

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Evaluación de la inocuidad microbiológica de los alimentos secos para mascotas y el efecto del proceso de extrusión en la digestibilidad

Astrid Leiva Gabriel

Proyecto de Graduación para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2019

Este proyecto de graduación fue aceptado por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

<hr/> Ph.D. Andrea Molina Alvarado	Directora del Proyecto de Graduación
<hr/> Lic. Alejandra Jiménez Picado	Miembro del tribunal
<hr/> Ph.D. Sergio Salazar Villanea	Miembro del tribunal
<hr/> Ph.D. Andrea Brenes Soto	Miembro del tribunal
<hr/> M.Sc. Carlos Arroyo Oquendo	Director de la Escuela
<hr/> Bach. Astrid Leiva Gabriel	Sustentante

DEDICATORIA

A mi mamá y mis hermanos, los pilares de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos especiales a Don Ever Alfaro y a la Dra. Natassja Céspedes, por su aporte profesional y experiencia.

M.Sc. Fabio Granados, por despertar en mi la curiosidad científica, y junto con la Lic. Graciela Artavia, por su colaboración en el método de aminoácidos.

A mi tutora del proyecto de graduación, Ph.D. Andrea Molina, por la paciencia y el apoyo.

Ph.D. Sergio Salazar, Ph.D. Andrea Brenes, Lic. Alejandra Jiménez, por colaborar en el proceso de revisión de este proyecto, cuyas sugerencias ayudaron a mejorar el producto final.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
ESTADO DEL CONOCIMIENTO	3
Antecedentes en Costa Rica.....	3
Clasificación de los alimentos para mascotas.....	3
Parámetros nutricionales de los alimentos para perros y gatos.....	4
Proceso de elaboración de los alimentos secos (extrusado y peletizado) ..	5
Efecto del proceso de extrusión sobre la digestibilidad de los alimentos para mascotas.....	6
Enterobacterias en alimentos para animales	7
Prevalencia de <i>Salmonella sp.</i>	8
Buenas prácticas de manufactura	9
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA.....	11
Diagnóstico de buenas prácticas de manufactura (BPM)	11
Evaluación de la calidad microbiológica.....	11
Evaluación de la digestibilidad por pepsina	12
Perfil de aminoácidos.....	12
Análisis estadístico	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
CAPITULO 1: EVALUACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM).....	14
CAPITULO 2: EVALUACIÓN DE LA INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA	24

CAPITULO 3: EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN LA DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS PARA PERROS	27
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	32
REFERENCIAS.....	33
ANEXOS	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Parámetros nutricionales en porcentajes mínimos recomendados en los alimentos para perros y gatos.	4
Cuadro 2. Evaluación de los establecimientos A y B, por medio del RTCA 65.05.63:11, y la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal”	15
Cuadro 3. Resultados de los análisis microbiológicos, con respecto a un criterio de conformidad, en los establecimientos, por zona de muestreo.....	25
Cuadro 4. Resultados del análisis de aminoácidos en los alimentos terminados para perros adultos.....	28
Cuadro 5. Digestibilidad por pepsina de los alimentos terminados para perros, por zona de muestreo y por establecimiento.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de elaboración de alimento extruido para mascotas	5
Figura 2. Resultados de la verificación de BPM, por sección, de los establecimientos, con la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal”	16
Figura 3. Diseño y flujo de proceso de los establecimientos	19

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal.	41
---	-----------

RESUMEN

En Costa Rica, para el año 2018, se reportó una producción de 1 238 243 TM de alimentos destinados al consumo animal, y los alimentos para mascotas (perros y gatos) ocupan el quinto lugar (41 635 TM/año) y abastecen hasta el 90% del mercado nacional. Este antecedente responde al aumento de la población de perros y gatos (50,5% de los hogares poseen al menos un perro), y a un propietario más responsable y exigente en cuanto a la alimentación de sus mascotas.

Parte del proceso de elaboración de alimentos secos para mascotas, involucra una fase térmica, que en la mayoría de los casos se conoce como extrusión. Este proceso térmico (60 - 150 °C, por 120 segundos), elimina la carga microbiana, sin embargo, se puede perder calidad nutricional, al desnaturalizar proteínas y reducir la digestibilidad del alimento.

El objetivo principal de este proyecto fue evaluar la inocuidad de los alimentos secos para mascotas, y el efecto del proceso de extrusión sobre la digestibilidad. Se visitó dos establecimientos dedicados a la elaboración de alimentos para mascotas, en donde se realizó una evaluación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) con base en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 65.05.63:11): Productos utilizados en alimentación animal, Buenas prácticas de manufactura, y en general, mostraron debilidades en infraestructura, evidencia documental y prácticas post proceso.

Se recolectaron un total de 25 muestras de alimento para perro adulto, en diferentes puntos del proceso de producción (antes y después del proceso de extrusión), para evaluar la presencia y/o concentración de microorganismos patógenos (*Salmonella sp*, *E. coli*) e indicadores (microorganismos mesófilos aerobios, hongos y levaduras). Se confirmó la efectividad del proceso térmico en la eliminación de *Salmonella sp* y *E.coli*, al pasar de una y dos muestras positivas antes del proceso extrusión a un 100% de ausencias postproceso, respectivamente.

Se evaluó el efecto del proceso de extrusión en la digestibilidad *in vitro* de los alimentos para perros en muestras antes y después del proceso térmico (valores de digestibilidad, 69,77 y 71,86 g/100 g, respectivamente), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas.

Se puede afirmar, que la correcta implementación de BPM, permite a los elaboradores de alimentos para animales garantizar la comercialización de un producto de óptima calidad (textura, olor, composición nutricional, entre otros) e inocuidad.

INTRODUCCIÓN

La globalización de los mercados y el carácter cada vez más exigente del consumidor en materia alimentaria, ha hecho indispensable la creación de reglamentos y sistemas que aseguren la producción de alimentos inocuos (Días y Uría 2009, Badilla 2012).

Dada la estrecha relación que existe entre los alimentos para animales y los alimentos para consumo humano, en función de un sistema integral de producción bajo el lema “de la granja a la mesa” (FAO-IFIF 2014). Las normas de sanidad, inocuidad y calidad, que aseguren la nula o baja incidencia de factores físicos, químicos y biológicos que causen riesgos a la salud son cada vez más estrictas (Codex Alimentarius 2008).

Calidad e inocuidad son conceptos que tienden a confundirse. La inocuidad es la incapacidad para hacer daño (Huss *et al.* 2018b), y en la industria alimentaria, este concepto está dentro de la definición de calidad, el cual se rige por las expectativas del consumidor, y los parámetros mínimos que debe cumplir un producto para su comercialización (FAO 2019). En otras palabras, en la elaboración de un alimento, se espera que este cumpla parámetros nutricionales, de textura, color y sabor, además de no afectar la salud del animal en el corto, mediano o largo plazo (Codex Alimentarius 2008, FAO 2019).

En Costa Rica, desde el año 2012, se fortaleció la normalización de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) con la adopción del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 65.05.63:11): Productos utilizados en alimentación animal, Buenas prácticas de manufactura (COMIECO 2012). Esto ha garantizado una mejora en los procedimientos de elaboración, un aumento en la calidad y garantiza la inocuidad, con evidentes efectos positivos en la nutrición y salud del animal (FAO-IFIF 2014).

Sin embargo, a pesar de contar con legislación, reglamentación y una herramienta de evaluación del cumplimiento de las BPM, se han reportado hallazgos de prevalencia de *Salmonella sp* en muestras de alimento para mascotas (3,4%), tomadas durante el período 2009 – 2014 (Molina *et al.* 2016).

Lambertini *et al.* (2016), realizaron pruebas en las que se demostraba que *Salmonella sp*, puede sobrevivir en alimentos con baja disponibilidad de agua, entre los que se incluyen alimento para mascotas con hasta un 12% de humedad. Es decir, existe un pequeño porcentaje de riesgo a la inocuidad en los alimentos para mascotas que puede generar

problemas de salud tanto al animal como al ser humano, debido a su estrecha relación de convivencia.

Según, Salazar (2008) y Maya (2016), el proceso de extrusado y/o peletizado (parte de la elaboración de alimentos secos), debe garantizar la eliminación de microorganismos del producto, al someterlo a un tratamiento térmico (60 - 150 °C), que a la vez, puede mejorar la digestibilidad del alimento, al gelatinizar los almidones presentes en los carbohidratos (van Rooijen *et al.* 2014b, Huss *et al.* 2018a). Sin embargo, la exposición a las altas temperaturas también afecta la biodisponibilidad de los nutrientes, al oxidar lípidos y desnaturalizar aminoácidos (van Rooijen *et al.* 2013, Huss *et al.* 2018a).

Por ejemplo, van Rooijen *et al.* (2013), hallaron alimentos para cachorro (4 – 14 semanas), con contenidos de lisina total por debajo del mínimo recomendado (0,90 g/100 g de materia seca) (FEDIAF 2017), lo cual puede interferir en la salud del animal y en su adecuado desarrollo, ya que la lisina es un aminoácido esencial que interviene en la absorción de calcio, en la producción de colágeno y en el desarrollo del sistema inmune (FEDIAF 2017, AAFCO 2019).

Además de la digestibilidad, la biodisponibilidad de los aminoácidos puede ser utilizado como medida de control de los tratamientos térmicos utilizados y su efecto en la calidad nutricional, así como el uso de indicadores microbiológicos es una medida de la inocuidad del producto final (Rokey *et al.* 2010, Tran *et al.* 2011, Huss *et al.* 2018a).

La presencia de microorganismos patógenos (*Salmonella sp*) y/o altas concentraciones de microorganismos indicadores de higiene (coliformes totales y fecales), en el producto terminado (Jones 2011), se pueden relacionar con un fallo del proceso de extrusión o bien, con contaminación cruzada por fallas en el sistema de BPM (Lambertini *et al.* 2016a).

En Costa Rica, se ha evaluado la presencia de microorganismos patógenos en muestras de alimento terminado para mascotas (2009 – 2014) y se reportó 3,4% de prevalencia de *Salmonella sp* (n=89) (Molina *et al.* 2016), sin embargo, el estudio no fue integral al relacionar las BPM con la prevalencia de microorganismos. Por tanto, para obtener información relevante sobre los establecimientos dedicados a la elaboración de productos destinados al consumo de perros y gatos en el país, se debe realizar un diagnóstico más exhaustivo, que permita la planificación de medidas en función de garantizar la inocuidad y la calidad nutricional del producto.

ESTADO DEL CONOCIMIENTO

Antecedentes en Costa Rica

La población de perros y gatos en Costa Rica, reportada para el año 2018 es de 1 400 000 y 400 000, respectivamente (CIAB 2018), en donde el 50,5% de los hogares poseen al menos un perro (WAP 2016). En el mismo informe se reportó que el 76,5% de los hogares ofrece a su perro alimento balanceado es decir, existe una mayor tendencia en la población sobre la tenencia responsable de mascotas, donde efectivamente el tema de la alimentación está incluido.

En concordancia con lo anterior, la Cámara de Industriales de Alimentos Balanceados (CIAB), describe que la producción de alimento balanceado total en Costa Rica es de 1 238 243 TM/año, de los cuales 41 635 TM/año pertenece a la producción de alimento balanceado destinado al consumo de perros y gatos (quinto lugar en la producción) (CIAB 2018).

Por otro lado, la Dirección de Alimentos para Animales (DAA), del Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA), reporta 129 establecimientos activos dedicados a la elaboración de alimento balanceado, de los cuales 37 se dedican a la producción de alimento para mascotas (Feednet 2015, Corrales 2017).

