proteger contra patógenos, actuar como una barrera física innata, aportar al metabolismo intestinal y proporcionar metabolitos beneficiosos a través de vías microbianas importantes. En otras palabras, Pereira et al.¹⁴ afirma que la microbiota es un componente esencial de la inmunidad intestinal, contribuyendo a su correcto funcionamiento o debilitándose cuando existe algún desequilibrio o disbiosis. El índice de disbiosis está relacionado con ciertas patologías digestivas como las enteropatías crónicas, acompañadas de inflamación y destrucción de la capa mucosa.

1.6 Secuenciación del gen ARNr 16S

Diversos autores dividen la vida celular en eucariotas y procariotas. Los eucariotas son propiamente organismos que tienen su información genética empaquetada en núcleos bien definidos. En contraparte, los procariotas son menos evolucionados con el material genético esparcido en su interior. Ambas formas usan un orgánulo denominado ribosoma, el

cual consta de 2 subunidades clave en la síntesis proteica. En los organismos eucariotas el ribosoma se divide en las subunidades 60S y 40S, mientras que en los procariotas se divide en 50S y 30S, abarcando el gen ARNr 16S³⁹.

Históricamente, la identificación de bacterias se basaba únicamente en métodos de cultivo, definidos por Hilton et al.⁴⁰ como el estándar de oro de las técnicas de diagnóstico para especies bacterianas de amplio uso en laboratorios clínicos de rutina. Pese a ello, la identificación bacteriana no era exitosa por ciertas limitantes en la composición de los medios; por ello se crearon nuevas técnicas de fácil y eficaz ejecución para la identificación microbiana. Una de ellas es la secuenciación del gen ARNr 16S, un polirribonucleótido de aproximadamente 1500 nucleótidos codificado por el gen *rrs*⁴⁰. Este gen posee regiones hipervariables conservadas exclusivas de cada especie bacteriana, lo que permite su clasificación taxonómica y el desarrollo de cebadores universales que se unen a estas secuencias compartidas entre la mayoría de las bacterias⁴⁰.

La secuenciación de nueva generación -NGS se refiere a maneras nuevas y más rápidas de secuenciar el ADN y el ARN que están revolucionando de manera eficaz la genómica y la biología molecular. Es un método que logra secuenciar múltiples fragmentos de ADN en tiempo real y en paralelo, se utiliza con el fin de descifrar el genoma de un determinado organismo. Su fundamento se basa en una reacción en cadena de la polimerasa-PCR que incluye la amplificación del gen a partir de la muestra, la determinación de la secuencia de nucleótidos del amplicón y el análisis de la secuencia³⁹.

El diseño metodológico general para realizar este tipo de secuenciación se puede resumir en cinco pasos como lo son: la segmentación del ADN en varios fragmentos, el

marcaje del ADN por medio de cebadores o adaptadores que indican el punto de partida para la replicación, la amplificación de los fragmentos de ADN marcados con adaptadores por métodos basados en reacción en cadena de la polimerasa, la secuenciación de los fragmentos de ADN y por último y no menos importante, la reconstrucción de la secuencia. Sin embargo, el análisis de sus resultados es complejo y requiere un proceso bioinformático y clínico exhaustivo para su adecuada interpretación³⁹.

Antes era un caos nombrar a distintas especies, desde que Carl von Linné implementó la base de la nomenclatura binaria sistemática que llevó a formar la clasificación de las especies vegetales y animales en un cierto orden⁴¹. Con el sistema binario cada ser vivo se describe con su género y especie. Siendo este último un conjunto de individuos, morfológicamente semejantes y genéticamente aislado de otros grupos; aislamiento que se da por el desarrollo de facultades y rasgos distintos que son característicos de dicha especie⁴¹. Con el tiempo, se observó que el género y la especie no eran suficientes ante la gran variedad de seres vivos, por lo que se propuso un tercer nombre denominado subespecie.

En este sentido, la taxonomía es la ciencia que trata los principios de clasificación en categorías tales como: especies, géneros, familias, órdenes, clases y taxa. La introducción de nuevas técnicas de Biología Molecular ha implicado el reagrupamiento taxonómico de ciertos microorganismos ya conocidos. Estas modificaciones se asocian a la homología que presente el ADN del microorganismo con el ADN del mismo⁴¹.

2. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Tipo de investigación

Descriptivo no experimental de corte transversal. Se realizó una revisión exhaustiva de la literatura utilizando bases de datos como Proquest, Scopus, Ebook Central, PubMed, ScienceDirect, NCBI, Scielo y Elsevier. Así mismo, se filtró una búsqueda avanzada con palabras claves como “Microbiota” “diseases” “sequenciation” “dogs” “taxonomic” “BARF” “diets” “RMBD”. De allí, se tomaron artículos de revisión e investigación de revistas médicas como Plos One, Veterinary Pathology, Frontiers in microbiology, Environmental microbiology, Veterinary Record y Seimc, con el fin de conocer los resultados de las secuenciaciones del gen ARNr 16S de la microbiota del TGI canino. Cabe destacar, que hubo discriminación de documentos de acuerdo a las fechas de publicación, abarcando un periodo de 7 años previos al año actual.

2.2 Universo, población y muestra

Literatura científica publicada en artículos de investigación, artículos de revisión y tesis doctorales, de los cuales se revisaron 60 documentos en inglés y español comprendidos entre los años 2016 al 2022 relacionados con la secuenciación de la microbiota bacteriana que albergan el TGI canino de acuerdo al tipo de dieta suministrada.

2.3 Hipótesis

Existe una diferencia entre la microbiota bacteriana intestinal de los perros alimentados con distintas dietas que incorporan alimentos crudos como RMBD, BARF y otras combinaciones de productos comerciales como las croquetas.

2.4 Variables

Criterios de inclusión: Publicaciones comprendidas entre los años 2016 al 2022 en revistas indexadas con información descriptiva sobre la microbiota intestinal a través del uso de técnicas de secuenciación relacionados con las formulaciones dietarias o enfermedades en caninos.

Criterios de exclusión: Publicaciones anteriores al año 2016, documentos en idiomas diferentes a español e inglés, diseños experimentales en humanos o roedores y uso de técnicas moleculares diferentes a la secuenciación.

3. RESULTADOS

3.1 Tipo de documentos revisados

Se analizaron 58 documentos que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos en la presente investigación, de los cuales 38 correspondían a artículos de investigación, 6 a trabajos de grado y 14 artículos de revisión relacionados en la Figura 1.



Figura 1. Tipos de documentos revisados.

3.2 Años de publicación

En la Figura 2 se muestran seleccionados 58 documentos empleados para la revisión bibliográfica, que oscilan desde el año 2016 hasta 2022, obteniendo mayor información publicada correspondiente al año 2021, contrario de los años 2016 y 2017.

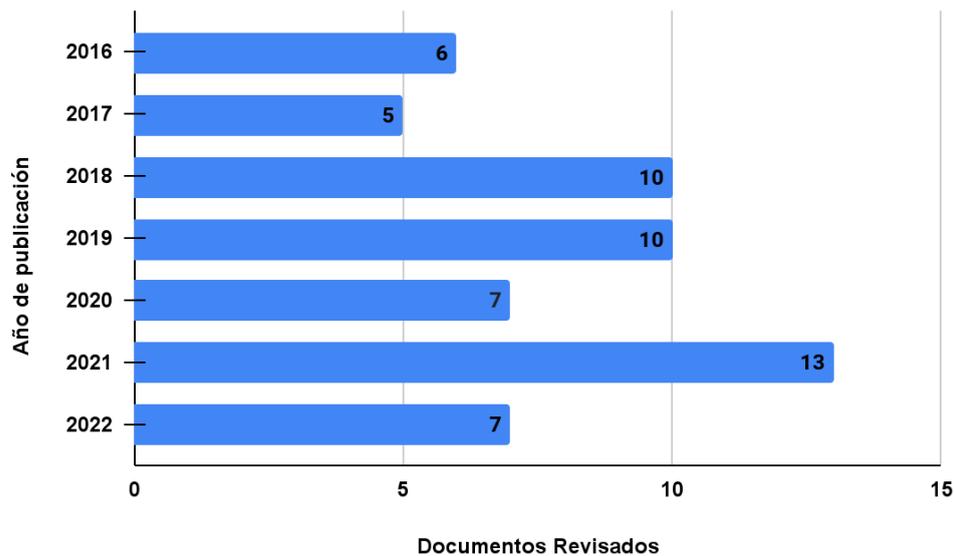


Figura 2. Selección de la bibliografía de acuerdo al año de publicación.

3.3 Caracterización de la microbiota intestinal en perros sanos

Como ya se explicó, la microbiota intestinal de los perros generalmente está compuesta de arqueas, bacterias, protozoarios, virus y hongos⁴². Las bacterias conforman el grupo más grande presente. García y Herstad describen por medio de técnicas de secuenciación del gen ARNr 16S una mayor abundancia de cinco taxa como *Bacillota*, *Actinomycetota*, *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Fusobacteria* en caninos alimentados con croquetas. Asimismo, Swanson et al.⁵, Sandri et al.⁴³, Hooda et al.⁴⁴ y Fredrich et al.⁴⁵, obtuvieron los mismos nichos bacterianos pero en diferente proporción, usando dietas bajas en fibra, con guisantes, ricas en remolacha e hígados de pollo hidrolizado. Figura 3.

