



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente

Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Animali

Tesi di Laurea

Alimentazione BARF:

atteggiamento dei proprietari di cani e risultati preliminari sulla
qualità microbiologica di prodotti acquistati online

Relatore

Dott. Rebecca Ricci

Dip. Medicina Animale, Produzioni e Salute

Correlatore

Prof. Paolo Catellani

Dip. Medicina Animale, Produzioni e Salute

Laureando

Sofia Bastianello

n° matr.1081015

Il segreto risiede solo nel presente.

Se presterai attenzione al presente, potrai
migliorarlo.

E se migliorerai il presente, anche ciò che accadrà
dopo sarà migliore.

Ogni giorno porta con sé l'eternità.

Paulo Coelho – L'Alchimista

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
1.1 IL CRUDISMO	5
1.1.1 PREY MODEL DIET (o modello predatore-preda).....	6
1.1.2 VOLHARD DIET.....	7
1.1.3 THE ULTIMATE DIET	8
1.2 LA DIETA BARF.....	10
1.2.1 LA DIETA BARF SPIEGATA SUI SOCIAL NETWORK	10
1.3 DIETA BARF CONTRO DIETE COMMERCIALI COTTE	13
1.4 VANTAGGI DELLA DIETA BARF	15
1.4.1 CONOSCERE L'ORIGINE DEL CIBO	15
1.4.2 NESSUN ADDITIVO.....	15
1.4.3 NIENTE CEREALI.....	16
1.4.4 MAGGIORE SALUTE DENTALE.....	16
1.5 GLI SVANTAGGI DELLA DIETA BARF	18
1.5.1 SQUILIBRI NUTRIZIONALI	18
1.5.2 RISCHI MICROBIOLOGICI.....	19
1.5.3 PROBLEMI DOVUTI ALLA PRESENZA DI OSSA.....	20
1.5.4 INGREDIENTI NOCIVI O NON ADEGUATI	20
1.5.5 IL PROBLEMA DELLA TIREOTOSSICOSI.....	21
2. OBIETTIVI DELLO STUDIO	22
3. MATERIALI E METODI.....	23
3.1 INDAGINE TRA I PROPRIETARI BARF.....	23
3.2 ANALISI DI LABORATORIO.....	24
3.2.1 DESCRIZIONE DEI CAMPIONI.....	24
3.2.2 CAMPIONAMENTO	26
3.2.3 ANALISI QUANTITATIVE.....	27
3.2.3.1 PREPARAZIONE DEI TERRENI	27
3.2.3.2 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI	29
3.2.3.3 SEMINA E INCUBAZIONE.....	30
3.2.3.4 CONTA DELLE COLONIE.....	31

3.2.4 ANALISI QUALITATIVE.....	32
3.2.4.1 RICERCA DI LISTERIA MONOCYTOGENES.....	33
3.2.4.2 RICERCA DI SALMONELLA SPP.....	33
3.2.4.3 RICERCA DI YERSINIA ENTEROCOLITICA	34
3.2.5 DETERMINAZIONE DEL pH.....	36
3.3 ELABORAZIONE STATISTICA.....	37
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	38
4.1 INDAGINE TRA I PROPRIETARI BARF.....	38
4.1.1 PRIMA PARTE – DATI DEI CANI	38
4.1.2 SECONDA PARTE – DATI DEL PROPRIETARIO.....	40
4.1.3 TERZA PARTE – DIETA BARF	44
4.1.3.1 Motivazioni	44
4.1.3.2 Rischi sanitari legati all’uso della dieta BARF	45
4.1.3.3 Vantaggi e svantaggi della dieta BARF	47
4.1.3.4 Organizzazione della dieta	49
4.2 ANALISI DI LABORATORIO.....	56
4.2.1 ANALISI QUALITATIVE.....	56
4.2.2 CONSIDERAZIONI SUL pH.....	58
4.2.3 ANALISI QUANTITATIVE.....	59
5. CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI.....	66
6. BIBLIOGRAFIA	69
7. REGOLAMENTI.....	72
8. SITOGRAFIA.....	72
9. ALLEGATO 1 – QUESTIONARIO DIETA BARF	73
RINGRAZIAMENTI.....	85

1. INTRODUZIONE

1.1 IL CRUDISMO

Nell'ultimo decennio il mondo del *pet food* ha sviluppato, oltre al comune cibo commerciale umido e secco, una serie di molteplici filosofie alimentari diverse fra loro. Una fra queste è il Crudismo o *Raw meat-based diets* (RMBDs) ovvero diete a base di ingredienti rigorosamente crudi che possono provenire da diverse specie sia di animali domestici (come pollo, manzo, tacchino, ecc) che di selvaggina (cinghiale, faraona, anatra, ecc). Di questi animali possono essere utilizzate carcasse intere, muscolo, interiora o anche ossa. Anche derivati di origine animale vengono spesso impiegati come formaggi, kefir oppure uova.