Clasificación de los alimentos para mascotas

El objetivo de un alimento balanceado para mascotas es ofrecer una ración completa que supla los requerimientos diarios del animal en función de su etapa fisiológica, además, debe ser palatable e inocuo (AAFCO 2014b, FEDIAF 2017).

Los alimentos para mascotas pueden clasificarse según la calidad de los ingredientes (económicos, premiun y superpremiun), según la etapa del animal (cachorro, adulto y senil), o por su contenido de humedad (húmedos, semi – húmedos y secos) (Gómez 2013).

Los alimentos húmedos (60 – 87 % de humedad), se caracterizan por contener altos niveles de carne, lo que a la vez aporta mayor porcentaje de proteína y fósforo por kilogramo de materia seca del producto, y se consideran más palatables y digestibles que los alimentos semi – húmedos (15 – 35 % de humedad) y que los alimentos secos (6 – 11 % de humedad), sin embargo, estos últimos son más económicos (Bustos 2006, Suárez 2016).

Entre los alimentos secos, se incluyen las galletas, los pellets y las croquetas o extruidos, lo que involucra un proceso de cocción como parte de su elaboración, lo que contribuye junto al uso de preservantes y de ácidos orgánicos a prevenir el crecimiento microbiano y aumentar la vida útil del producto (Salazar 2008, Gómez 2013).

Parámetros nutricionales de los alimentos para perros y gatos

Los alimentos para perros y gatos deben cumplir con parámetros nutricionales mínimos (según etapa fisiológica), que les permita una calidad de vida óptima, y un buen estado de salud (FEDIAF 2017, Huss *et al.* 2018b). El Cuadro 1, presenta los valores de algunos nutrientes esenciales para el desarrollo metabólico del animal. La proteína cruda, el extracto etéreo, el calcio y el fósforo, son de declaración obligatoria, junto a la humedad, la energía y el contenido de sal (AAFCO 2019).

Cuadro 1. Parámetros nutricionales en porcentajes mínimos recomendados en los alimentos para perros y gatos.

Nutriente	Perros		Gatos	
	Adultos (mantenimiento)	Crecimiento y Reproducción	Adultos (mantenimiento)	Crecimiento y Reproducción
Proteína cruda (%)	18,00	22,50	26,00	30,00
Arginina (%)	0,51	1,00	1,04	1,24
Lisina (%)	0,63	0,90	0,83	1,20
Taurina (%)	NI	NI	0,10	0,10
Extracto etéreo (%)	5,50	8,50	9,00	9,00
Ácido linoleico (%)	1,10	1,30	0,60	0,60
Ácido eicosa-pentaenoico + ácido docohexanoico (%)	NI	0,05	NI	0,01
Calcio (%)	0,50	1,20	0,60	1,00
Fósforo (%)	0,40	1,00	0,50	0,80

Modificado de FEDIAF (2017) y AAFCO (2019). Valores en base a materia seca. NI: No indica

Proceso de elaboración de los alimentos secos (extrusado y peletizado)

En la Figura 1, se muestra el flujo de proceso básico que se debería encontrar en cualquier establecimiento manufacturero de alimento balanceado para mascotas, y que involucre los procesos de acondicionamiento y de extrusión, ambos claves para obtener la croqueta.

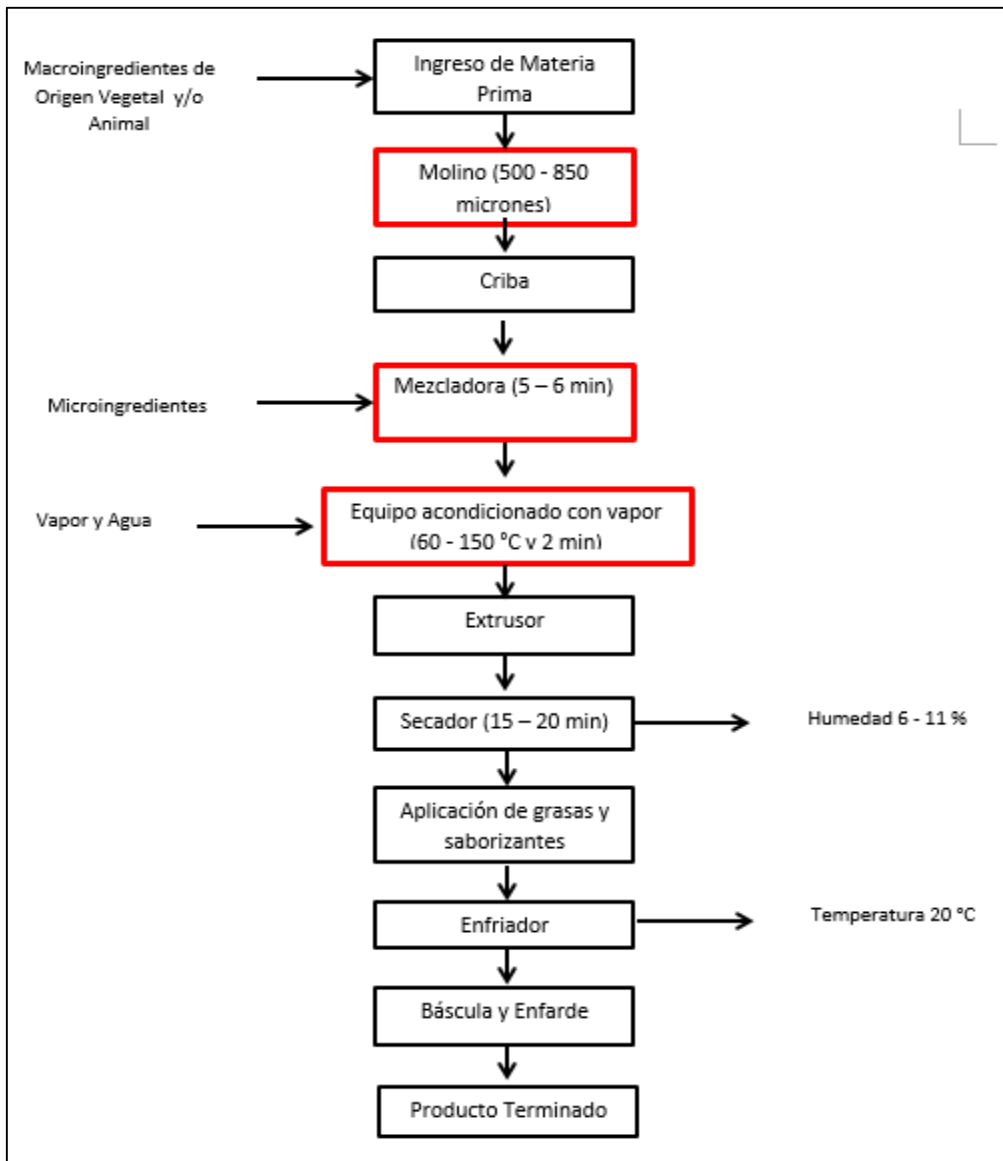


Figura 1. Proceso de elaboración de alimento extruido para mascotas. Recuadros en rojo señalan puntos de control en el proceso de extrusión. Modificado de Bustos (2006), Salazar (2008) y Maya (2016).

El inicio del flujo de proceso, es similar al de elaborar cualquier alimento balanceado: se seleccionan y se pesan los ingredientes a utilizar, posteriormente se pasan por un molino, para disminuir y homogenizar el tamaño de partícula (se recomienda de 500 a 850 micrones). Este paso, es un punto crítico para el proceso de acondicionamiento, ya que las partículas deben de poseer suficiente área de exposición para permitir la absorción del agua y que la gelatinización de los almidones permita la adhesión de las partículas y la formación de una pasta que luego se cortará en las formas y tamaños requeridos (Bustos 2006, Gómez 2013).

Después de la molienda, se continúa con el mezclado de los ingredientes (otro punto crítico), ya que la mezcla homogénea de todos los macro y micro ingredientes, debe de asegurar que, en cada bocado, el animal consuma los nutrientes requeridos (Maya 2016).

Se continúa con el proceso de acondicionamiento, en el que se aplica vapor a la mezcla por alrededor de dos minutos, se alcanzan temperaturas entre 60 - 150 °C para impulsar la gelatinización de los almidones (Bustos 2006, Salazar 2008). Inmediatamente después del acondicionamiento, se procede con la extrusión o el peletizado, ambos procesos térmicos que aglomeran las partículas presentes en la mezcla y permiten la formación de una masa a la que posteriormente se le da una nueva forma.

Estos procesos (extrusión y peletizado), tienen como ventajas, el reducir el desperdicio, aumentar la vida útil del producto y mejorar la digestibilidad de los carbohidratos (Bustos 2006, Salazar 2008, Gómez 2013).

Los procesos de secado y enfriado, tienen como objetivo disminuir la humedad (máx. 13%) y la temperatura (aproximadamente 20 °C como temperatura final) del alimento, respectivamente, con el fin de proveer al producto final las condiciones idóneas para su almacenamiento, aumentar su vida útil e inhibir el crecimiento de bacterias y hongos (Gómez 2013, Maya 2016).

Efecto del proceso de extrusión sobre la digestibilidad de los alimentos para mascotas

Se ha descrito, que el proceso de extrusión mejora la digestibilidad de los carbohidratos, al gelatinizar los almidones presentes en estos (Bustos 2006, Salazar 2008, Gómez 2013). Sin embargo, también se puede relacionar con las pérdidas de vitaminas, la oxidación de lípidos y la reducción en la disponibilidad de aminoácidos (van Rooijen *et al.* 2014a). Por ejemplo, la lisina, esencial en las dietas de perros y gatos por su función en la absorción de

calcio y el desarrollo del sistema inmune (AAFCO 2019, FEDIAF 2017), o la taurina, esencial en gatos, dado que su deficiencia puede producir cardiopatías y degeneración de la retina (FEDIAF 2017).

Un indicador de uso común para determinar la calidad del alimento es la evaluación de la digestibilidad, es decir, medir la proporción de nutrientes disponibles para su absorción, debido a que no todos los nutrientes se absorben y se utilizan en la misma medida (Malca *et al.* 2006). Por tanto, se debe de mantener condiciones óptimas y estandarizadas de procesamiento, para disminuir los efectos adversos y favorecer aquellos que son deseables (Lankhorst *et al.* 2007, van Rooijen *et al.* 2014a).

Por otro lado, el proceso térmico aplicado en la elaboración de alimentos extrusados, tiene a su favor eliminar o disminuir la carga de microorganismos, debido a la cocción previa y la disminución de humedad, lo que, hasta este punto, garantiza la inocuidad microbiológica del alimento (Gómez 2013, Maya 2016).

Las temperaturas alcanzadas durante el proceso de extrusión son capaces de eliminar bacterias patógenas como *Salmonella* que podrían encontrarse en el alimento. No obstante este proceso tiene poco o ningún efecto contra algunos contaminantes químicos asociados a esta matriz, como es el caso de las micotoxinas, las cuales se ven poco afectadas por las altas temperaturas (Gazzotti *et al.* 2015).

Enterobacterias en alimentos para animales

Salmonella es una bacteria gram – negativa, y se le considera uno de los principales causantes de enfermedades de origen alimentario (Molina y Granados-Chinchilla 2015, Molina *et al.* 2016). Es responsable de manifestaciones clínicas en humanos y animales (fiebres entéricas y gastroenteritis) (Martínez y Verhelst 2015, FDA 2018), y se transmite principalmente por el consumo oral de alimentos o agua contaminados (FDA 2013). Tiene la capacidad de adaptarse a diversas condiciones, por lo que puede sobrevivir en alimentos con baja disponibilidad de agua (Lambertini *et al.* 2016a, Molina *et al.* 2016).