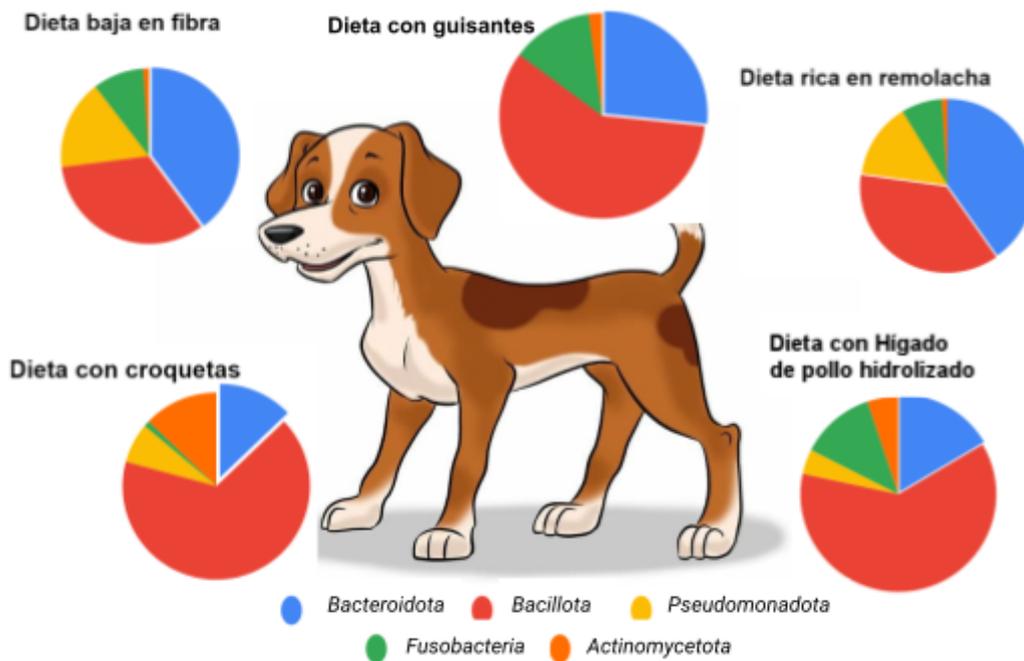


Figura 3. Proporción de los taxa predominantes en las heces de caninos alimentados con cinco dietas diferentes: con croquetas, bajas en fibra, con guisantes, ricas en remolacha y con hígado de pollo hidrolizado.

Rodrigues²¹ también describe que los taxa *Bacillota* y *Bacteroidota* son los principales en el intestino de perros y gatos. Afirmación que concuerda con la figura 1, donde se muestra a estos dos taxa como los mayores exponentes.

Las comunidades microbianas a lo largo del tracto varían para reflejar el microambiente y las funciones fisiológicas de cada segmento intestinal⁴⁶. Los géneros bacterianos que habitan en los caninos difieren de acuerdo a su localización intestinal, encontrándose un mayor predominio de *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus spp.* en el duodeno y el yeyuno⁴⁶. Mientras que, bacterias aerobias y anaerobias facultativas como *Streptococcus*, *Staphylococcus*,

Pasteurella, *Escherichia* y *Enterobacter* son más comunes encontrarlas en el íleon perruno⁴⁶. Por otro lado, en el intestino grueso sobresalen los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptococcus* y *Lactobacillus*¹⁴. Lo anterior se representa mejor en la Figura 4.

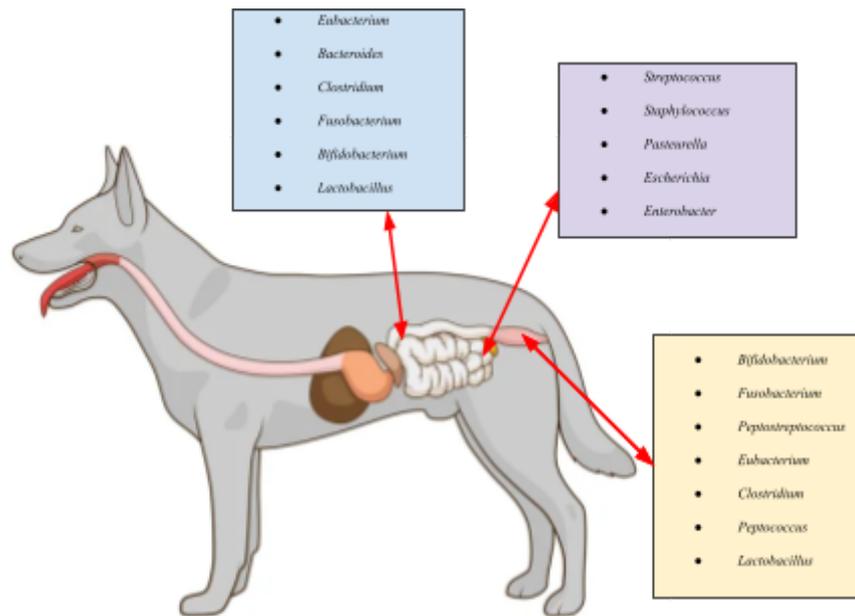


Figura 4. Géneros bacterianos más comunes en caninos de acuerdo a la localización intestinal.

A pesar de las variaciones de los taxones a lo largo del TGI, las muestras de regiones específicas del tracto son difíciles de obtener y, por lo tanto, la mayoría de los estudios clínicos se enfocan en la microbiota fecal. Las muestras fecales caninas presentan de manera confiable la mayoría de los taxones relevantes⁴⁶.

3.4 Relación de la microbiota intestinal con la dieta suministrada

La digestibilidad de un alimento determina la medida en que el huésped digiere y absorbe los diferentes nutrientes³². Los nutrientes de difícil absorción en el sistema digestivo

del perro llegan al colon estando disponibles para el metabolismo microbiano⁴⁷. Las proporciones de macronutrientes son factores clave en la modulación de la microbiota intestinal canina, con base en ello se describen los siguientes modelos dietéticos:

3.4.1 Dietas comerciales y combinaciones con distintos alimentos

Se ha descrito que los perros alimentados convencionalmente con croquetas tienen una mayor abundancia de familias como *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae*³. De igual forma, otro estudio concuerda que las dietas comerciales ofrecen un aumento de la familia *Erysipelotrichaceae* en perros alimentados con solo croquetas a lo largo de su vida, impulsado por una mayor abundancia de géneros como *Allobaculum*, *Catenibacterium*, *Turibacter*⁴⁸.

A nivel de género, se ha determinado que en caninos alimentados con piensos comerciales hubo un predominio de cuatro géneros bacterianos como *Phascolarctobacterium*, *Blautia*, *Ruminococcus* y *Coprococcus*, los cuales son bien conocidos por la capacidad de fermentar carbohidratos para producir ácidos grasos de cadena corta- AGCC, al ayudar al mantenimiento de la homeostasis inmunitaria y regulación del metabolismo energético⁴⁹. En contraste, un estudio con la misma composición dietaria refirió otros géneros tales como *Peptostreptococcus*, *Bacteriodes*, *Prevotella* y *Faecalibacterium* en las heces de caninos, siendo *Blautia* el único género en común en ambos estudios^{48,50}.

Al evaluar la suplementación de dietas secas comerciales con carne picada hubo cambios reversibles en la microbiota fecal, provocando la disminución del género bacteriano *Faecalibacterium* y un aumento de miembros de la familia *Clostridiaceae*¹⁴.

Así mismo, las dietas extruidas generan en el canino una mayor abundancia de *Butyricicoccus*, *Dialister* y *Holdemanella*, ya que estos taxones son degradadores de fibra y/o

productores de AGCC, aumentados en dietas que contienen granos integrales como cebada y arroz integral. También describen un aumento de *Prevotella*, un género dominante del taxón *Bacteroidota* que a menudo aumenta con dietas ricas en fibra⁵¹.

3.4.2 Dietas RMBD o BARF y sus combinaciones

Numerosos estudios han demostrado que los animales alimentados con dietas basadas en carne cruda- RMBD difieren en la composición de la microbiota y el metabolismo del microbioma del TGI en comparación con los alimentados con productos extruidos y procesados térmicamente^{3,47,48,52}.

Los perros alimentados con dieta BARF poseen una mayor abundancia de *Lactobacillales*, *Enterobacteriaceae*, *Fusobacterium* y *Clostridium*. Estas comidas ricas en carne provocan una disminución del taxón *Bacillota* que incluye géneros como *Peptostreptococcus* y *Faecalibacterium* y el taxón *Bacteroidota* con sus representantes *Bacteroides* y *Prevotella*⁴⁶. Esto se debe a que estos géneros están asociados con la digestión de fibra dietética, lo que indica una disminución en la fermentación de fibra y carbohidratos debido al nulo o poco consumo de alimentos con estos componentes^{3,46}.

Al valorar un estudio de combinación de una dieta de croquetas premium y otra de carne cruda se determinó que la abundancia de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus* y *Faecalibacterium* fue menor en los perros alimentados con una dieta de carne; mientras que la abundancia de *Fusobacterium*, *Lactobacillus* y *Clostridium* fueron más abundantes en ambos grupos⁴⁸.

La alimentación con dietas tipo BARF, tiene un efecto significativo en la presencia de taxa como *Pseudomonadota* y *Fusobacteria*³. En contraste, se afirmó una mayor riqueza de los taxa *Bacteroidota* y *Fusobacteria* en animales que consumían alimentos crudos^{53,54}. A

nivel de géneros se describen *Methanobrevibacter*, *Carnobacterium*, *Clostridium* y *Cellvibrio* como los más representativos³. En contraposición, se describen otros géneros con mayor abundancia tales como: *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Blautia*, *Clostridium* y *Lactobacillus*, siendo *Clostridium* el único género en común en ambos estudios⁴⁸.