Los coliformes totales incluyen microorganismos de los géneros, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*, y se encuentran en variedad de ambientes como el suelo y el agua, por lo que su alta presencia en los productos es un indicador de falta de higiene (ANMAT 2003).

La concentración de coliformes fecales, en específico *E. coli*, se utiliza como indicador de contaminación fecal, ya que, se encuentra en las heces de los animales y humanos. Su

presencia en alimentos alerta sobre un posible riesgo a la salud humana y animal (Puerta-García y Mateos-Rodríguez 2010).

La presencia de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras, son indicadores de vida útil, es decir, aunque no son microorganismos patógenos, su presencia puede acelerar la degradación de los alimentos y reducir su vida de anaquel (Herrera *et al.* 2009).

Prevalencia de *Salmonella sp*

Al ser *Salmonella sp*, un microorganismo con una alta patogenicidad, con un fuerte componente zoonótico y que puede sobrevivir en condiciones adversas (Lambertini *et al.* 2016b, Molina *et al.* 2016), se han realizado varios estudios que permiten monitorear la tendencia de la contaminación por *Salmonella* en los alimentos para animales.

Durante los años 2002 – 2009, como parte del Programa de Contaminantes de Alimentos de la FDA, se recolectaron 2 058 muestras, que incluían alimentos, golosinas y suplementos para mascotas, y se obtuvo una prevalencia del 12,5% en *Salmonella sp* (Li *et al.* 2012).

En Polonia, se realizó una investigación sobre la calidad de los alimentos balanceados destinados al consumo animal durante los años 2007 - 2010, y los investigadores reportaron una prevalencia de *Salmonella sp* de 1,4% en alimentos para animales domésticos en general (Kukier *et al.* 2012).

En Costa Rica, Herrera *et al.* (2009), realizaron un muestreo en alimentos para perros adultos ($n= 30$), y evaluaron la carga microbiana presente (*Salmonella sp*, *Listeria sp*, *Clostridium sp*, coliformes totales y fecales), y se obtuvo resultados negativos para la presencia de estos microorganismos. Sin embargo, los investigadores concluyeron que aún se necesitan más estudios en esta área.

Por otro lado, Molina *et al.* (2016), durante el periodo 2009 – 2014, como parte de un estudio de vigilancia de *Salmonella* en alimentos para animales, reportaron que un 3,4% de las muestras recolectadas de alimento para mascotas ($n= 89$) estaban contaminadas con *Salmonella sp*.

El aumento en la tenencia de mascotas en los hogares (WAP 2016), y la relación tan estrecha entre los perros y los seres humanos, convierte a *Salmonella sp* en un riesgo para la salud pública. En los Estados Unidos en el periodo 2006 – 2008, se reportaron 70 personas con salmonelosis, relacionados con *Salmonella schwarzengrund* en alimentos

secos para perros (FDA 2018). Además, también en Estados Unidos, entre el 2015 y 2016, se recolectaron 196 muestras de alimentos para perros y gatos, en donde el 8% fue positivo para *Salmonella sp.* (Huss *et al.* 2018a).

Buenas prácticas de manufactura

En la industria alimentaria, las buenas prácticas de manufactura son la base para reducir los riesgos a la inocuidad, desde el ingreso de las materias primas, hasta la salida del producto terminado del establecimiento de producción (Cabella y Eguren 2012).

A pesar de existir procedimientos de cocción durante la elaboración de los alimentos para mascotas, que eliminan casi en su totalidad la presencia de microorganismos, puede existir una recontaminación en los procesos siguientes por fallos en la aplicación de las buenas prácticas de manufactura (superficies contaminadas, personal con poca higiene, mal control de plagas, entre otros). Además existen riesgos asociados a los puntos críticos de control (molienda, mezclado, extrusión, secado y enfriado) (Jones 2011, Lambertini *et al.* 2016b).

Costa Rica en el 2012 adoptó el RTCA 65.05.63:11, sobre Buenas prácticas de manufactura en los productos utilizados en la alimentación animal, lo que permitió fortalecer el sistema de vigilancia de calidad e inocuidad, y aportó la herramienta que permite la calificación del cumplimiento de las normas (COMIECO 2012). Sin embargo, existen establecimientos que no lo han implementado al 100%. Por tanto, este tipo de estudios son necesarios como un apoyo al sector agroalimentario, y como política de vigilancia de la normativa ya existente en el país.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la inocuidad microbiológica del proceso de elaboración de alimentos balanceados secos para mascotas y el efecto del proceso de extrusión en la digestibilidad *in vitro* de los mismos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el diagnóstico de buenas prácticas de manufactura en establecimientos dedicados a producción de alimentos balanceados secos para mascotas.
- Evaluar la presencia y/o la concentración de microorganismos patógenos (*Salmonella sp*) e indicadores (coliformes totales, fecales, microorganismos aerobios y hongos y levaduras) durante el proceso de elaboración de alimento balanceado para mascotas (perros y gatos) en establecimientos nacionales.
- Evaluar el efecto del proceso de extrusión (antes y después de pasar por el proceso térmico) sobre la digestibilidad *in vitro* de los alimentos balanceados para mascotas (perros y gatos).

PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA

El proyecto de graduación se ejecutó en dos establecimientos dedicados a la elaboración de alimento balanceado para mascotas. A cada uno de los establecimientos se les realizó una visita mensual, durante cinco meses.

Diagnóstico de buenas prácticas de manufactura (BPM)

Se realizó un diagnóstico preliminar con el uso de la herramienta aportada por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 65.05.63:11) y la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal” (Anexo 1) que utiliza la Dirección de Alimentos para Animales (DAA), en las inspecciones oficiales, para evaluar el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura.

Evaluación de la calidad microbiológica

Se realizaron muestreos constantes del producto en distintas fases del proceso (se incluyeron como puntos de muestreo un área después del proceso de mezclado y otro en el producto terminado), con un mínimo de dos muestras de un mismo lote en producción, y un mínimo de cinco repeticiones por establecimiento. El muestreo se realizó de acuerdo a las técnicas y procedimiento descrito en AAFCO (2014a).

A cada una de las muestras se les realizó los siguientes análisis en el laboratorio de microbiología del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA): determinación de *Salmonella sp*, con base en los métodos de la AOAC 967.25 al 967.28, 994.04 y 978.24 (AOAC 2019), cuantificación de coliformes totales y *Escherichia coli* por la técnica de NMP, con base en los métodos del capítulo 4 del Bacteriological Analytical Manual, respectivamente (BAM 2018).

Además de recuento de microorganismos mesófilos aerobios, hongos y levaduras con base al método descrito en los capítulos 3 y 18 del Bacteriological Analytical Manual, respectivamente (BAM 2018).

Evaluación de la digestibilidad por pepsina

A las mismas muestras se les realizó el análisis de digestibilidad por pepsina (se incluyó muestras antes del proceso térmico y al producto terminado), en base en el método de la AOAC 971.09, en el laboratorio de química del CINA.

Perfil de aminoácidos

Se realizó un análisis del perfil de aminoácidos a 20 alimentos terminados para perro adulto que se comercializan en el mercado nacional. El análisis utilizó como base el método descrito por Artavia y Granados-Chinchilla (2018), para la preparación de la muestra y una modificación del método de Bartolomeo y Maisano (2006).

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva para ilustrar la evidencia encontrada en la evaluación de las BPM, en cada establecimiento. Se analizó estadísticamente la prevalencia de cada uno de los microorganismos, y el promedio de la digestibilidad del producto, por zona de muestreo y por establecimiento, así como un análisis general de todas las muestras obtenidas.

Por otro lado, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), por medio del software Infostat versión 12.0.0.0, en la concentración de coliformes totales, recuento de microorganismos mesófilos aerobios y recuento de hongos, en el producto terminado, por establecimiento. También, se realizó ANOVA en la digestibilidad del producto antes y después de pasar por el proceso de extrusión. Se consideró un alfa del 0,05 en los siguientes modelos estadísticos:

- En el caso de la calidad microbiológica el modelo utilizado fue:

$$y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ij}$$

En donde,

y_{ij} , es concentración del microorganismo (coliformes totales, mesófilos aerobios y hongos), asociado a la i -ésimo producto terminado del j -ésimo establecimiento.

μ , es la media general.

A_i , es la media de la i -ésimo producto terminado.

B_j , es la media del j-ésimo establecimiento.

AB_{ij} , es la interacción asociado a la i-ésimo producto terminado del j-ésimo establecimiento.

ε_{ij} , es el error aleatorio asociado a i-ésimo producto terminado del j-ésimo establecimiento.

- En el caso del efecto de extrusión en la digestibilidad del producto (antes y después de proceso térmico) se utilizó el siguiente modelo:

$$y_i = \mu + C_i + \varepsilon_i$$

En donde,

y_i , es el valor de la digestibilidad, asociado a i-ésima zona de muestreo (antes y después del proceso de extrusión).

μ , es la media general.

C_i , es la media de la i-ésima zona de muestreo.

ε_i , es el error aleatorio asociado a i-ésima zona de muestreo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 1: EVALUACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM)

Las buenas prácticas de manufactura son la base de un sistema de inocuidad en la industria alimentaria, por tanto su verificación es esencial para avalar una correcta implementación (Huss *et al* 2018b).

Se visitó y se evaluó las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en dos establecimientos dedicados a la elaboración de alimentos para perros adultos y cachorros, clasificados como establecimientos pequeños, al tener una producción anual menor a 20 000 TM (SENASA 2017).

En el RTCA 65.05.63:11, se verifica un total de 80 puntos, en donde se evalúa desde la documentación oficial, el diseño de la planta, las instalaciones, el proceso de producción, e inclusive la fase post proceso, entre otros, los cuales se dividen en tres niveles de evaluación: 5 Críticas (CR), 56 Mayores (MY) y 19 Menores (MN).

En el Cuadro 2, se observan los resultados de la evaluación realizada a cada uno de los establecimientos, utilizando como herramienta la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal”. En el caso del establecimiento A, debido al número de no conformidades mayores encontradas al momento de realizar la evaluación, no podría acceder a un Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura (en caso de obtener los mismos resultados en una evaluación oficial realizada por funcionarios de la DAA), hasta no presentar e implementar un plan de acciones correctivas, revisado y aprobado por la autoridad oficial.

Cuadro 2. Evaluación de los establecimientos A y B, por medio del RTCA 65.05.63:11, y la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal”.

Niveles de evaluación	Establecimiento		Niveles de aceptación (N° de No Conformidades (NC))
	A	B	
Críticas (CR)	0	0	0
Mayores (MY)	27	14	Máx 14
Menores (MN)	3	1	Máx 10
Total	30	15	-

En la Figura 2 se detalla en qué puntos específicos, cada establecimiento obtuvo una no conformidad (NC). En la sección 2, que trata de Documentación, ambos establecimientos incumplen los puntos 2.2 (poseer un Manual de BPM, aprobado, vigente y actualizado), 2.5 (existe un programa de capacitación definida y documentada) y 2.10 (existen procedimientos de limpieza). En el establecimiento A, el Manual de BPM se encuentra desactualizado, y en el establecimiento B, aún no está vigente.

En lo referente al programa de capacitación, ninguno de los establecimientos lo tiene definido dentro de sus procedimientos, y en el caso de los procedimientos de limpieza, aunque el establecimiento A lo define en su Manual de BPM, este no menciona frecuencia ni responsables, el establecimiento B, por otro lado, no lo tiene vigente. Además, el establecimiento A, incumple los puntos 2.3 (existen registros actualizados), 2.4 (se mantienen los registros de control de parámetros de proceso) y 2.9 (registro de las verificaciones internas, externas u oficiales y de las acciones correctivas).

	ESTABLECIMIENTO A											ESTABLECIMIENTO B																																
2									2.10	2.9	2.8	2.7	2.6	2.5	2.4	2.3	2.2	2.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	2.10																
3	3.19	3.18	3.17	3.16	3.15	3.14	3.13	3.12	3.11	3.10	3.9	3.8	3.7	3.6	3.5	3.4	3.3	3.2	3.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8	3.9	3.10	3.11	3.12	3.13	3.14	3.15	3.16	3.17	3.18	3.19						
4												4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7																			
5																	5.3	5.2	5.1	5.1	5.2	5.3																						
6																				6.4	6.3	6.2	6.1	6.1	6.2	6.3	6.4																	
7																					7.1	7.1																						
8																						8.7	8.6	8.5	8.4	8.3	8.2	8.1	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7									
9																						9.2	9.1	9.1	9.2																			
10																						10.1	10.1																					
11																						11.2	11.1	11.1	11.2																			
12																						12.1	12.1																					
13																						13.2	13.1	13.1	13.2																			
14																						14.1	14.1																					
15																						15.3	15.2	15.1	15.1	15.2	15.3																	
16																						16.3	16.2	16.1	16.1	16.2	16.3																	
17																						17.1	17.1																					
18																						18.3	18.2	18.1	18.1	18.2	18.3																	
19																						19.4	19.3	19.2	19.1	19.1	19.2	19.3	19.4															
20																						20.2	20.1	20.1	20.2																			
21																						21.2	21.1	21.1	21.2																			
22																						22.2	22.1	22.1	22.2																			

CÓDIGO DE COLORES	
Conforme	Verde
No Conformidad Menor	Amarillo
No Conformidad Mayor	Naranja
No Conformidad Crítica	Rojo
No Aplica	Azul
No Visto	Púrpura

Figura 2. Resultados de la verificación de BPM, por sección, de los establecimientos, con la “Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal”. 2. Documentación, 3. Instalaciones, 4. Equipo, 5. Personal, 6. Control de Plagas, 7. Flujo de Producción, 8. Materias Primas, 9. Almacenamiento de Ingredientes de Riesgo, 10. Agua, 11. Formulación, 12. Molienda, 13. Adición de Ingredientes, 14. Mezclado, 15. Empaque y Etiquetado, 16. Almacenamiento, 17. Reprocesos, 18. Despacho, Distribución y Transporte, 19. Controles de Calidad en Inocuidad, 20. Trazabilidad, 21. Verificación de BPM, 22. Medio Ambiente (Anexo 1).

En la sección 3, que evalúa las instalaciones, la sección más amplia de la Guía de Verificación, en donde los establecimientos coinciden en NC en los siguientes puntos: 3.10 (sobre el diseño de techos, pisos, paredes, ventanas y puertas), y 3.13 (contar con un sistema para regular el acceso de personas y vehículos a las instalaciones).

Ambos establecimientos son instalaciones viejas, con muy pocas o nulas remodelaciones, además en ambos casos, el diseño de las ventanas y las puertas no representan una barrera física contra las aves, y por tanto, se favorece la exposición tanto de las materias primas como el producto terminado.

Se debe de recordar, que la primera defensa contra agentes externos (específicamente peligros biológicos) en un sistema de producción, son las instalaciones (Huss *et al.* 2018b), es decir, hay un punto importante de vulnerabilidad en ambos establecimientos, sumado a la inexistencia de un procedimiento de ingreso de personas y vehículos externos, ni del flujo que se debe seguir durante el recorrido por la planta.

El establecimiento A, además de incumplir los puntos anteriores, posee NC en los siguientes: 3.4 (condiciones adecuadas de acceso para personas y vehículos livianos y pesados), 3.11 (sistemas de ventilación e iluminación adecuados), 3.16 (dispone de suficientes basureros con su respectiva tapa e identificación) y 3.17 (existe un programa de mantenimiento e higiene de las instalaciones y equipos).

El primer punto (3.4), sigue muy relacionado con la falta de un procedimiento de ingreso, el segundo punto (3.11), de la misma forma se asocia con la antigüedad de las instalaciones, y los dos últimos (3.16 y 3.17) con la falta de procedimientos y registros escritos que funcionen como evidencia de las actividades que se realizan. Con respecto a esta última parte, se debe de recordar que los basureros son focos de contaminación, y por tanto, deben de estar bien identificados, y descartar los desechos con frecuencia (Cabella y Eguren 2012).

El establecimiento B. por su parte, incumplió en los puntos 3.12 (baños sanitarios, lavamanos, comedor y zona de descanso, separadas de las área de producción y descanso) y 3.15 (las superficies de trabajo y que están en contacto con los alimentos, permiten la limpieza y desinfección efectivas). El primer punto no se cumple, y se puede observar en la Figura 3, lo que puede significar un riesgo para la inocuidad del producto

terminado. En el caso del 3.15, el diseño de las instalaciones no permite una limpieza efectiva.

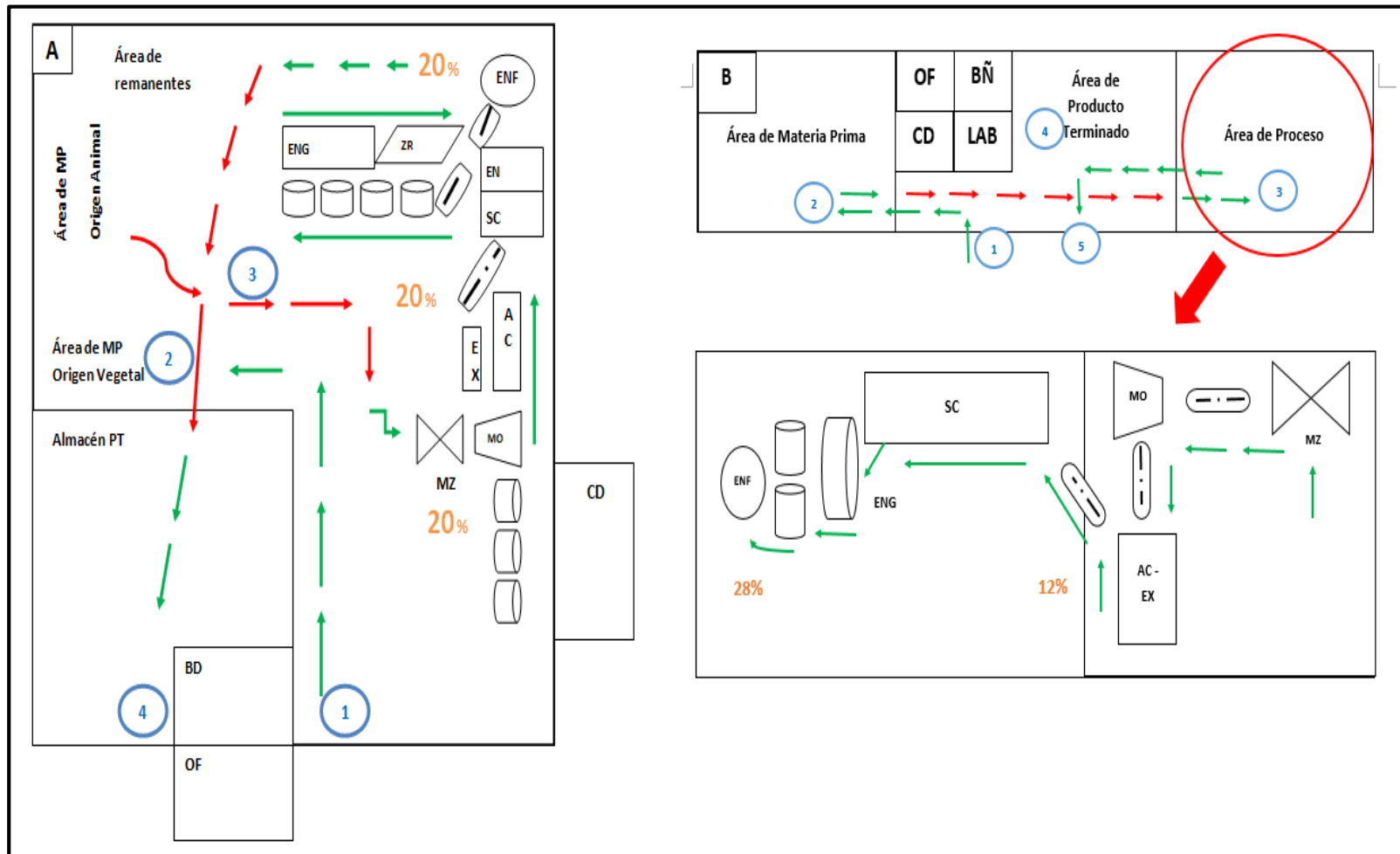


Figura 3. Diseño y flujo de proceso de los establecimientos A (izq.) y B (der.). OF: Oficina, BD: Bodega, MZ: Mezcladora, MO: Molino, CD: Área de Calderas, AC: Equipo Acondicionador, EX: Extrusor, SC: Secador, EN: Enfriador, ENG: Engrasador, ZR: Zaranda, ENF: Área de Enfarde, BÑ: Baños, MP: Materia Primas y PT: Producto Terminado. 1. Entrada de MP. 2. Área de MP. 3. Área de Proceso. 4. Área de PT. Las flechas verdes señalan el flujo de proceso correcto y las flechas rojas señalan el flujo de proceso incorrecto.

En la Figura 3, se muestra el diseño del establecimiento y el flujo del proceso. Cada área de la planta de alimentos está separada una de la otra, en el establecimiento B, inclusive hay paredes entre una y otra área, el detalle se encuentra en el flujo de proceso desde la materia prima, hasta el producto terminado en el área de almacenamiento, debido a que en ambos establecimientos se cruzan las líneas de tránsito entre el área de materias primas y el área de producto terminado (las flechas rojas en la Figura 3). Cualquier tipo de contaminación, en especial los peligros biológicos pueden ocurrir con el tránsito peatonal de los empleados o con el traslado de los equipos (Huss *et al.* 2018b).

En la sección 4, sobre generalidades de los equipos, los establecimientos coinciden en el incumplimiento del 4.3 (programa preventivo y correctivo de mantenimiento y calibración constante en los equipos de medición, como las balanzas), y 4.6 (implementación de un programa de limpieza e higiene en los equipos).

Ambos puntos, son sumamente sensibles, el primero debido a la necesidad de garantizar que los equipos de medición de materias primas y producto terminado garanticen precisión (Comisión Europea 2005), y el segundo, por un asunto de contaminación cruzada en la misma línea de proceso, entre un lote de producto y otro (EFSA 2008, Huss *et al.* 2018b). Ninguno de los establecimientos mostró evidencia concisa de la ejecución de estas actividades.

El establecimiento A, además posee NC en 4.2, en donde se falla en la recolección de evidencia (existen imanes y zarandas que se revisan rutinariamente), un punto crítico, como parte de un proceso que pretende evitar peligros físicos (Cabella y Eguren 2012, Huss *et al.* 2018b).

En el apartado 5, sobre personal, el establecimiento A incumplió los tres puntos que conforman la sección: 5.1 (programa de capacitación), 5.2 (normas de higiene del personal), y 5.3 (controles periódicos de salud). Mientras que el establecimiento B, incumplió en 5.2 y 5.3.