Igualmente, en lobos mexicanos *Canis lupus baileyi* se determinaron alteraciones en la diversidad y abundancia microbiológica intestinal al ser sometidos a la ingestión de sustratos como croquetas y carne cruda⁵⁵. Estableciendo que en los lobos alimentados diariamente con carne cruda predominó el taxón *Fusobacteria* y que por el contrario, los lobos alimentados a base de una croquetas presentaron una mayor frecuencia de *Bacillota*⁵⁵.

Sumando a lo anterior, se demostró que la microbiota intestinal del lobo rojo salvaje tenía una menor riqueza de taxa bacterianos en comparación con los lobos rojos en cautiverio alimentados con croquetas y dietas mixtas. Detectando así, un aumento significativo en la abundancia relativa de *Blautia*, *Fusobacterium* y *Romboutsia* en la microbiota intestinal de los lobos rojos con heces blandas en comparación con los lobos rojos con consistencia normal de las heces⁵⁶.

Por otra parte, perros sometidos a dos dietas diferentes una rica en remolacha y otra baja en fibra, no indujeron diferencias significativas en los taxones bacterianos como *Bacillota*, *Actinomycetota*, *Pseudomonadota*, *Bacteroidota* y *Fusobacteria*, ya que en todos ellos fueron predominantes en el intestino a pesar del cambio en la forma de alimentación^{5,44}.

Se sabe poco acerca del papel que juega la cantidad de grasa en la influencia de la microbiota del TGI en comparación con macronutrientes como las proteínas y los carbohidratos⁴⁷. A pesar de ello, la digestibilidad aparente de la materia seca, la grasa cruda y las proteínas es mayor en los perros alimentados con la dieta a base de carne³².

Para resumir la relación de la microbiota intestinal con la dieta suministrada, se presenta la Tabla 1 con estudios destacados en el campo de la meta taxonomía de la microbiota intestinal canina relacionados con la dieta y sus metabolitos.

Tabla 1. Estudios relacionados con la dieta de la microbiota intestinal canina y sus metabolitos. modificado de Huang¹³ y Zong⁴⁹

Referencia	Objetivo del diseño experimental	Método	Alteración del grupo experimental
Sandri et al. ⁴³	Dieta de carne cruda (con 70% de carne de res) versus dieta comercial (26% PC, 11% de grasa), después del primer período los dos grupos intercambiaron la dieta entre sí.	Secuenciación Illumina MiSeq del gen 16S ARNr (regiones V3-V4)	Microbiota: (dieta de carne cruda y dieta comercial) ↑: <i>Bacillota</i> , <i>Bacteroidota</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Actinomycetota</i> , <i>Pseudomonadota</i> Metabolitos fecales: (grupo de dieta de carne cruda) ↑ : ácido láctico ↓ : ácido acético Otro: El butirato fecal se correlacionó positivamente con <i>Blautia</i> y <i>Peptococcus</i> . El acetato fecal se correlacionó negativamente con <i>Escherichia/Shigella</i> y <i>Megamonas</i> .
			Microbiota: (dieta de carne) ↑: <i>Clostridiaceae</i> , <i>Clostridiaceae hiranonis</i> , <i>Dorea</i> , <i>Slackia</i> , <i>Coriobacteriales</i> , <i>Coriobacteriaceae</i> . ↓: <i>Faecalibacterium</i>

Herstad et al. ⁵²	Dieta control a base de croquetas vs dieta de carne (27,1 PC) después de administrar la dieta de carne, (46.2% PC) a todos los caninos se les administró nuevamente la dieta de control durante 2 semanas.	Secuenciación Illumina MiSeq del gen 16S ARNr (regiones V3-V4)	Microbiota: (dieta de croquetas) ↑: <i>Clostridiaceae, Clostridiaceae hiranonis, Erysipelotrichaceae, Roseburia, Dorea, Slackia.</i> ↓: <i>Faecalibacterium, Veillonellaceae</i> Metabolitos fecales: (grupo de dieta de carne con 75% de carne de res, en comparación con CD2) ↑ : Ácido butírico ↓: Ácido acético ácido isovalérico Otro: ↑: pH fecal en el grupo de dieta con 75% de carne.
Bermingham et al. ⁴⁸	Dieta control (30% PB y 27% grasa) vs dieta carne (76% PB, 18% grasa) por un período de 9 semanas	Pirosecuenciación del gen 16S ARNr (regiones V4-V6)	Microbiota: (dieta de carne) ↑: <i>Clostridium, Fusobacterium, Lactobacillus</i> ↓: <i>Bacteroides, Faecalibacterium Prevotella, Peptostreptococcus.</i> Metabolitos fecales: (grupo de dieta con carne) ↓: Acetato, propionato, butirato, AGV totales, isobutirato, valerato, isovalerato.
Swanson et al. ⁵	Dieta de pulpa de remolacha (7.5%) vs dieta control con croquetas comerciales (29.7% PC, 19.4% grasa)	Pirosecuenciación del gen 16S ARNr (región V3)	Microbiota: (Grupo control y alimentado con remolacha) ↑: <i>Bacillota, Pseudomonadota, Fusobacteria, Bacteroidota, Actinomycetota</i>
Li, et al. ⁵⁷	Dieta HPLC (49 % de proteínas, 11 % de carbohidratos)	Secuenciación Illumina MiSeq del gen 16S	Microbiota: (dieta HPLC) ↑: <i>Clostridiaceae, Lachnospiraceae,</i>

	frente a dieta LPHC (26 % de proteínas, 39 % de carbohidratos), por dos períodos de 4 semanas	rRNA (regiones V3-V4)	<i>Ruminococcaceae, Vagococcus, Streptococcus, Clostridium perfringens, Clostridium hiranonis, Ruminococcus gnavus</i> ↓: <i>Fusobacterium, Turicibacter, Parabacteroides, Prevotella, Erysipelotrichaceae, Veillonellaceae, Clostridium butiricaceae, Bacteroides</i>
Salas, et al. ⁵⁸	Dieta hipocalórica (33% PC, 8% grasa, 20% almidón, 10% fibra cruda)	Secuenciación Illumina MiSeq	Microbiota: (dieta hipocalórica) ↑ : <i>Allobaculum</i> ↓ : <i>Clostridium, Lactobacillus, Dorea</i> Metabolitos séricos: ↓ : Colesterol, fosfatasa alcalina

↑: aumentado; ↓ : disminuido; ARNr: ARN ribosomal; SP: sobrepeso; PC: proteína bruta; HP/LP: proteína alta/baja; HC/LC: carbohidratos altos/bajos; HF/LF: alto/bajo en grasas; HS/LS: almidón alto/bajo; MS: materia seca.

3.5 Rol indispensable de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal influye en funciones fisiológicas e inmunológicas, ya sea directa o indirectamente, que incluyen mecanismos de la homeostasis, el metabolismo energético e inhibición de la colonización enteropatógena con la regulación de la respuesta inmune⁴⁷.

La degradación microbiana de los comensales residentes en el intestino canino, tienen por objetivo degradar proteínas y carbohidratos que escapan de la digestión enzimática del huésped. En consecuencia, liberan productos de fermentación final tales como: propionato, butirato y acetato; además del lactato de carbohidratos como el amoníaco, ácidos grasos de cadena ramificada como el isovalerato e isobutirato; también, liberan poliaminas como la

putrescina, cadaverina, espermina, espermidina e indoles entre otros, principalmente producidos por la degradación de proteínas¹⁴.

Añadido a lo anterior, la microbiota intestinal ayuda a la modulación del sistema inmune, estableciendo una respuesta de tolerancia hacia los microorganismos comensales y frente a los nutrientes disponibles; cuyo objeto es ofrecer un equilibrio entre los procesos proinflamatorios y los anti-inflamatorios¹⁵. La respuesta innata en el intestino es llevada a cabo por la combinación e interacción de las células epiteliales del intestino, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos y eosinófilos a través de receptores tipo Toll. Se estima que más del 80% de las células B activadas se encuentran en el intestino, cuya función es proteger de la posible entrada de bacterias de la microbiota a través de la producción de IgA³⁸.

Faecalibacterium prausnitzii, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii* y *Ruminococcus bromii* son algunas de las bacterias productoras de ácidos grasos de cadena como metabolitos resultantes de la fermentación, estos suponen un sustrato energético, que además ayuda a regular la motilidad intestinal y constituye una defensa contra las bacterias patógenas¹². Asimismo, la presencia de ciertas especies de bacterias promueven la producción de linfocitos T reguladores que son mediadores de la inflamación con un efecto antiinflamatorio intestinal^{12,38}.

La microbiota también se encarga de convertir los ácidos biliares primarios en secundarios, que tienen propiedades anti inflamatorias, inducen agonistas como péptido similar al glucagón tipo 1- GLP-1 que aumentan la insulina e incluso son capaces de reducir la esporulación de bacterias como *Clostridium difficile*³⁸.

De igual forma, la alteración de la microbiota conduce a una menor cantidad de péptidos microbianos, permitiendo un aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal y, en consecuencia, el traslado de bacterias patógenas. Es así, que los macrófagos reconocen las

bacterias y promueven las reacciones inflamatorias que dirigen al huésped a un estado de disbiosis, y por lo tanto más desequilibrio en la microbiota³⁸.

Los niveles de metabolitos bacterianos pueden aumentar o disminuir y, según su función fisiológica, esto puede afectar la salud del huésped¹². Análogamente tienen la capacidad de producir cambios en el sistema inmunitario, tanto a nivel local como sistémico debido a un complejo sistema de feedback entre los componentes tanto innatos como adquiridos del sistema inmunitario y la microbiota³⁸.

Por tanto, alteraciones de la fisiología y la funcionalidad de la barrera intestinal perjudican a la homeostasis e inducen cambios en la diversidad o abundancia de la microbiota originando una respuesta inmune adaptativa desregulada que se va a traducir en inflamación. Finalmente, el resultado de estas alteraciones favorece la aparición de enfermedades intestinales agudas y crónicas¹⁵.