Como se mencionó anteriormente, los establecimientos no muestran evidencia documental de la ejecución de las actividades, y el personal colaborador, al estar directamente en contacto con el alimento, debe de asegurar su estado de salud y su capacitación en la manipulación de alimentos (Cochrane *et al.* 2016, Comisión Europea 2005).

La sección 6 (Control de plagas) se muestra en su totalidad conforme según la Guía de Verificación, debido a que documentalmente, cumplen con los requisitos, sin embargo, la herramienta no permite evaluar el sistema de control de plagas en la práctica.

La sección 7 (flujo de producción) por el contrario, se encuentra no conforme en ambos establecimientos (Figura 3). Estos apartados son determinantes para mantener la inocuidad del producto final. Ya anteriormente se había mencionado que el tránsito de personas puede favorecer la contaminación biológica (Huss *et al.* 2018b), por tanto, se debe ser estricto en mantener un flujo armonioso con los objetivos de inocuidad. Por otro lado, el control de plagas debería de contemplar el manejo de aves (reconocidas portadoras de *Salmonella sp*) e insectos dentro de la guía de verificación (EFSA 2008).

En la sección 8, sobre materias primas, no se encontró NC, es decir, ambos establecimientos han mostrado evidencia de un control sobre las materias primas utilizadas y su almacenamiento (en áreas específicas e identificadas para cada tipo) (Huss *et al.* 2018b).

En la sección 9 (almacenamiento de ingredientes de riesgo), no se encontró NC. En la sección 10 (agua), el establecimiento A, presenta una NC en 10.1 (controles de la calidad de agua), ya que su análisis de la calidad de agua se encuentra desactualizado.

En la sección 11 (formulación), ambos establecimientos incumplen el 11.1 por falta de evidencia que demuestre que existen controles de verificación de las fórmulas por parte del personal. La sección 12 (molienda), No Aplica (NA) para ninguno de los dos establecimientos. Las secciones 13 (adición de ingredientes), 14 (mezclado), 15 (empaquetado y etiquetado) y 16 (almacenamiento), no presentan NC, es decir, ambos establecimientos tuvieron una buena ejecución de su proceso de elaboración.

En la sección 17, sobre reprocesos, el establecimiento A incumple el único punto del apartado, ya que asumen que no necesitan de un procedimiento de reproceso. En la sección 18 (despacho, distribución y transporte), tampoco se presentaron NC, ya que ambos establecimientos presentan claras evidencias de control sobre la limpieza y desinfección de los vehículos encargados de transportar su producto final, los cuales pueden modificar la inocuidad del mismo (Huss *et al.* 2018b).

El apartado 19 (controles de calidad e inocuidad), el establecimiento A presenta NC en 19.1 (procedimientos adecuados para el control de la calidad de las materias primas), 19.2 (procedimiento del control de calidad del producto terminado) y 19.3 (registros del programa de control de calidad e inocuidad), porque realmente no tiene control sobre estos parámetros, es decir, utiliza materias primas sin evaluación de proveedores, además, no posee un procedimiento de ingreso y manejo de materias primas.

Este es otro punto crítico, ya que la recepción de materias primas es una entrada para peligros físicos, químicos y biológicos (EFSA 2008), y aunque a veces resulte difícil tener en control cada lote de materia prima, se debe de implementar un control de proveedores, con todas las expectativas de los ingredientes a adquirir, y de esta forma reducir riesgos potenciales (Huss *et al.* 2018b).

El establecimiento A no garantiza que el producto terminado posea las condiciones nutricionales previamente formuladas, así como que tampoco existe un control rutinario sobre la inocuidad, por tanto, tampoco hay registros, y ambas cualidades del producto terminado deben de garantizarse por la confianza que el consumidor deposita en la etiqueta del producto (Cabella y Eguren 2012), y por regulación oficial (COMIECO 2012).

En la sección 20 (trazabilidad), el establecimiento A incumple los dos puntos, 20.1 (identificación y registros adecuados que permitan la trazabilidad) y 20.2 (procedimientos de reclamos, devoluciones y retiro de productos), mientras que el establecimiento B sólo incumple 20.2, es decir, no existen procedimientos ni registros.

El establecimiento A, es el único que incumple la sección 21 (verificación de BPM), ya que no cuentan con un programa de auditorías internas (21.1), y no están ejecutando las recomendaciones emitidas por la autoridad oficial (21.2). En el apartado 22 (medio ambiente), existe una no conformidad para ambos establecimientos, ya que no existe un procedimiento claro del manejo de desechos sólidos y líquidos (22.1).

A partir de la sección 20, se podría considerar que la guía de verificación, evalúa el post-proceso, una sección con un enfoque documental, es decir, manuales, procedimientos y registros, por tanto no es de extrañar que gran parte de las NC se encuentren en esta sección, ya que la falta de procedimientos y registros es una debilidad que se viene arrastrando desde el principio, con la falta de evidencias en las secciones 4, 5, 7 y 8. Los procedimientos y registros permiten controlar el proceso de producción con las normas de

calidad e inocuidad que permitan su comercialización (COMIECO 2012, ICA 1999), y son parte esencial de un sistema de buenas prácticas de manufactura.

CAPITULO 2: EVALUACIÓN DE LA INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA

Inocuidad es la seguridad de que al ingerir un alimento, este no vaya a provocar algún daño a la salud del consumidor (EFSA 2008). En general, en la industria alimentaria se trata de reducir el riesgo de tres tipos de peligro: físicos, químicos y biológicos (Huss *et al.* 2018b).

Aunque los tres tipos son igualmente importantes, el enfoque actual en la industria de alimentos para animales se encuentra en micotoxinas, metales pesados, antimicrobianos y contaminantes biológicos (EFSA 2008, FDA 2018). A partir de este último grupo, se generan controles en dos categorías más, las encefalopatías espongiformes transmisibles y los contaminantes microbiológicos que incluyen *Clostridium sp*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, entre otros (Huss *et al.* 2018a, FDA 2018).

Tanto *Salmonella sp* como *E. coli*, son bacterias patógenas que pueden ser transmitidas a los seres humanos, ya sea por contacto con el animal o con el alimento (FDA 2018), especialmente cuando se trata de perros, ya que poseen una estrecha relación con el ser humano (EFSA 2008, Huss *et al.* 2018a).

La presencia de microorganismos como *Salmonella sp* o *E. coli* en los alimentos se vincula con desviaciones en las buenas prácticas de manufactura, tales como, deficiencias en la infraestructura, en el ingreso de personas, vehículos o en la recepción de materias primas, así como en las prácticas de higiene y en el control de plagas (Cabella y Eguren 2012, Cochrane *et al.* 2016, Huss *et al.* 2018a). Si el sistema de BPM falla en evitar el ingreso de un peligro biológico, es muy difícil de eliminar de la instalación, y por tanto se recurre a otros procesos dentro de la producción (proceso térmico), para reducir o eliminar el riesgo (Huss *et al.* 2018b).

La Figura 3 muestra el diseño de los establecimientos A y B, y el flujo de tránsito desde el ingreso de materias primas, hasta la salida del producto terminado, además de las zonas de muestreo, y el porcentaje de muestreo por zona (después del mezclador, después del extrusor y producto terminado).

Se muestreó después del proceso térmico, para demostrar la efectividad del procedimiento en la eliminación de microorganismos, y se muestreó en el producto terminado, con la finalidad de demostrar que las BPM implementadas pueden mantener la inocuidad microbiológica obtenida previamente.

En el Cuadro 3 se describe la cantidad de muestras por zona de muestreo, además los resultados de los diferentes análisis microbiológicos, con respecto a un criterio de conformidad, basado en regulación internacional, en donde se ha tomado como base el límite más estricto.

Cuadro 3. Resultados de los análisis microbiológicos, con respecto a un criterio de conformidad, en los establecimientos, por zona de muestreo.

Establecimiento	Zona de muestreo (n)	Análisis de microbiología (número de muestras no conformes con la regulación)					
		<i>Salmonella</i> sp (Ausencia en 25 g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Coliformes totales (NMP/g)	Recuento aerobio mesófilo (UFC/g)	Recuento hongos (UFC/g)	Recuento levaduras (UFC/g)
A	Después de mezclado (5)	1	2	5	5	4	1
A	Después del extrusor (8)	0	0	0	0	0	0
B	Producto Terminado (12)	0	0	1	4	1	0
B		0	0	0	0	0	0
TOTAL (25)		1	2	6	9	5	1
Regulación							
FDA (2013) y (2018)	Ausencia	Ausencia*	NI	NI	NI	NI	NI
COMIECO (2017)	Ausencia	< 3 NMP/g	NI	NI	NI	NI	NI
SAG (2018)	Ausencia	10 - 300 UFC/g	10 - 300* UFC/g	NI	NI	NI	NI
ICA (1999)	Ausencia	Ausencia*	1000 UFC/g	50000* UFC/g	5000* UFC/g	5000* UFC/g	5000* UFC/g

*Se utiliza el valor más estricto para establecer un criterio de conformidad. NI: No indica.

En la primera etapa de producción se encuentran la mayor cantidad de hallazgos, lo cual es un resultado esperado, debido a que las materias primas ya tienen su propia carga microbiológica, en especial las de origen animal, ya que tanto EFSA (2008), como Huss *et al.* (2018a), las señalan como fuentes potenciales de *Salmonella* sp, y que ya había sido demostrado anteriormente por Leiva *et al* (2018).

En la segunda etapa, se demuestra la letalidad de un proceso térmico sobre los microorganismos (Cabella y Eguren 2012; Leiva *et al.* 2018). En el caso específico de la producción de alimentos secos para perros, el proceso de extrusión, que requiere de altas

temperaturas (60 - 150 °C), por al menos dos minutos para lograr la destrucción de hasta 10³ UFC por cada 100 gramos (Huss *et al.* 2018b).

El proceso térmico a pesar de ser efectivo para eliminar la carga microbiológica existente, no elimina la posibilidad de una contaminación posterior (Leiva *et al.* 2018, Huss *et al.* 2018b), como se observa en la tercera etapa, en el caso del recuento de bacterias, hongos y levaduras, que aunque no son microorganismos patógenos, son indicadores de manipulación y de las condiciones de almacenamiento (Herrera *et al.* 2009). Cabe señalar, que entre los establecimientos, en la fase del producto terminado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

CAPITULO 3: EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN LA DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS PARA PERROS

La alimentación de los animales de compañía, como los perros y gatos, está orientada a una mejor calidad de vida y mantener un estado de salud óptimo, que le permita vivir lo máximo posible. Por tanto, cada ración ofrecida a un perro o gato, debe de asegurar que cubra los requerimientos básicos nutricionales en función de su etapa fisiológica y actividad física (Zanatta *et al.* 2011, Huss *et al.* 2018a).

En la formulación de alimentos para animales, no solo se debe tomar en cuenta la calidad de las materias primas, sino también al proceso de elaboración, ya que ambos factores intervienen en la calidad nutricional del producto terminado (Rokey *et al.* 2010, Huss *et al.* 2018a).

Tran *et al.* (2008), mencionan que el 95% de los alimentos para perros son extruidos, caracterizados principalmente por su bajo contenido de humedad (máximo 10%) (FEDIAF 2017), por su dureza y durabilidad (Tran *et al.* 2011).

Como parte del proceso de elaboración de un alimento extruido, se incluye un proceso térmico (60 – 150 °C, durante 2 minutos) con presión de vapor que mezcla, transforma y esteriliza una amplia variedad de ingredientes, para elaborar un alimento balanceado estable e inocuo (Tran *et al.* 2008, van Rooijen *et al.* 2014a).

Sin embargo, aunque el proceso de extrusión es eficiente en la eliminación de microorganismos, este mismo proceso puede reducir la disponibilidad de algunos nutrientes (Huss *et al.* 2018), como por ejemplo la desnaturalización de algunas proteínas y su consecuente efecto en la biodisponibilidad de aminoácidos (van Rooijen *et al.* 2014a). También puede causar oxidación lipídica, lo que puede disminuir el contenido de ácidos grasos esenciales como el ácido linoleico y linolenico (Tran *et al.* 2011). Además la estabilidad de algunas vitaminas se ve afectada, con una reducción de hasta el 20% (Rokey *et al.* 2010), en especial las del grupo B, la A y la E (Tran *et al.* 2008).

La reacción de Maillard, que es reconocida por su característico oscurecimiento en los alimentos sometidos a altas temperaturas, es uno de los principales responsables de la reducción de la calidad de la proteína (Rokey *et al.* 2010). Básicamente, la reacción de Maillard consiste en la formación de un enlace entre un azúcar reductor con un grupo amino libre de un aminoácido (Tran *et al.* 2011), y entre las más sensibles se encuentra la lisina,

aunque otros aminoácidos (arginina, triptófano, cisteína, metionina e histidina) también se ven afectados (Tran *et al.* 2011, van Rooijen *et al.* 2014a, Velásquez *et al.* 2015).

En el Cuadro 4, se presentan los resultados del perfil de aminoácidos de alimentos terminados para perros adultos, y se comparan con los valores recomendados por AAFCO (2019). Aunque ningún valor se encuentra por debajo del mínimo recomendado, se debe cuidar el mantener un control estricto de la temperatura de extrusión, ya que temperaturas por encima de los 180 °C, puede generar pérdidas de los nutrientes (Rokey *et al.* 2010, Tran *et al.* 2008).

Cuadro 4. Resultados del análisis de aminoácidos en los alimentos terminados para perros adultos.

Aminoácido	AAFCO 2019 (g/100 g)	Resultados del laboratorio (g/100 g)	
		Promedio	Desviación estándar
Aspartato	NI	2,55	0,72
Glutamato	NI	5,91	0,96
Serina	NI	1,00	0,62
Histidina	0,19	1,24	0,37
Glicina	NI	1,60	0,77
Treonina	0,48	0,85	0,36
Arginina	0,51	1,35	0,56
Taurina	NI	0,17	0,03
Alanina	NI	1,01	0,32
Tirosina	NI	1,07	0,40
Cistina	NI	0,90	0,20
Valina	0,68	0,89	0,29
Metionina	0,33	0,47	0,17
Fenilalanina	0,83	0,94	0,21
Isoleucina	0,38	0,83	0,14
Leucina	0,68	3,16	0,27
Lisina	0,63	1,12	0,52

NI: No indica. Valores mínimos recomendados por AAFCO (2019).

Un indicador de uso común para determinar la calidad del alimento es la evaluación de digestibilidad, es decir, medir la proporción de nutrientes disponibles para su absorción, debido a que no todos los nutrientes se absorben y se utilizan en la misma medida (Malca *et al.* 2006). En el Cuadro 5, se presentan los datos obtenidos a partir del análisis de digestibilidad por pepsina realizado a alimentos para perros adultos, además de humedad, proteína cruda y extracto etéreo.

Lo primero que se puede observar, es el cambio en el contenido de humedad en cada una de las fases, hasta obtener menos del 10%, el cual es uno de los objetivos del proceso de extrusión (Tran *et al.* 2011). Los valores de proteína están por debajo de lo recomendado, sin embargo, se puede asociar a problemas en la formulación.

Cuadro 5. Digestibilidad por pepsina de los alimentos terminados para perros, por zona de muestreo y por establecimiento.

Zona de muestreo	Establecimiento (n)	Humedad (g/100g)	Proteína cruda (g/100g)	Extracto Etéreo (g/100g)	Digestibilidad (g/100g)
Después del mezclado	A (5)	11,45	16,71	8,43	69,77
	B (0)	NR	NR	NR	NR
	\bar{x}	11,45	16,71	8,43	69,77
Después de la extrusión	A (5)	12,67	16,49	8,29	70,85
	B (3)	17,81	13,46	7,55	65,60
	\bar{x}	14,87	15,19	7,97	68,60
Producto Terminado	A (5)	7,71	16,23	12,87	71,17
	B (7)	10,47	13,48	12,38	72,36
	\bar{x}	9,32	14,62	12,59	71,86
Valores recomendados en producto terminado					
FEDIAF (2017)		Máximo 10	21 – 18	5,50	80,00
AAFCO (2019)		Máximo 10	18,00	5,50	80,00

NR: No realizado.

El contenido de extracto etéreo aumenta desde “Después del extrusor” hasta “Producto terminado”, debido a que se le agrega saborizantes y grasa en un paso posterior a la extrusión. Finalmente se tienen los resultados de digestibilidad por pepsina, en donde no hay diferencias estadísticamente significativas entre las zonas de muestreo, en especial antes y después del proceso térmico, lo cual coincide con los resultados obtenidos por van Rooijen *et al.* (2014a) y Tran *et al.* (2008).

Por otro lado, en los alimentos para perros y gatos, se recomienda una digestibilidad igual o superior al 80%, ya que a mayor digestibilidad, mayor aprovechamiento por parte del animal (Malca *et al.* 2006, FEDIAF 2017, AAFCO 2019), situación que no se cumple en ninguno de los establecimientos, lo cual se relaciona a la calidad de las materias primas (Huss *et al.* 2018a). Una formulación estándar de un alimento para perros incluye tanto materias primas de origen vegetal como de animal, las primeras se caracterizan por un menor contenido proteico y una menor disponibilidad de aminoácidos esenciales (van Rooijen *et al.* 2013). Las materias primas de origen animal, provienen de la industria del

rendering, el cual ya involucra un proceso térmico previo (133 °C por 20 minutos), que reduce la calidad de la proteína (Leiva *et al.* 2018).

CONCLUSIONES

Las instalaciones, el ingreso y tránsito de personas y vehículos, la manipulación de las materias primas y el producto terminado, el control de plagas y los procedimientos de limpieza, son los principales puntos que amenazan la inocuidad de un producto. Aun así, el control que presentan los establecimientos en parte de su proceso de elaboración (mezclado, empaque y etiquetado, almacenamiento, distribución y transporte), son evidencia de un compromiso de mejora en la correcta aplicación de las BPM.

Las buenas prácticas de manufactura son la base de la inocuidad de los alimentos, y su correcta implementación colabora en la gestión de riesgos. El proceso térmico al que es sometido el alimento seco para perros, es efectivo en la eliminación de microorganismos, y no afecta la digestibilidad de los nutrientes, por tanto, la prevalencia de microorganismos, ya sean patógenos o indicadores en el alimento terminado, se asocia con contaminación cruzada y una desviación en el programa de buenas prácticas de manufactura.

RECOMENDACIONES

La aplicación de las buenas prácticas de manufactura es más que un requisito legal para la elaboración y distribución de alimentos para animales. Es un sistema que permite mejorar el proceso de producción continuamente. Por tanto, se recomienda, a las fábricas de alimento para mascotas gestionar un plan que les permita ir corrigiendo las no conformidades presentes y un sistema de mejora continua. Se debe de prestar especial atención a la capacitación del personal, registrar la información, elaborar procedimientos claros e implementarlos, y seguir las observaciones del ente oficial.

REFERENCIAS

- AAFCO [Association of American Feed Control Officials]. 2014a. Feed Inspector's Manual 5th.ed. Association of American Feed Control Officials Inspection and Sampling Committee. 220 p.
- AAFCO [Association of American Feed Control Officials]. 2014b. AAFCO Dog and Cat Food Nutrient Profiles. Association of American Feed Control Officials. 24 p. Consultado el 21 de marzo del 2017. Disponible en: http://www.aafco.org/Portals/0/SiteContent/Regulatory/Committees/Pet-Food/Reports/Pet_Food_Report_2013_MidyearProposed_Revisions_to_AAFCO_Nutrient_Profiles.pdf
- AAFCO [Association of American Feed Control Officials]. 2019. Official Publication. Association of American Feed Control Officials. 591 p.
- ANMAT [Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica]. 2003. Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Instituto Nacional de Alimentos, Argentina. 21 p.
- AOAC [The Association of Official Analytical Chemists]. 2019. Official Methods of Analysis. AOAC INTERNATIONAL.
- Artavia, G., Granados-Chinchilla, F. 2018. Two alternative chromatography methods assisted by the sulfonic acid moiety for the determination of furosine in milk. *MethodsX* 5: 639 – 647.
- Badilla, A. 2012. Calidad nutricional de la harina de carne y hueso producida en Costa Rica y evaluación del cumplimiento de requisitos mínimos de inocuidad y manufactura. Tesis M.Sc. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 106 p.
- BAM [Bacteriological Analytical Manual]. 2018. Bacteriological Analytical Manual. FDA. Consultada el 25 de junio del 2019. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

- Bartolomeo, M. P., Maisano, F. 2006. Validation of a Reversed-Phase Liquid Chromatography Method for Quantitative Amino Acids Analysis. *Journal of Biomolecular Techniques* 17: 2
- Bustos, C. 2006. Calidad microbiológica de alimentos para perros comercializados a granel. Tesis Lic. Santiago, Chile, Universidad de Chile. 81 p.
- Cabella, D., Eguren, E. 2012. Buenas Prácticas en la elaboración de Alimentos para Animales. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. 1era edición. Uruguay. 44 p.
- CIAB [Cámara de Industriales de Alimentos de Balanceados]. 2018. Informe de la situación actual de alimentos balanceados. Cámara de Industriales de Alimentos Balanceados, Costa Rica. 32 p.
- Cochrane, R.A., Dritz, S.S., Woodworth, J.C., Stark, C.R., Huss, A.R., Cano, J.P., Thompson, R.W., Fahrenholz, A.C., Jones, C.K. 2016. Feed mill biosecurity plans: A systematic approach to prevent biological pathogens in swine feed. *Journal of Swine Health and Production*. 24 (3): 154 – 164.
- Codex Alimentarius. 2008. CAC/RCP 54 – 2004 Código de Prácticas sobre buena alimentación animal. Roma, Italia, Codex Alimentarius. Consultado el 21 de marzo del 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/012/i11111s/i11111s02.pdf>
- COMIECO [Consejo de Ministros de Integración Económica]. 2012. RTCA 65.05.63:11 Reglamento Técnico Centroamericano Productos utilizados en la alimentación animal, Buenas Prácticas de Manufactura. 48 p.
- COMIECO [Consejo de Ministros de Integración Económica]. 2017. RTCA 67.04.50.17. Reglamento Técnico Centroamericano Alimentos, Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos. 57 p.
- Comisión Europea. 2005. Reglamento (CE) N° 183/2005, Requisitos en materia de higiene de los piensos. *Diario Oficial de Unión Europea*. L35, 1 – 22.
- Corrales, R. 2017. Comunicación personal, Jefe del área de regulación de la Dirección de Alimentos para Animales. Mayo 2017.