3. 6 Enfermedades asociadas a disbiosis intestinal

La disbiosis juega un papel clave en las enfermedades gastrointestinales y sistémicas no solo para humanos si no para los caninos; por lo tanto, la normalización de la composición y función de la microbiota es un objetivo terapéutico importante¹². Con el paso del tiempo, se han relacionado enfermedades como la diabetes mellitus, la enfermedad intestinal inflamatoria -EII, diarrea aguda y la obesidad a causa de alteraciones de la microbiota.

Por otro lado, una mayor prevalencia del género *Fusobacterium* se asocia a una degradación favorable de proteínas. En seres humanos, bacterias pertenecientes a este género se asocian con enfermedades inflamatorias del intestino y obesidad, como por ejemplo *Fusobacterium nucleatum*, relacionado con la aparición de cáncer colorrectal debido a sus posibles características cancerígenas⁵⁹. De igual forma, se correlaciona positivamente

Fusobacterium mortiferum y *Fusobacterium perfoetens* con un estado de sobrepeso en caninos¹⁸.

Hasta la fecha, investigaciones sobre dietas basadas en carne cruda no demuestran un beneficio determinante en el microbioma intestinal y por el contrario, pueden aumentar el riesgo de exposición a patógenos ya que potencian un mayor riesgo de infecciones oportunistas que los alimentados con productos comerciales⁴⁷. Es así, que en un criadero de galgos en Estados Unidos, se determinó que 57 muestras fecales de las 61 poseían *Salmonella enterica*. Adicionalmente, el 94.3% de los aislamientos fueron positivos para el serotipo *Salmonella newport*⁶⁰.

Además, News Desk³⁷, concluyó que las personas que conviven con animales presentan un mayor riesgo de contraer infecciones por *Salmonella* a causa de factores como la falta de higiene, la edad avanzada del propietario y el grado de inmunodepresión. Así mismo, determinaron que en 42 muestras de alimentos crudos comerciales de 50 aisladas eran positivas para *E. coli*.

Las *Proteobacterias* se encuentran comúnmente en microbiotas gastrointestinales de mamíferos sanos, con una mayor abundancia en caninos alimentados con dietas ricas en proteínas. Sin embargo, cuando se interrumpe la condición de homeostasis en este taxón bacteriano puede ocurrir una disbiosis. Algunos géneros del taxón *Pseudomonadota* incluyen una serie de patógenos gastrointestinales clínicamente importantes, como: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Yersinia* que pueden afectar la salud y el bienestar del perro⁶¹.

De hecho, se ha informado un predominio de estas bacterias patógenas en RMBD, a pesar de ser empacadas en plástico sellado al vacío, descongeladas según la etiqueta y analizadas en frío (0°C–4°C) con el fin de evitar un crecimiento bacteriano sustancial. Luego

de realizar un estudio en 8 marcas diferentes de RMBD fueron aislados géneros como *Salmonella*, *Escherichia*, *Listeria* y *Brucella*³⁴.

En concordancia, Runesvård et al.⁶² demostró que los perros alimentados con RMBD, presentaban *E. coli* con betalactamasa de espectro extendido-BLEE, *Campylobacter* y *Salmonella*. Las cepas de *E coli* fueron resistentes a ampicilina, cefotaxima y ceftazidima e incluso hubo una resistencia notoria a tres o más clases de antibióticos, es decir, multiresistencia.

Ramos et al.⁶³ también describió un aumento en la excreción fecal de cepas resistentes a múltiples fármacos y a BLEE en caninos alimentados con RMBD. Este estudio permitió demostrar qué si existe una mayor resistencia de antimicrobianos en RMBD versus dietas convencionales tipo croquetas, datos expuestos en la tabla 2 y figura 5. Actualmente, la importancia de las BLEE en perros es un fenómeno preocupante debido a la posibilidad de su propagación a humanos, en donde el contacto con este tipo de mascotas se considera un factor de riesgo para la colonización⁶³.

Tabla 2. Resistencia a antimicrobianos probados en las cepas de *E. coli* aisladas de perros alimentados con dietas basadas en carne cruda-RMBD y alimentos comerciales tipo croquetas. Modificada de Ramos⁶³.

Medicamento antimicrobiano	Tipo de dieta	
	RMBD (n=85)	Comercial tipo croquetas (n=127)
Amoxicilina/ácido clavulánico	5	3
Ampicilina	46	28
Ceftiofur	30	25
Enroflaxina	20	10

Ciprofloxacina	29	45
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	52	44
Doxicilina	31	22
Oxitetraciclina	41	30
Cloranfenicol	9	6
Gentamicina	15	2
Neomicina	4	0

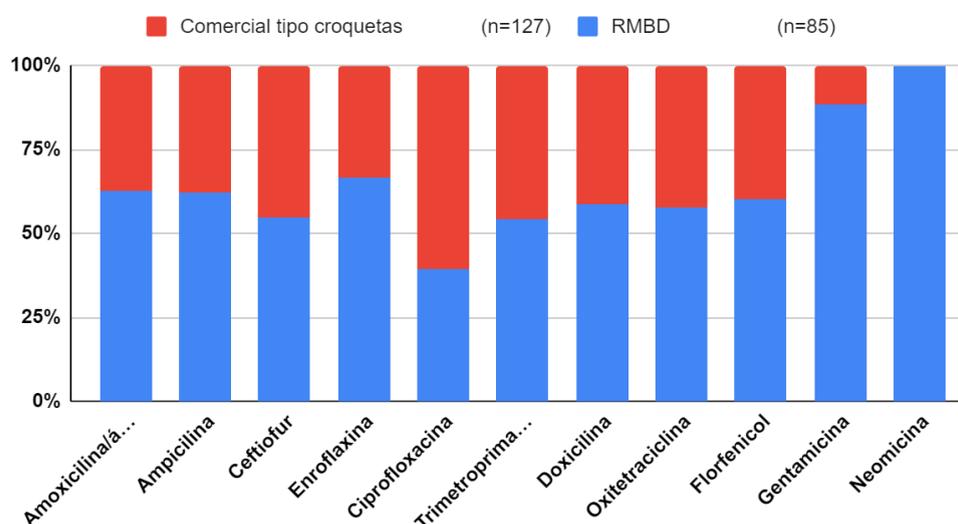


Figura 5. Porcentaje de resistencia de cada antimicrobiano probado en las cepas de *E. coli* aisladas de perros alimentados con dietas basadas en carne cruda-RMBD y alimentos comerciales tipo croquetas.

3.6.1 Diabetes mellitus en perros

La diabetes mellitus- DM es una enfermedad metabólica que se presenta a menudo en perros, se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre^{8,9,11}. No existe ninguna clasificación de este padecimiento en perros, pero su aparición data en edades de 5 a 12 años

incrementado el riesgo de envejecimiento, debido a la disminución del ejercicio y aumento de peso⁹. Los principales signos clínicos que presentan los perros diabéticos son: poliuria, polidipsia, pérdida de peso, polifagia; menos frecuentemente hepatomegalia y las cataratas. *Linares*. Se puede presentar en todas las razas, con una susceptibilidad mayor en Australian terrier, Schnauzer Standard, Samoyedo y Fox Terrier⁹.

Se ha informado previamente en perros con DM, varios taxones bacterianos que aumentaron la abundancia relativa durante la terapia con insulina, entre ellos *Bacteroides spp*, un género bacteriano con efectos positivos sobre la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina¹⁰. *Bacteroides spp*. es uno de los productores de butirato mejor descritos ya que se dice que promueve la salud de los colonocitos y la integridad de las uniones estrechas y que además, mejora de la sensibilidad a la insulina a través de la reducción de la permeabilidad intestinal, la producción de LPS y la inflamación sistémica^{10,42}.

También, en el mismo estudio hubo una disminución de *Roumboutsia* y *Clostridium sensu strictu*. Cabe aclarar que *Roumboutsia* se ha asociado con una mala tolerancia a la glucosa y reducción de los niveles de insulina en ayunas¹⁰. Por lo tanto, un aumento en la abundancia puede representar un mejor control glucémico en los perros.

Del mismo modo, se demostró que los perros con DM tenían una mayor abundancia relativa de la familia *Enterobacteriaceae* en comparación con los caninos sanos; además demostraron cambios en la composición de la microbiota intestinal, que se acompañan de elevación de las concentraciones de LPS séricos y no conjugados fecales primarios, lo que sugiere que la disbiosis está asociada con el metabolismo de los ácidos biliares y el desarrollo de endotoxemia^{11,14}. Sin embargo, éste estudio analizó solo un punto de tiempo e incluyó perros en varias etapas de tratamiento y control de la diabetes; por lo tanto, no se pueden hacer inferencias sobre alteraciones en el microbioma al momento del diagnóstico¹¹.

Cabe resaltar que es importante tener en cuenta que los animales con diabetes están expuestos a empeorar su situación metabólica si no se les suministra una formulación dietaria adecuada en términos de composición y nutrientes, por lo que la dieta se vuelve la piedra angular en este padecimiento canino^{8,9,11}.

3.6.2 Enfermedad Intestinal Inflamatoria- EII

El estudio de la microbiota intestinal canina es de relevancia en EII, ya que los animales enfermos presentan signos como: dolor abdominal, flatulencias, hipoalbuminemia, presencia de edema periférico, ascitis, niveles elevados de α 1-antitripsina fecal y leucocitosis de estrés debida a la inflamación crónica frecuentemente asociado a estados disbióticos¹⁵.