- Díaz, A., Uría, R. 2009. Buenas prácticas de manufactura: una guía para pequeños y medianos agroempresarios. IICA, Costa Rica. 74 p.
- EFSA [European Food Safety Authority]. 2008. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the Health and Consumer Protection, Directorate General, European Commission on Microbiological Risk Assessment in feedingstuffs for foodproducing animals. The EFSA Journal 720: 1-84
- FAO [Food and Agriculture Organization]., IFIF [International Feed Industry Federation]. 2014. Buenas prácticas para la industria de piensos – Implementación de código de prácticas sobre buena alimentación animal. FAO, Roma. 110 p. Consultado el 21 de marzo del 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/i1379s/i1379s.pdf>.
- FAO [Food and Agriculture Organization]. 2019. Calidad específica: un método voluntario de diferenciación de un producto. Consultada el 02 de julio del 2019. Disponible en: <http://www.fao.org/in-action/quality-and-origin-program/background/what-is-it/specific-quality/es/>
- FDA [Food and Drug Administration]. 2013. Compliance Policy Guide Sec. 690.800 *Salmonella* in Food for Animals. FDA, Rockville, Maryland, USA. Consultada el 11 de mayo del 2017. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/UCM361105.pdf>.
- FDA [Food and Drug Administration]. 2018. Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Control for Food for Animals, Guidance for Industry. FDA, Rockville, Maryland, USA. Consultada el 25 de junio del 2019. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/110477/download>
- FEDIAF [European Pet Food Industry Federation]. 2017. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. European pet food industry federation. 75 p.
- FEEDNET. 2015. Consulta de empresas registradas en la Dirección de Alimentos para Animales del SENASA. Consultado el 11 de mayo del 2017. Disponible en: <http://www.feednet.ucr.ac.cr/consulta/empresas/index.cfm>

- Gazzotti, T., Biagi, G., Pagliuca, G., Pinna, C., Scardilli, M., Grandi, M., Zaghini, G. 2015. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. *Animal Feed Science and Technology*. 202: 81 – 89.
- Gómez, L. 2013. Introducción a la Nutrición de Caninos y Felinos. *Journal of Agriculture and Animal Sciences* 2 (2): 52 – 67.
- Herrera, M., Mena, E., Rojas, J.C., Rodríguez, E., Chaves, C., Arias, M.L. 2009. Calidad microbiológica de alimento concentrado para perros adultos que se expende en Costa Rica. *Analecta Veterinaria* 29 (2): 10-15.
- Huss, A., Cochrane, R., Muckey, M., Jones, C. 2018a. Chapter 4 - Animal Feed Mill Biosecurity: Prevention of Biological Hazards. *Food and Feed Safety Systems and Analysis*. 63 – 81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811835-1.00004-X>
- Huss, A., Cochrane, R., Jones, C., Atungulu, G.G. 2018b. Chapter 5: Physical and Chemical Methods for the Reduction of Biological Hazards in Animal Feeds. *Food and Feed Safety Systems and Analysis*. 83 – 95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811835-1.00005-1>
- ICA [Instituto Colombiano Agropecuario]. 1999. Directivas Técnicas de Alimentos para Animales y Sales Mineralizadas DIP – 30 - 100 – 003. Consultado el 25 de junio del 2019. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getdoc/7d27ee5e-cfe4-47a2-868e-7c53f4e49473/directivastecnicasalimentosanimales.aspx>
- Jones, F. 2011. Control de la *Salmonella* en piensos. *Selecciones avícolas*. 83: 15 – 18. Consultado el 7 de mayo del 2017. Disponible en: <http://www.asfac.org/fitxers/AVISOS/2011/Control%20Salmonella%20en%20piensos.pdf>
- Kukier, E., Goldsztejn, M., Grenda, T., Kwiatek, K., Wasyl, D., Hoszowski, A. 2012. Microbiological quality of compound feed used in Poland. *Bull Vet Inst Pulawy* 56: 349 – 354.
- Lambertini, E., Mishra, A., Guo, A., Cao, H., Buchanan, R., Pradhan, A. 2016a. Modeling the long – term kinetics of *Salmonella* survival on dry pet food. *Food Microbiology* 58: 1 – 6.

- Lambertini, E., Buchanan, R., Narrod, C., Ford, R., Baker, R., Pradhan, A. 2016b. Quantitative assessment of human and pet exposure to *Salmonella* associated with dry pet foods. *International Journal of Food Microbiology* 216: 79 – 90.
- Lankhorst, C., Tran, Q.D., Havenaar, R., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B. 2007. The effect of extrusion on the nutritional value of canine diets as assessed by *in vitro* indicators. *Animal Feed Science and Technology* 138: 285 – 297.
- Leiva, A., Granados-Chinchilla, F., Redondo-Solano, M., Arrieta-González, M., Pineda-Salazar, E., Molina, A. 2018. Characterization of the animal by-product meal industry in Costa Rica: Manufacturing practices through the production chain and food safety. *Poultry Science* 97: 2159-2169.
- Li, X., Berthune, L.A., Jia, Y., Lovell, R.A., Proescholdt, T.A., Benz, S.A., Schell, T.C., Kaplan, G., McChesney. 2012. Surveillance of *Salmonella* prevalence in animal feeds and characterization of *Salmonella* isolates by serotyping and antimicrobial susceptibility. *Foodborne Pathogens and Disease* 9: 692 – 698.
- Malca, S., Lucas, O., Arbaiza, T., Carcelén, F., San Martín, F. 2006. Comparación de dos técnicas para determinar digestibilidad proteica de insumos y alimentos comerciales para caninos. *Rev Inv Vet Perú* 17 (2): 96 – 103.
- Martínez, C., Verhelst, A. 2015. Calidad microbiológica de carne bovina en plantas de beneficio. *Limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria* 13 (1): 72-80.
- Maya, S. 2016. Procesos de producción de alimentos balanceados. *Práctica de zootecnia*. Colombia, Corporación Universitaria Lasallista. 65 p.
- Molina, A., Granados-Chinchilla, F. 2015. Inocuidad microbiológica de los alimentos para animales en Costa Rica. *Nutrición Animal Tropical*. 9: 13 – 31.
- Molina, A., Granados-Chinchilla, F., Jiménez, M., Acuña, M., Alfaro, M., Chavarría, G. 2016. Vigilance for *Salmonella* in Feedstuffs Available in Costa Rica: Prevalence, Serotyping and Tetracycline Resistance of Isolates Obtained from 2009 to 2014. *Foodborne Pathogens and Disease* 13(3): 119-127
- Puerta-García, A., Mateos-Rodríguez. 2010. Enterobacterias. *Medicine*. 10 (51): 3426-3431.

- Rokey, G.J., Plattner, B., de Souza, M. 2010. Feed extrusion process description. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39: 510 – 518.
- SAG [Servicio Agrícola Ganadero]. 2018. Resolución N° 7.885. Establece límites máximos de contaminantes en insumos destinados a la alimentación animal. Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola Ganadero. Consultado el 25 de junio del 2019. Disponible en: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1114058>
- Salazar, J. 2008. Montaje y puesta en marcha de una planta de alimento balanceado con capacidad de 2 tn/h. Tesis Lic. Perú, Universidad Católica del Perú. 102 p.
- SENASA [Servicio Nacional de Salud Animal]. 2017. Consulta de Requisitos CVO. Consultado el 24 de junio del 2019. Disponible en: http://www.senasa.go.cr/archivos/RequisitosCVO_24_06_2019_03_44_55_pm.pdf
- Suárez, V. 2016. Análisis de calidad del alimento balanceado fraccionado para felinos, que se comercializa al granel en los mercados y tiendas en la parroquia Tarqui de la ciudad de Guayaquil. Tesis Lic. Guayaquil, Ecuador, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. 83 p.
- Tran, Q.D., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B. 2008. Effects of extrusión processing on nutrients in dry pet food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88: 1487 – 1493.
- Tran, Q.D., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B. 2011. Effects of drying temperature and time of a canine diet extruded with a 4 or 8 mm die on physical and nutritional quality indicators. *Animal Feed Science and Technology* 165: 258 – 264.
- van Rooijen, C., Bosch, G., van der Poel, A.F.B., Wierenga, P.A., Alexander, L., Hendriks, W.H. 2013. The Maillard reaction and pet food processing: effects on nutritive value and pet health. *Nutrition Research Reviews*. 26: 130 – 148.
- van Rooijen, C; Bosch, G; Wierenga, P.A; Hendriks, W.H; van der Poel, A.F.B. 2014a. The effect of steam pelleting of a dry dog food on the Maillard reaction. *Animal Feed Science and Technology* 198: 238 – 247.
- van Rooijen, C., Bosch, G., van der Poel, A.F.B., Wierenga, P.A., Alexander, L., Hendriks, W.H. 2014b. Quantitation of Maillard Reaction Products in

Commercially Available Pet Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 8883 – 8891.

Velasquez, A., Pohlenz, C., Barrows, F.T., Gibson Gaylord, T., Gatlin III, D.M. 2015. Assessment of taurine bioavailability in pelleted and extruded diets with red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*. 449: 2 – 7.

WAP [World Animal Protection]. 2016. Estudio nacional sobre tenencia de perros en Costa Rica 2016. World Animal Protection, Costa Rica. 50 p. Consultado el 6 de mayo del 2017. Disponible en: <https://issuu.com/wspalatam/docs/estudioperros-web-singles>

Zanatta, C.P., Félix, A.P., Britto, C.B.M., Murakami, F., Sabchuk, T.T., Oliveira, S.G., Maiorka, A. 2011. Digestibility of dry extruded food in adult dogs and puppies. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec* 63 (3): 784 – 787.

ANEXOS

Anexo 1. Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal.

	Dirección Alimentos para Animales		Rige a partir de: 01/01/2015	Código: DAA-PG-05-RE-03
	Guía de Verificación para Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal		Versión 02	Página 1 de 2
Elaborado por: Dpto. Auditoría DAA		Revisado por: Jefe Dpto. Regulatorio/Gestoría de Calidad	Aprobado por: Director DAA	

Guía de Verificación para Inspecciones de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal

<p>1) Datos Generales del Establecimiento</p> <p>Nombre del establecimiento:</p> <hr/> <p>Registro DAA-MAG y/o CVO:</p> <hr/> <p>Dirección (país, provincia, ciudad, pueblo, otras señas):</p> <hr/> <p>Teléfono, Fax, Email (en este orden):</p> <hr/> <p>Fecha de inspección: Hora Inicio: Hora Final:</p>	<p>Fecha de última inspección:</p> <hr/> <p>Tipo de inspección: <input type="checkbox"/> Previa <input type="checkbox"/> Vigilancia <input type="checkbox"/> Seguimiento <input type="checkbox"/> Denuncia <input type="checkbox"/> Exportación</p> <hr/> <p>Tipo de producción: <input type="checkbox"/> Nacional <input type="checkbox"/> Exportación <input type="checkbox"/> Consumo propio <input type="checkbox"/> A pedido del cliente <input type="checkbox"/> Reempacado <input type="checkbox"/> Maquila</p> <hr/> <p>Tipo de producto: <input type="checkbox"/> Alimentos <input type="checkbox"/> Alimentos Balanceados <input type="checkbox"/> Alimentos Medicados <input type="checkbox"/> Premezclas <input type="checkbox"/> Suplementos <input type="checkbox"/> Aditivos Materias Primas: <input type="checkbox"/> Animal <input type="checkbox"/> Vegetal <input type="checkbox"/> Inorgánicas</p> <hr/> <p>Especies destino:</p> <hr/>	<p>Del inspector:</p> <p>Nombre:</p> <p>Firma:</p> <hr/> <p>Persona en Comercio que atiende la inspección:</p> <p>Nombre:</p> <p>Puesto:</p> <p>Firma:</p>
---	---	--

Aplique los siguientes Criterios de Evaluación: (c) Conforme | (nc) No Conforme | (na) No Aplica | (nv) No Visto --- [CR]: Crítica | [MY]: Mayor | [MN]: Menor