En animales con EII ocurre un aumento en los grupos de Proteobacterias, especialmente *E. coli* y disminución de *Bacillota* como *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* y *Blautia*, que incluyen bacterias productoras de AGCC¹⁵. Así mismo, en los perros con enteropatías crónicas se han identificado alteraciones comunes a nivel duodenal que consisten en una mayor proporción de la familia *Enterobacteriaceae*^{3,15}.

Estudios semejantes con perros sanos y enfermos demostraron que bacterias como *Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Blautia*, *Fusobacterium* y *Clostridium hiranonis* fueron significativamente más bajas en el grupo con EII. En contraste, *E. coli* y *Streptococcus* fueron significativamente más altos en los perros enfermos en comparación con los sanos¹⁶.

Como respuesta al tratamiento, las EII caninas crónicas se pueden manejar con dietas, tratamientos antibióticos o inmunosupresores paralelamente para el control de la disbiosis inflamatoria¹⁵.

3.6.3 Diarrea aguda

Los perros con diarrea aguda no complicada- DA y síndrome de diarrea hemorrágica aguda- AHDS tienen patrones de disbiosis similares. En ambos casos, se ha observado una reducción de los taxa *Actinomycetota* y *Bacillota* como *Ruminococcaceae*, *Blautia*, *Faecalibacterium* y *Turicibacter*. Además, en perros con AHDS, aumenta la cantidad de *E. coli*, *Sutterella* y *C. perfringens*; teniendo en cuenta que este último es un comensal del tracto intestinal y por lo tanto, puede detectarse en perros sanos¹². Otro estudio como el de Chaitman et al.⁶⁴ informó que los perros con diarrea aguda estaban vinculados a vías metabólicas de triptófano, aminoácido, colesterol y metabolismo de lípidos, además de baja diversidad microbiana y un mayor índice de disbiosis.

Adicional a ello, perros con diarrea aguda tuvieron alteración en el microbioma fecal con baja diversidad, mayor abundancia de patógenos como *C. perfringens*, y disminución de *Bacteroidota*, *Faecalibacterium* y géneros no clasificados dentro de *Ruminococcus*, así como una menor concentración fecal de propionato y mayor de butirato, lo que refleja la disminución de la utilización por parte de los enterocitos¹⁴

3.6.4 Obesidad en perros

La obesidad es un trastorno nutricional multifactorial de alta prevalencia en perros, se estima que más del 40% de la población canina padece obesidad, reflejado en un mayor riesgo de enfermedades crónicas osteoarticulares, metabólicas y cardiovasculares. En consecuencia, los perros obesos sufren una disminución de la calidad y esperanza de vida y un mayor riesgo de desarrollar enfermedades como diabetes mellitus (DM), dislipidemia y enfermedades cardiovasculares, entre otras.^{47,65}

Para reseñar, Thomson et al.⁶⁵ ha mostrado un enriquecimiento significativo de *Bacillota* en perros obesos en comparación con perros de peso normal que tenían *Bacteroidota*, *Deferribacteres* y *Tenericutes*. A nivel de género, los perros obesos tuvieron un aumento en la abundancia relativa de *Peptoclostridium*, una disminución en los géneros *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Oscillibacter* y *Parasutterella*.

Los cambios en la relación *Bacillota/Bacteroidota* contribuyen al desarrollo y de la obesidad en perros produciendo un aumento en la extracción de energía de la dieta, principalmente polisacáridos complejos induciendo a rutas metabólicas involucradas en la producción de ácidos grasos de cadena corta y finalmente provocar un aumento del tejido adiposo.⁶⁵ El mecanismo parece ser, que una mayor abundancia relativa de *Bacillota* en perros obesos contribuye a aumento en las proteínas de quimiotaxis, actividad de hexosaminidasa y actividad de fumarato reductasa; procesos relacionados con la respiración, la motilidad y la degradación de los glucanos del huésped⁶⁵

Así mismo, se ha descrito un aumento de *Proteobacterias* en caninos obesos ya que las bacterias Gram negativas pueden influir en los niveles de lipopolisacáridos- LPS intestinales. Sumado a esto, una concentración reducida de serotonina puede aumentar el apetito y causar un ciclo que conduce a disbiosis bacteriana con un aumento de bacterias Gram negativas y LPS enriquecidos. Cabe destacar, que los LPS están asociados con inflamación crónica^{13,47}.

3.6.5 Dermatitis atópica-DA en perros

La dermatitis atópica es una enfermedad cutánea inflamatoria acompañada de picazón, que afecta aproximadamente a un 10% de los caninos.^{66,67} Esta enfermedad no sólo consiste en la disfunción de la barrera cutánea, sino también en la desregulación

inmunológica y los cambios en la microbiota de la piel, provocada por la colonización de patógenos.^{66,67} Los perros que desarrollan DA con hipersensibilidad a los alérgenos ambientales, como los ácaros del polvo doméstico y/o los alérgenos alimentarios, a menudo sufren infecciones bacterianas y/o fúngicas secundarias, más comúnmente debidas a *Staphylococcus pseudintermedius*; provocando una exacerbación de las lesiones cutáneas con desarrollo de pápulas, pústulas, costras y alopecia.^{67,68}

Los taxones más comunes que colonizan las regiones de la piel de perros sanos en mayor abundancia para Rodrigues et al.⁶⁷ son: *Pseudomonadota* seguido de *Bacillota*, *Actinomycetota*, *Bacteroidota* y *Cyanobacteria*. Sin embargo, en muestras recolectadas de axila, pabellón auricular cóncavo, dorso de la nariz y la piel interdigital, las *Pseudomonadota* fueron seguidas por *Bacteroidota* y *Actinomycetota*. Además, en muestras de piel perianal se encontraron, *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Fusobacteria* y *Actinomycetota* que fueron ligeramente diferentes.

A nivel de clase, hubo variabilidad entre los diferentes sitios, siendo *Beta Pseudomonadota* la más común identificada en el pabellón auricular cóncavo, conjuntiva, dorso lumbar, oído e ingle; mientras que las actinobacterias eran más comunes en la axila y la piel interdigital; *Gamma Pseudomonadota* en la comisura labial y fosa nasal; *Alpha Pseudomonadota* en el dorso de la nariz y Bacilli en la región periorcular. *Clostridia* y *Bacteroidia* fueron las clases más comunes en la región perianal, como era de esperar debido a la proximidad al recto.⁶⁷

Es así, que determinaron la asociación de la composición de la microbiota intestinal con estados atópicos de DA y saludables en perros. Demostrando predominancia en ambos grupos del taxón *Bacillota*, seguido de *Bacteroidota* y *Pseudomonadota*; en perros sanos y alérgicos. En perros sanos las familias *Anaerovoracaceae*, *Ruminococcaceae* y

Peptostreptococcaceae, tuvieron relevancia con los géneros, *Lachnospira*, *Ruminococcus torques*, *Faecalibacterium*, *UCG 005*, *Peptoclostridium*, *Sutterella* y *Fusobacterium*. En contraste, los perros alérgicos exhibieron una mayor abundancia de los géneros *Conchiformibius*, *Catenibacterium*, grupo *Ruminococcus gnavus* y *Megamonas*.⁶⁶ Lo anterior, sugiere que las alteraciones en la diversidad y composición de la microbiota intestinal pueden estar asociadas con la DA canina.

Adicionalmente, Chermprapai et al.⁶⁸ Presenta los géneros de *Staphylococcus*, *Psychrobacter*, *Trichococcus*, *Brachybacterium* y *Porphyromonas* predominantemente presentes en la piel de perros con DA; géneros también presentes en la piel de perros sanos con variabilidad baja en la abundancia relativa.

4. DISCUSIÓN

Cada vez se comprende mucho más la relación de la microbiota con el estado de salud del individuo. El descubrimiento de la microbiota intestinal canina es un gran desafío, ya que la mayoría de estudios se han descrito en humanos y roedores⁴. En esta revisión se hace una recopilación de estudios relacionados con la secuenciación de la microbiota intestinal en caninos alimentados con diferentes formulaciones dietarias y su relación con enfermedades subyacentes. Al igual que Herstad et al.⁵², aseguramos que la estructura de la dieta se considera como un factor crítico que influye en la microbiota intestinal del perro y que además puede producir efectos importantes para la salud intestinal y el bienestar general.

Los avances recientes en la tecnología de secuenciación del gen ARNr 16S y el enfoque metagenómico ha mejorado la comprensión de la función microbiana en el tracto gastrointestinal. Si bien se rescatan variaciones en la composición entre diferentes estudios, es importante tener en cuenta que las especies bacterianas clave están constantemente

presentes en las muestras fecales de perros sanos, lo que indica la presencia de una comunidad bacteriana central en las heces⁴⁶.

En esta revisión, se estableció por medio de técnicas de secuenciación del gen ARNr 16S que se encuentran diferentes proporciones de los taxa *Bacillota*, *Actinomycetota*, *Pseudomonadota*, *Bacteroidota* y *Fusobacteria* en dietas de caninos alimentados con croquetas, dietas bajas en fibra, dietas con guisantes, dietas ricas en remolacha e incluso en dietas suplementadas con hígado de pollo hidrolizado^{5,43,44,45}. Lo anterior da a pensar que cuando se cambia la dieta canina de alimento seco comercial a una dieta cruda, las comunidades microbianas y el perfil del metabolismo también cambian⁵².

Mediante una revisión dinámica se evaluó la microbiota intestinal en el contexto de la modificación dietaria, es decir, cambios en la composición de acuerdo a la abundancia bacteriana existente. Los estudios científicos han demostrado cambios significativos en la abundancia relativa de varios taxa bacterianos de acuerdo al tipo de dieta. Es así, que para una dieta rica en proteínas como las dietas tipo BARF o RMBD se observa una disminución el taxón *Bacillota* que incluyen géneros como *Peptostreptococcus* y *Faecalibacterium* y el taxón *Bacteroidota* con sus representantes *Bacteroides* y *Prevotella*^{46,48}. En concordancia, Schmidt et al.³ y Xu et al.⁶⁹ evidenciaron en años diferentes una mayor riqueza del taxón *Fusobacteria* en dietas crudas lo cual se relaciona con la premisa principal.