2) Documentación	Criterio	requerido. [MY]		3.8 Cuenta con un área separada para calderas, cuando aplique. [MN]	
2.1 Se cuenta con permisos legales al día (CVO y otros permisos atinentes). [CR]		3) Instalaciones		3.9 Los alrededores, accesos, desagües y drenajes cuentan con el mantenimiento adecuado y limpio para que no constituyan focos de contaminación u obstáculos para acciones de emergencia. [MN]	
2.2 Existe un manual de BPM aprobado, vigente y actualizado con todos los procedimientos requeridos. [MY]		3.1 Ubicadas a distancias que no impliquen riesgos contra la inocuidad de los productos, salud animal, pública y ambiente. [CR]		3.10 Los techos, pisos, paredes, ventanas y puertas están adecuadamente diseñados para facilitar su limpieza y desinfección; evitando el ingreso y proliferación de plagas. [MY]	
2.3 Existen registros actualizados. [MY]		3.2 El diseño de la fábrica minimiza los riesgos de errores de elaboración, permite actividades de control de calidad, higiene y seguridad de trabajo. [MY]		3.11 Los edificios cuentan con sistemas de ventilación e iluminación adecuados a cada área y operación y conforme a las normativas vigentes. [MN]	
2.4 Se mantienen los registros de control de los parámetros del proceso del equipo de producción (Temperatura, humedad, presión entre otras). [MY]		3.3 Cuentan con espacio suficiente o adecuado para la instalación de equipos y la realización de las operaciones de producción, higiene y limpieza, mantenimiento de equipo, inspección y aplicación de medidas correctivas. [MY]		3.12 Cuenta con baños, sanitarios, lavamanos, zona de descanso, comedor y vestideros de conformidad al número de personas, separadas de las áreas de producción y almacenamiento. [MY]	
2.5 Existe programa de capacitación definida y documentada. [MY]		3.4 Cuenta con condiciones adecuadas de acceso para personas y vehículos livianos y pesados que cumpla con las normas de bioseguridad establecidas por la empresa. [MY]		3.13 Cuenta con sistemas para regular el acceso de personas y vehículos a las instalaciones, así como de desinfección. [MY]	
2.6 Están definidas y por escrito, la cadena de autoridad y las responsabilidades del personal para la atención de controles oficiales y el aseguramiento de la calidad e inocuidad. [MY]		3.5 Cuenta con áreas para el manejo de productos de rechazo, en retención o cuarentena. [MY]		3.14 Materiales metálicos, de construcción y herramientas son mantenidos en áreas específicas y externas al flujo de producción o, en caso de que aplique, en armarios seguros. [MN]	
2.7 Existe un diagrama de flujo del proceso de producción. [MN]		3.6 Cuenta con distribución de áreas definidas de acuerdo al Reglamento de BPM. [MY]		3.15 Todas las superficies de trabajo y que están en contacto con los alimentos permiten la limpieza y desinfección efectivas y no significan factor de contaminación potencial. [MY]	
2.8 Cuenta con un procedimiento o protocolo para la adición de ingredientes. [MY]		3.7 Cuenta con áreas separadas para el manejo y almacenamiento de sustancias peligrosas: plaguicidas, materiales explosivos y otros. [CR]			
2.9 Se mantienen registros de las verificaciones internas, externas u oficiales y de las acciones correctivas realizadas. [MY]					
2.10 Existen procedimientos de limpieza en ' seco, húmedos, químicos y/o calor, o bien el uso de blanqueo o flushing, cuando así sea					

© Documento Normativo Propiedad del SENASA, el documento vigente se encuentra en INTERNET cualquier versión impresa es una copia no controlada

	Dirección Alimentos para Animales		Rige a partir de: 01/01/2015	Código: DAA-PG-05-RE-03
	Guía de Verificación para Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal		Versión 02	Página 2 de 2
Elaborado por: Dpto. Auditoría DAA		Revisado por: Jefe Dpto. Regulatorio/Gestoría de Calidad	Aprobado por: Director DAA	

3.16 Dispone de suficientes basureros y cuentan con su respectiva tapa e identificación. [MN]		almacenamiento de producto terminado es adecuado. [MY]		adición de materiales líquidos y productos de riego. [MY]
PROCESO DE PRODUCCION				
3.17 Existe un programa de mantenimiento e higiene de las instalaciones y equipos que incluye los POES, cuando se requiera. [MY]		7) Flujo de Producción		14) Mezclado
3.18 Las tarimas o polines se encuentran limpios en las áreas de proceso y almacenamiento. [MN]		7.1 Permite continuidad desde la recepción de ingredientes hasta la salida del producto final. [MY]		14.1 El tiempo de mezclado está técnicamente determinado y conocido por los operarios. Además se realizan verificaciones constantes. [MN]
3.19 Existe un área específica para almacenamiento de producto terminado y cumple con las condiciones de almacenamiento. [MY]		8) Materias Primas		15) Empaque y Etiquetado
4) Equipo		8.1 Cuenta la empresa con un registro de proveedores adecuadamente documentado. [MN]		15.1 Se cumple con la normativa vigente sobre etiquetado. [MY]
4.1 Los equipos de producción están diseñados y son utilizados de tal forma que no constituyen fuente de contaminación para los alimentos. [MY]		8.2 Las materias primas cuando aplique, son sometidas a un periodo de cuarentena y en un área exclusiva para tal fin. [MY]		15.2 Los empaques cumplen con lo estipulado en el Reglamento de BPM. [MY]
4.2 Existen imanes y zarandas que son rutinariamente revisados para garantizar su adecuado funcionamiento y limpieza. [MY]		8.3 Las materias primas se almacenan en áreas específicas e identificadas y separadas de áreas de proceso y contaminantes. [MY]		15.3 Las etiquetas se mantienen bajo condiciones de orden y adecuado manejo de inventarios, con procedimientos de manejo y uso bien definidos. [MY]
4.3 Las balanzas y dispositivos de medición deben ser apropiados para la determinación de los pesos y/o volúmenes que deban medirse y garantizar el funcionamiento mediante un programa preventivo y correctivo de mantenimiento y calibración constante. [MY]		8.4 Se cumple el programa de inventarios "primero en entrar, primero en salir" o "primero en vencer primero en salir". [MN]		16) Almacenamiento
4.4 Se verifica el rendimiento de las mezcladoras para determinar la homogeneización del mezclado. [MY]		8.5 Existe un control de materias primas que no permita el uso de las expiradas y/o contaminadas. [MY]		16.1 Los productos terminados que contienen ingredientes de riesgo, material de empaque y de etiquetado, son almacenados en áreas separadas, identificadas y en condiciones adecuadas. [MY]
4.5 Las premezcladoras, mezcladoras, peletizadoras y extrusores, se utilizan de acuerdo a la capacidad establecida del equipo y a las especificaciones del fabricante. [MY]		8.6 Las áreas de almacenamiento de materias primas permiten la inspección, limpieza y aireación de éstas. [MN]		16.2 Se lleva un adecuado manejo de los inventarios de productos terminados. [MN]
4.6 Se implementa un programa de limpieza e higiene de los equipos. [MY]		8.7 Los sacos reutilizados son sometidos a procesos de desinfección aprobados por Autoridad Competente. [MY]		16.3 Existe un control de productos terminado que no permita el uso y comercialización de los ya expirados y/o contaminados. [MY]
4.7 Se efectúa la limpieza del equipo en cada cambio de fórmula, como en caso de sistemas de una solalínea, donde se utilizan ingredientes de riesgo. [CR]		9) Almacenamiento de Ingredientes de Riesgo		17) Reprocesos
5) Personal		9.1 Las materias primas que son ingredientes de riesgo, se manejan conforme las regulaciones existentes. [CR]		17.1 Todo producto rechazado o devuelto para reproceso es identificado y almacenado en áreas específicas para tal fin. [MY]
5.1 El personal está capacitado según sus responsabilidades y se implementa adecuadamente un programa de capacitación para todo el personal. [MY]		9.2 Las áreas para almacenamiento de medicamentos e ingredientes de riesgo, cuentan con las condiciones requeridas. [MY]		18) Despacho, Distribución y Transporte
5.2 Están definidas y se implementan las normas de higiene de personal. [MY]		10) Agua		18.1 El despacho y entrega se hace bajo órdenes de despacho con información clara. [MN]
5.3 El personal de la empresa está sujeto a controles periódicos de salud y se mantienen los registros y utiliza equipo de seguridad adecuado. [MN]		10.1 Existen procedimientos para el uso y control de calidad del agua y se mantienen los registros sobre los controles de este insumo. [MY]		18.2 Los vehículos para distribución se inspeccionan para asegurar condiciones de limpieza adecuadas para el manejo del producto. [MN]
6) Control de Plagas		11) Formulación		18.3 Se ejecutan actividades de limpieza del transporte. [MY]
6.1 Existe y se aplica un Programa de Control de Plagas. [MY]		11.1 Existe un procedimiento para la verificación de las fórmulas por el personal competente. [MY]		19) Controles de Calidad e Inocuidad
6.2 Existe un diagrama actualizado de la ubicación de las trampas. [MN]		11.2 Las fórmulas contienen información completa y todas las precauciones requeridas para el manejo y uso de ingredientes de riesgo. [MY]		19.1 Existen y se implementan los procedimientos adecuados para el control de calidad de las materias primas otros insumos del proceso. [MY]
6.3 Cuenta con personal capacitado para implementar correctamente el programa de control de plagas, cuando aplique. [MN]		12) Molienda		19.2 Existe y se implementa programa de control de calidad del producto terminado, que cumpla con la normativa vigente. [MY]
6.4 El control de roedores en el área de producción durante el proceso y		12.1 Se realiza un control constante del proceso de molienda para verificar que se logre la obtención del tamaño de partícula recomendado para cada especie. [MN]		19.3 Se conservan adecuadamente los registros del programa de control de calidad e inocuidad establecido. [MY]
		13) Adición de Ingredientes		19.4 Se resguardan las muestras bajo identificación clara con referencia al número de lote de donde provenga. [MY]
		13.1 Se ejecuta un proceso de preparación previa de las premezclas de medicamentos y aditivos para permitir su homogeneización. [MY]		POST-PROCESO
		13.2 Cuenta con equipo que permita una mezcla homogénea para la		20) Rastreabilidad (Trazabilidad)
				20.1 Cuenta con sistemas de identificación y registros adecuados para permitir una rastreabilidad en la cadena del proceso. [MY]
				20.2 Cuenta con los procedimientos adecuados para atender reclamos,

© Documento Normativo Propiedad del SENASA, el documento vigente se encuentra en INTERNET cualquier versión impresa es una copia no controlada

	Dirección Alimentos para Animales		Rige a partir de: 01/01/2015	Código: DAA-PG-05-RE-03
	Guía de Verificación para Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos destinados a la Alimentación Animal		Versión 02	Página 3 de 2
Elaborado por: Dpto. Auditoría DAA		Revisado por: Jefe Dpto. Regulatorio/Gestoría de Calidad	Aprobado por: Director DAA	

devoluciones y retro de productos. [MY]		21.2 Se cumplen las recomendaciones emitidas en las inspecciones oficiales con respecto a BPM y se mantienen los registros requeridos. [MY]		líquidos. [MY]	
21) Verificación de BPM		22) Medio Ambiente		22.2 Cumple la empresa con los requisitos ambientales establecidos en el Estado Parte. [MY]	
21.1 Cuenta la empresa con un programa adecuado de auditorías internas para mantener bajo control el sistema y verificar el cumplimiento de los requisitos mínimos sanitarios y de BPM. [MY]		22.1 Cuenta la empresa con sistemas de manejo de desechos sólidos y			