Por otra parte, la familia Clostridiaceae incluye tres especies bien diferenciadas: *C.perfringens*, *C.hiranonis* y *C.butyrlicum*, duplicando la abundancia de estos tres anaerobios Gram positivos en perros alimentados con dieta altas en proteínas como BARF o RMBD que en dietas comerciales altas en carbohidratos^{3,48}.

A nivel de género, *Faecalibacterium*, *Catenibacterium*, *Allisonella* y *Megamonas* se encontraban significativamente más bajos en los perros y lobos que consumieron dietas crudas en comparación con los perros que comían dietas tipo croquetas⁵⁵.

Microbiotas con géneros pertenecientes a los taxa *Bacteroidota* y *Actinomycetota* pueden producir metabolitos fecales a partir de dietas con carne cruda; produciendo un aumento del ácido láctico y una disminución del ácido acético⁴³. De esta forma, se evidenció que a medida que se van aumentando los aportes cárnicos en la dieta, aumenta el ácido butírico y disminuyen paralelamente los ácidos acético e isovalérico. Así mismo, porciones en la dieta con 75% de carne aumenta el pH fecal en los individuos que la consumen⁴³.

El taxón *Bacillota* es el que ha predominado en la mayoría de estudios de investigación a pesar del cambio de dietas y porcentajes nutricionales^{5,43,44,45}. Otros dos estudios más, confirman que este taxón se mantiene en el tiempo a pesar de modificar la composición de la dieta el régimen de alimentación y los hábitos de salud en perros Beagle obesos; los cuales durante 8 y 17 semanas fueron alimentados de forma restringida con una dieta seca hipocalórica, baja en grasas y rica en fibra⁵⁸. y otra alta en grasas⁷⁰. Así mismo, ambos autores informan un patrón similar a los descritos por Swanson et al.⁵, Garcia et al.⁶, y Hooda et al.⁴⁴. y Friedrich et al.⁴⁵ con un aumento en la abundancia de taxa como *Bacteroidota*, *Fusobacteria*, *Actinomycetota* y *Pseudomonadota*.

Cabe resaltar, que la mayoría de los caninos seleccionados en los estudios de investigación revisados eran sanos^{5,6,43,44,45} a diferencia de las investigaciones de Laia et al.¹⁰ y Jergens et al.¹¹ donde incluyen perros con enfermedades gastrointestinales o DM. La disbiosis del microbioma canino se ha observado en afecciones que incluyen enfermedad inflamatoria intestinal, diarrea aguda, infecciones de la piel y del oído y obesidad^{8,9,12,71}.

Estudios recientes han asociado un aumento del taxón *Bacillota* en diarrea aguda en perros, siendo *Ruminococcus* y *Faecalibacterium* los géneros más abundantes asociados a este taxón bacteriano⁴⁸, por el contrario Ziese et al.¹² y Muñoz et al.¹⁵ afirman que la DA no complicada y el AHDS cursan con una reducción del taxón anteriormente nombrado. Debe reconocerse que estos estudios no solo difieren en la raza de los perros sino también en la historia de la dieta.

Actualmente no han sido aisladas bacterias en alimentos convencionales tipo croquetas, debido a los tratamientos térmicos a los que son sometidos, sumado a una baja humedad y el tipo de empaques termosellados utilizados. No obstante, autores como Freek et al.³⁴ y Runesvärd et al.⁶² han descrito que las dietas BARF y RMBD son una fuente de Enterobacterias como *E.coli* portadora de BLEE, *Campylobacter* y *Salmonella*, géneros que pueden ser multirresistentes. En concordancia, Ramos et al.⁶³ evaluó que cepas de *E. coli* productora de BLEE aisladas en perros que consumen dietas RMBD, tenían un mayor porcentaje de resistencia cuando eran expuestas a 11 antimicrobianos conocidos. Lo anterior, se relaciona al fácil acceso que tienen estos microorganismos a empaques con sellado defectuoso, y que además han perdido la cadena de frío requerida.

Recio et al.⁷² en el 2018 indaga con una encuesta a 275 personas sobre la tendencia de la alimentación BARF en España, evaluando el nivel de conocimiento de los veterinarios sobre el riesgo que pueden presentar este tipo de dietas crudas al animal y al humano. Un 70% de los encuestados considera que no suponen riesgos, dejando en evidencia el desconocimiento hacia este tipo de alimentación.

La suplementación de TGI por medio de microorganismos vivos en cantidades adecuadas como parte de un alimento, puede conferir un beneficio para la salud del canino. Este es el caso de los probióticos, los cuales proporcionan energía a los colonocitos, limitan

el pH luminal y generan un efecto antiinflamatorio^{3,12,15,47}. Se espera que en un futuro se evalúe como los probióticos modifican las comunidades de bacterias, protozoarios, virus y hongos⁴² del canino. El empleo de probióticos en medicina veterinaria es innovador en el tratamiento de enfermedades del TGI en mascotas cuando se asocian a una dieta. Como consecuencia, no existe literatura científica reciente que ahonde sobre este tema.

Otra forma de modular el microbioma intestinal es por medio de trasplante de microbiota fecal- FMT, que como tal es un tratamiento experimental médico no farmacológico⁴². Este procedimiento innovador describe la transferencia de heces de un donante sano al intestino de un receptor enfermo, con el objetivo de restaurar la barrera intestinal a través de la recuperación de la diversidad y riqueza microbiana que ha sido eliminada o reducida por el uso de antibióticos. Sin embargo, existe la necesidad de estudios que investiguen más a fondo los beneficios de FMT en enfermedades GI agudas y crónicas^{42,64}.

5. CONCLUSIONES

Entre las limitaciones de esta revisión están el reducido número de artículos experimentales que encajaran con todos los criterios de inclusión requeridos. Así mismo, los perros son una población no homogénea (es decir, una selección diversa de trabajos, que incluyen varias dietas, edades y razas), por lo que es posible que se hayan enmascarado o amplificado asociaciones en base a estos factores. También, el tipo de técnica usada en la toma de muestra fecales puede incidir en los resultados, se recomienda el uso de hisopados rectales, en vez de recolecciones expuestas al ambiente.

Debe aclararse las relaciones entre la microbiota intestinal canina y su papel en la patogenia de las enfermedades gastrointestinales. Por tal motivo, se requieren más

investigaciones para brindar una cobertura profunda y una mayor caracterización del metagenoma de perros en estados sanos y enfermos.

Es necesario controlar variables que pueden sesgar los estudios de la microbiota intestinal tales como: el uso de antibióticos, antiparasitarios e inmunizaciones; el estado fisiológico del perro, es decir, si es macho o hembra; cachorros, adultos o seniles y estado de gestación si es el caso; de la misma forma, tener en cuenta antecedentes de cirugías como la castración o esterilización, incluso relaciones familiares entre los perros y/o antecedentes genéticos de importancia clínica.

Se espera que mediante análisis bioinformáticos se tomen variables incidentes como el efecto de la raza, el comportamiento y los niveles de metabolitos excretados como productos de desecho en relación del microbioma con la fisiología del perro.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dotson M, Hyatt E. Understanding dogs–human companionship. Elsevier Journal of Business Research [Internet]. 2016 [cited 17 jul 2022]; vol 6 P 457-466 Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0148296307002214?via%3Dihub>
2. Gaviria J. Alimentación general y especializada para mascotas en una empresa productora de alimentos balanceados para animales. [Trabajo de grado]. Caldas-Antioquía: Corporación Universitaria Lasallista; 2016 [citado 1 abr 2021]. Disponible en: http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1493/1/Alimentacion_general_especializada_mascotas.pdf
3. Schmidt M, Unterer S, Suchodolski J, Honneffer J, Guard B, Lidbury J, et al. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. PlosOne. [Internet]. 2018 [cited 4 abr 2021]; 13 (8) 1-20. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6093636/>.
4. Terán J, Chong J, Rojas Z, Gutiérrez F & Roque R. Dieta Natural (BARF) vs. Dieta Comercial (CROQUETAS): Evaluación costo beneficio en perros criollos en el Departamento de San Martín. Revista De Veterinaria Y Zootecnia Amazónica. [Internet] 2022,[cited 4 abr 2021] 2(1). Disponible en: <https://revistas.unsm.edu.pe/index.php/revza/article/view/309>
5. Swanson K, Dowd S, Suchodolski J, Middelbos I, Vester B, Barry K, et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. ISME J [Internet]. 2016 [cited 27 mar 2021]; 5(4):639-649. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3105739/>.
6. García J, Dowd S, Poulsen J, Steiner J, Suchodolski J. Abundance and short-term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs. Microbiology Open [Research Article]. [Internet] 2016 [cited 29 mar 2021];1(3):340–347. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23170232/>.
7. Alarcón T, D'Aluria G, Delgado S, Del Campo M, Ferrer M. Microbiota 59. En: Campo R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Edición 1. Madrid: SEIMC [Internet book].

- 2016 [citado 2 abr 2021]:1-43. Disponible en:
<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia59mod.pdf>
8. Rojas A. Uso de dietas BARF para caninos con Diabetes Mellitus [Internet]. 2019. [citado 29 mar 2022]. Available in:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/2558/Diabetes%20Mellitus%20Dietas%20BARF.pdf?sequence=1>
 9. Linares A. Betsy, Ávila-Ramos Fidel, López-Briones Sergio. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en perros. *Abanico vet* [Internet]. 2017 [citado 2022 Sep 16]; 7(1): 53-67. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322017000100053&lng=es.
 10. Laia, N, Barko, P, Sullivan, D, Michael M, Williams, D & Reinhart, J. Longitudinal analysis of the rectal microbiome in dogs with diabetes mellitus after initiation of insulin therapy. *PLoS One*, [Internet] 2022.[citado 2022 Sep 16] 17(9). Available in:
<https://www.proquest.com/healthcomplete/docview/2710948406/D35FF698A694B89PQ/22?accountid=50438>
 11. Jergens A, Guard B, Redfern A, Rossi G, Mochel J, Pilla R, Chandra L, Seo J, Steiner J, Lidbury J, Allenspach K, Suchodolski J. Microbiota-Related Changes in Unconjugated Fecal Bile Acids Are Associated With Naturally Occurring, Insulin-Dependent Diabetes Mellitus in Dogs. *Front Vet Sci*. [Internet] 2019 [citado 4 abr 2021];6:199. available in:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2019.00199/full>
 12. Ziese A, Suchodolski J. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Veterinary clinics: Small Animal Practice*. [Internet], 2021 [citado 4 abr 2021]. Available in:
[https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(20\)30102-9/fulltext#secsectitle0020](https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(20)30102-9/fulltext#secsectitle0020)

13. Huang Z, Pan Z, Yang R, Bi Y, Xiong X. The canine gastrointestinal microbiota: early studies and research frontiers. *Gut Microbes*. [Internet] 2020 [cited 20 Aug 2022] 11(4):635-654. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31992112/>
14. Pereira A, Clemente A. *Dogs Microbiome From Tip to Toe*. Elsevier. 2021 [citado 4 abr 2021]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1938973621000775>
15. Muñoz Aznar, Y. La enfermedad inflamatoria intestinal canina. [Internet] 2021 [citado 20 Ago 2022] disponible en: <https://titula.universidadeuropea.es/handle/20.500.12880/823>
16. Alshawaqfeh M, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury J, et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy, *FEMS Microbiology Ecology*, [Internet] 2017 [cited 20 Aug 2022] Volume 93, Issue 11, available in: <https://academic.oup.com/femsec/article/93/11/fix136/4443197?login=false>
17. Alessandri G, Argentini C, Milani C, Turrone F, Ossiprandi M, et al. Catching a glimpse of the bacterial gut community of companion animals: a canine and feline perspective. *Microb Biotechnol*. [Internet] 2020 [cited 15 Jun 2022] 13(6):1708-1732. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32864871/>
18. Alessandri G, Milani C, Mancabelli L, Mangifesta M, Lugli G, et al. Metagenomic dissection of the canine gut microbiota: insights into taxonomic, metabolic and nutritional features. *Environmental Microbiology*. [Internet] 2019 [cited 12 Jul 2022] 21(4), 1331-1343. Available in: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1462-2920.14540>
19. Kodio A, Menu E, Ranque S. Eukaryotic and Prokaryotic Microbiota Interactions. *Microorganisms* [Research Article]. 2020 [cited 8 abr 2021]; 2-31. Available in: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/12/2018/htm>
20. Loaiza M, Loaiza L, López AM. Diseño de dietas BARF para perros en tres etapas fisiológicas. [Trabajo de grado]. Pereira, Universidad Tecnológica de Pereira; 2018. [citado 4 abr 2021] Disponible en:

<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/8877/T636.085L780.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

21. Rodrigues A, Proctor L, Surette M, Suchodolski J. The microbiome: The trillions of microorganisms that maintain health and cause disease in humans and companion animals. *Veterinary pathology*. [Research Article]. 2016 [cited 1 abr 2021]; 53(1) 10-21. Available in: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300985815595517>
22. Fundación Charles Darwin Galápagos. *Canis lupus familiaris* Linnaeus, 1758. [Blog Internet]. Islas Galápagos: 2020 [Actualizado 18 ene 2020; 5 abr. 2021]. Disponible en: <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=5205>
23. Hundsport. ¿Qué son los perros de trabajo? [Blog Internet]. México. [Actualizado 08 Abr 2019; citado 6 abr. 2021]. Disponible en: <https://hundsport.mx/que-son-los-perros-de-trabajo/#:~:text=Los%20perros%20de%20trabajo%20son,a%20personas%20con%20habilidades%20diferentes>.
24. Las mascotas mueven casi un billón de pesos de la economía del país. *Portafolio*. 2018 dic 12. Disponible en: <https://www.portafolio.co/negocios/las-mascotas-mueven-casi-un-billon-de-pesos-de-la-economia-del-pais-524357>
25. Rojas J. Tres billones de pesos, el gasto de sus familias en sus mascotas. *El Tiempo*. 2018 jun 12. Sección economía. Disponible en: <https://www.eltiempo.com/economia/finanzas-personales/dinero-que-invierten-las-familias-colombianas-en-el-cuidado-de-sus-mascotas-228908>
26. Martínez J. Secretaria de Desarrollo Económico. La Economía alrededor de las mascotas en Bogotá [Internet]. Bogotá [Actualizado 27 jun 2019]. Disponible en: <http://observatorio.desarrolloeconomico.gov.co/comercio-al-por-menor-industria-servicios/la-economia-alrededor-de-las-mascotas-en-bogota>
27. Boletín del estado. Real Decreto 1999/1995, de 7 de diciembre, relativo a los alimentos para animales destinados a objetivos de nutrición específicos [Internet]. 2012;

- 3-13. Disponible en:
<https://www.boe.es/buscar/pdf/1995/BOE-A-1995-27764-consolidado.pdf>.
- 28.** Norma Técnica Colombiana -NTC 3686. Alimentos para animales. Alimento completo para perros [Internet]. 2014 [citado 1 abr 2021]; 1-8. Disponible en:
<https://pdfslide.net/documents/ntc3686.html>.
- 29.** Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. Por medio de la cual se establecen los requisitos y el procedimiento para el registro de los fabricantes e importadores de alimentos para animales, así como los registros y el procedimiento para el registro de alimentos para animales y se dictan otras disposiciones. (Resolución 61252 del 3 de febrero de 2020). Resolución aprobada disponible en:
<https://www.ica.gov.co/getattachment/f7b59ff6-7bfc-477a-8110-40a14b80bd4e/2020R61252.aspx>
- 30.** Gutiérrez C. Verdades sobre el alimento de tu perro. [Internet]. 2016 [citado 19 sep 2021]. Disponible en:
<https://aceomadrid.com/wp-content/uploads/2016/02/1.-Historia-del-pienso.pdf?target=blank>
- 30.** Perez, H. Nutracéuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. [Internet]. Cuba. 2006 [citado 29 abr 2022]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120665003.pdf>
- 31.** Morelli G, Stefanutti D, Ricci R. A survey among Dog and Cat Owners on Pet Food Storage and Preservation in the Households. *Animals* [Internet article]. 2021 [cited 11 abr 2021]; 11(273):1-19. Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7911149/>
- 32.** Barreno D. Digestibilidad aparente del alimento balanceado Premium en comparación a la digestibilidad del alimento BARF en caninos. [Trabajo de grado]. Ecuador, Universidad de Las Américas; 2018 [citado 4 abr 2021]. Disponible en:
<https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2796181> .

33. Sillero M. Mitos y dietas alternativas en perros y gatos. Revisión sobre sus efectos y recomendaciones. [Trabajo de grado]. Valencia, Universidad Católica de Valencia. 2019. [citado 5 abr 2021]; 60, 329–339. Disponible en:
https://riucv.ucv.es/bitstream/handle/20.500.12466/58/Mara_Sillero_Vizcaino_pdf.pdf?sequence=5&isAllowed=y
34. Freek P, Bokken G, Mineur R, Franssen F, Opsteegh M, et al. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *The Veterinary Record* [Internet paper]. 2018, [cited 3 abr 2021]13;182(2):50. Available in:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29326391/>.
35. Davies R, Lawes J, Wales A. Raw diets for dogs and cats: a review, with particular reference to microbiological hazards. BSAVA [Internet]. 2019 [cited 12 abr 2021]. Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6849757/pdf/JSAP-60-329.pdf>
36. Ríos J, Tomasi O. Comer alimentos crudos: una extendida moda que exige más precaución. Periódico La Región. [Internet]2019. [cited 12 abr 2021]. Sección crónica. Columna vivir mejor. Disponible en:
<https://www.laregion.es/articulo/salud/comer-alimentos-crudos-moda-exige-mas-precaucion/20190828201909890489.html>
37. Food Safety News. *Salmonella and E. coli* found in raw pet food. [Internet]. Zurich Alemania: News Desk. [Internet] 2018 [cited 12 abr 2021].. Available in:
<https://www.foodsafetynews.com/2019/10/salmonella-and-e-coli-found-in-raw-pet-food/>
38. Soriano C, Acín C. La microbiota intestinal en perros y gatos y su relación con el sistema inmunitario asociado. España, Universidad Zaragoza. Trabajo de grado;[Internet] 2021 [citado 4 abr 2021]. Disponible en:
<https://zaguan.unizar.es/record/109226/files/TAZ-TFG-2021-4515.pdf?version=1>
39. Rodicio M, Mendoza M. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Revista Formación Médica Continuada* [Internet]. 2004 [citado 27 mar 2021]; 22(4):238-245. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-identificacion-bacteriana-mediante-secuenciacion-del-13059055>.

40. Hilton S, Castro E, Pérez M, Toma I, McCaffrey T, Hoffman E, et al. Metataxonomic and Metagenomic Approaches vs. Culture-Based Techniques for Clinical Pathology. *Front microbiol* [Research Article] [Internet]. 2016 [cited 1 abr 2021]; 7(484): 1.12. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4823605/>
41. Campus J. Taxonomía y filogenia ¿Qué es la especie?. [Internet] [cited 20 Aug 2022] Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/jcamps/jcampsactpro/jcampsactpro_185.pdf
42. Mondo E, Marliani G, Accorsi P, Cocchi M & Leone A. Role of gut microbiota in dog and cat 's health and diseases. *Open Veterinary Journal*. [Internet]2019 [cited 20 Aug 2022] 9(3), 253-258. Available in: <https://www.ajol.info/index.php/ovj/article/view/190200>
43. Sandri M, Sgorlon S, Conte G, Serra A, Dal Monego S & Stefanon B. Substitution of a commercial diet with raw meat complemented with vegetable foods containing chickpeas or peas affects fecal microbiome in healthy dogs. *Italian Journal of Animal Science*. [Internet] 2019 [cited 20 Aug 2022] 18 (1), 1205-1214. Available in: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1828051X.2019.1645624>
44. Hooda S, Minamoto Y, Suchodolski J, Swanson K. Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. *Animal Health* [Research Article]. 2012 [cited 29 mar 2021]; 13(1):78-88. Available in: <https://www.cambridge.org/core/journals/animal-health-research-reviews/article/abs/current-state-of-knowledge-the-canine-gastrointestinal-microbiome/2C30D11CE82C46327F7ACB0DAD7B6173>
45. Fredrich C, Brum B, Bortolo M., Guldenpfennig R & Trevizan L. Hydrolyzed chicken liver used as single source of animal protein in diet and its effect on cytokines, immunoglobulins, and fecal microbiota profile of adult dogs. *PLoS One*. [Internet] 2022. 17(7) Available in: <https://www.proquest.com/healthcomplete/docview/2693033777/D35FF698A694B89PQ/6?accountid=50438>

46. Pilla R & Suchodolski J. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Front. Vet. Sci.* [Internet] 2020[cited 12 Jul 2022] 6:498. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2019.00498/full>
47. Wernimont S, Radosevich J, Jackson M, Ephraim E, Badri D, et al. The effects of Nutrition of the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease. *Frontiers in Microbiology.* [Internet article]. 2020. [cited 11 abr 2021]; 11: 1-24. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7329990/pdf/fmicb-11-01266.pdf>
48. Bermingham E, Maclean P, Thomas D, Cave N, Young W. Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. *PeerJ* [Internet]. 2017 [cited 2 abr 2021]; (5): 1-24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5337088/>
49. Zong L, Sol Q, Yuhao L, Guan Z, Jianchao W, et al. Analysis and Comparison of Gut Microbiome in Young Detection Dogs. *Frontiers in Microbiology. Sec. Microorganisms in Vertebrate Digestive Systems* [Research Article]. 2022 [cited 15 mar 2022]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.872230/full>
50. Tanpraserts J, Shmalberg J, Maughan H, Tate D, Perry L, et al. Heterogeneity of gut microbial responses in healthy household dogs transitioning from an extruded to a mildly cooked diet. *PeerJ.* [Internet] 2021 [cited 05 Sep 2022]. Available in: <https://peerj.com/articles/11648/>
51. Do S, Phungviwatnikul T, Godoy M & Swanson K. Nutrient digestibility and fecal characteristics, microbiota, and metabolites in dogs fed human-grade foods. *Journal of Animal Science.* [Internet] 2021 [cited 12 Jul 2022] 99(2), 1-13. Available in: <https://academic.oup.com/jas/article/99/2/skab028/6123189>
52. Herstad K, Gajardo K, Bakke A, Moe L, Ludvigsen J, et al. A diet change from dry food to beef induces reversible changes on the fecal microbiota in healthy, adult client-owned dogs. *Vet res* [Research Article]. 2017 [cited 2 abr 2021]; 13(147): 1-13. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5450340/>

53. Martínez M, Pepper A, Pilla R. *et al.* Effect of sequentially fed high protein, hydrolyzed protein, and high fiber diets on the fecal microbiota of healthy dogs: a cross-over study. *anim microbiome*. [Internet] 2021 [cited 15 Jun 2022] 3, 42. Available in: <https://animalmicrobiome.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42523-021-00101-8>
54. Aashish R, Shmalberg J, Tanprasertsuk J, Perry L, Massey D, et al. Characterization of gut microbiomes of household pets in the United States using a direct-to-consumer approach. *PLOS ONE* [Internet]. 2020 [cited 10 Jul 2022] 15(2). Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0227289>
55. Barraza S, Meza C, García C, Ávila V, Vaca F, Díaz C, et al. Unveiling the Fecal Microbiota in Two Captive Mexican Wolf (*Canis lupus baileyi*) Populations Receiving Different Type of Diets. *Biology* [Internet]. 2021 [cited 15 Jun 2022] 10(7):637. Available in: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/7/637>
56. Bragg M, Freeman E, Lim H, Songsasen N & Mulet C. Gut Microbiomes Differ Among Dietary Types and Stool Consistency in the Captive Red Wolf (*Canis rufus*). *Microbiol.* [Internet] 2020. [cited 11 abr 2021] Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.590212/full>
57. Li Q, Lauber C, Czarnecki-Maulden G, Pan Y, Hannah S. Effects of the dietary protein and carbohydrate ratio on gut microbiomes in dogs of different body conditions. *MBio*. [Internet] 2017 [cited 20 Aug 2022]. Available in: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/mBio.01703-16>
58. Salas A, Jeusette I, Castillo I, Manuelian C, Lionnet C, et al. Fecal microbiota composition changes after a BW loss diet in Beagle dogs. *J Anim Sci.* [Internet] 2018 [cited 20 Aug 2022]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6095273/>
59. Alhinai E, Walton G, Commane D. The Role of the Gut Microbiota in Colorectal Cancer Causation. *Int J Mol Sci.* [Internet] 2019 [cited 15 Jun 2022] 20(21). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862640/>
60. Serrano K. & Díaz M. Dieta Barf: ventajas y desventajas de su formulación en diferentes patologías. [Internet] 2022 [cited 15 Jun 2022]. disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/4793>

61. Moon C, Young W, Maclean P, Cookson A & Bermingham E. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. *Microbiologyopen*. [Internet] 2018 [cited 12 Jul 2022] 7(5). Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mbo3.677>
62. Runesvärd E, Wikström C, Fernström L & Hansson I. Presence of pathogenic bacteria in faeces from dogs fed raw meat-based diets or dry kibble. *Veterinary Record*. [Internet] 2020. [cited 20 Aug 2022] 187(9). Available in: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1136/vr.105644>
63. Ramos C, Kamei C, Viegas F, de Melo Barbieri J, Cunha J, et al. Fecal Shedding of Multidrug Resistant *Escherichia coli* Isolates in Dogs Fed with Raw Meat-Based Diets in Brazil. *Antibiotics (basel)*. [Internet] 2021 [cited 15 Jun 2022] 11(4):534. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35453285/>
64. Chaitman J, Gaschen F and Habil. Fecal Microbiota Transplantation in Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. [Internet] 2021 [cited 15 mar 2022]; Volume 51, Issue 1, Pages 219-233. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561620301121?via%3Dihub>
65. Thomson, P, Santibáñez R, Rodríguez C, Flores C, & Garrido D. Differences in the composition and predicted functions of the intestinal microbiome of obese and normal weight adult dogs. *Peer J* [Internet] 2022 [cited 20 Aug 2022], 10, 26 95. Available in: <https://peerj.com/articles/12695/>
66. Rostaher A, Morsy Y, Favrot C, Unterer S, Schnyder M, et al. Comparison of the Gut Microbiome between Atopic and Healthy Dogs—Preliminary Data [Internet] 2022 [cited 20 Aug 2022], 12 , 2377. <https://doi.org/10.3390/ani12182377> available in: <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/18/2377>
67. Rodrigues A, Patterson A, Diesel A, Lawhon S, Ly H, et al. (2016). El microbioma de la piel en perros sanos y alérgicos. *PloSone*, [Internet] 2016 [cited 20 Aug 2022] 9 (1), e83197. Available in <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083197>
68. Chermprapai S, Ederveen T, Broere F, Broens E, Schlotter Y, et al. The bacterial and fungal microbiome of the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis and the

- impact of topical antimicrobial therapy, an exploratory study *Microbiology veterinary* [Internet] 2019 [cited 20 Aug 2022] 229 , 90-99. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113518311076>
69. Xu J, Becker A, Luo Y, Zhang W, Ge B, et al. The Fecal Microbiota of Dogs Switching to a Raw Diet Only Partially Converges to That of Wolves. *Microbiol.* [Internet] 2021 [cited 05 Sep 2022]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.701439/full>
70. Moinard A, Payen C, Ouguerram K, André A, Hernandez J, et al. Effects of high-fat diet at two energetic levels on fecal microbiota, colonic barrier, and metabolic parameters in dogs. *Frontiers in Veterinary Science.* [Internet] 2020 [cited 05 Sep 2022] Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2020.566282/full>
71. Craddock H, Godneva A, Rothschild D, Motro Y, Grinstein D, et al. Phenotypic correlates of the working dog microbiome. *NPJ Biofilms and Microbiomes.* [Internet] 2022, [cited 05 Sep 2022] 8(1). Available in: <https://www.proquest.com/healthcomplete/docview/2705219730/fulltextPDF/B18D3E1CF2AF4E47PQ/3?accountid=50438>
72. Recio S. Dietas completas convencionales vs. dietas basadas en ingredientes crudos o escasamente procesados destinadas a animales de compañía. Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria, trabajo de grado. [Internet] 2018, [cited 05 Sep 2022] disponible en: <https://zagan.unizar.es/record/76726?ln=es#>