Come chiaramente descritto da Freeman et al. (2013), l'idea del crudismo crea le sue fondamenta sul presupposto che cani e gatti siano animali carnivori e che, normalmente in natura, tenderebbero a cacciare procurandosi quindi cibo che risulterebbe essere crudo. In aggiunta a questo c'è anche l'idea, da parte dei proprietari a favore di questa dieta, che l'alimentazione a crudo sia nettamente superiore in termini di disponibilità di nutrienti e di salubrità delle materie prime, rispetto alla comune dieta secca commerciale. Ad esempio, vengono spesso citati diversi richiami di cibo commerciale non idoneo alla vendita a causa di contaminazioni batteriche, micotossine o quantità tossiche di vitamina D. In particolare fa riferimento ad un richiamo avvenuto nel 2007 a causa di una contaminazione da melamina in materie prime importate dalla Cina per produrre cibo commerciale sia per animali domestici che per animali da reddito e ittici.(Freeman et al.,2013)

Seguire una RMBD risulterebbe quindi, per molti proprietari, essere la naturale scelta da intraprendere per avere al proprio fianco un cane sano, che segue i propri istinti, esplica al meglio il proprio comportamento etologico e sfrutta al massimo la propria capacità digestiva. Il proprietario nota, in seguito alla somministrazione della dieta a crudo, effetti benefici come il miglioramento del pelo (più lucido e meno grasso nonché odoroso), una maggiore pulizia dentale (compresa una diminuzione dell'alitosi), maggiore vivacità e serenità dell'animale. Inoltre, egli si sente più in sintonia con il proprio animale domestico in quanto si può occupare personalmente della sua dieta. In generale, non esistono ricerche scientifiche approfondite su questo tipo alimentazione soprattutto sui suoi effetti nel lungo periodo o sulla

sua effettiva validità. Come è stato già accennato in precedenza, la maggior parte delle informazioni che si possono trovare sulle RMBDs derivano per lo più da articoli su siti internet e libri non necessariamente scritti da persone qualificate e che talvolta contengono informazioni fuorvianti se non assolutamente errate (Handl 2014). È importante, quindi, nel valutare queste diete, saper discernere quali, tra le nozioni fornite, siano quelle effettivamente accreditate.

Sempre nell'articolo di Freeman et al. (2013) descritte due differenti tipologie di RMBDs, una sviluppata in maniera commerciale mentre l'altra elaborata in ambiente domestico.

La dieta di tipo commerciale risulta essere una dieta bilanciata e completa reperibile sul mercato (soprattutto statunitense e canadese) oppure *online*. Essa è a base di prodotti freschi, congelati o talvolta essiccati. Esattamente come qualsiasi altro prodotto commerciale per animali, queste diete sono elaborate in maniera tale da soddisfare, in ogni fase di vita dell'animale, le differenti esigenze nutrizionali (cucciolo, gravidanza, anziano, ecc) e hanno una formulazione diversa a seconda della casa mangimistica. Genericamente, i fabbisogni nutrizionali dichiarati si basano sulle raccomandazioni pubblicate da enti ufficiali di riferimento come ad esempio FEDIAF per l'Europa o dell'AAFCO per gli Stati Uniti. Inoltre, sono diete che vengono prodotte su larga scala e vendute nella grande distribuzione, insieme ad una serie di altri snack per animali genericamente essiccati quali orecchie, grugni, code e altri parti anatomiche appartenenti generalmente a bovini, suini.

L'industria del Crudismo prevede anche una piccola parte di produzione riguardante le miscele di carboidrati (ad esempio l'uso di premiscele di cereali) oppure la creazione di integratori vitaminici e minerali sia di sintesi che naturali.

Nel caso delle diete crude casalinghe, invece, esistono diverse linee di pensiero possibili: la più famosa e diffusa è la dieta BARF ma esistono anche la "*Prey Model Diet*", l'"*Ultimate Diet*" e infine la "*Volhard Diet*", nate tutte tra il 1990 e il 2000. Le caratteristiche della dieta BARF, oggetto di questo lavoro, saranno descritte più dettagliatamente nel capitolo successivo.

1.1.1 PREY MODEL DIET (o modello predatore-preda)

La *Prey-model diet* (o dieta basata sul modello predatore-preda), deriva dall'ecologia alimentare del lupo (*Canis lupus*) in natura e prevede che si fornisca all'animale una carcassa intera compresa di muscolo, interiora e ossa ogni qual volta sia possibile. Le specie più

utilizzate sono il pollo, il tacchino e il coniglio essendo anche le più reperibili in commercio. Si possono utilizzare anche carcasse di agnello, pecora o selvaggina. Raramente quelle di animali di grossa taglia. In ogni caso la carne rappresenta l'80% della dieta, il 10% è costituito da ossa e un 10% di frattaglie di cui il 5% fegato. Questo tipo di dieta prevede quindi l'utilizzo di sole proteine di origine animale, partendo dal presupposto che cani e gatti sono esclusivamente carnivori. Alcuni proprietari a sostegno di questa dieta, tuttavia, preferiscono aggiungere una piccola parte di verdure, simulando l'assunzione di fibra che anche in natura il carnivoro assume attraverso il contenuto dello stomaco delle sue prede che sono erbivore o granivore. Molto di rado vengono aggiunti integratori (al massimo vengono utilizzati oli vegetali o di pesce oppure aggiunti omega-3 in vendita in commercio sottoforma di capsule). Questo scarso utilizzo di integrazioni è una delle grandi differenze con la dieta BARF ed è dovuta principalmente al fatto che viene sostenuta la teoria per cui l'animale è in grado di assorbire dalla carne tutto ciò di cui necessita.

1.1.2 VOLHARD DIET

Questa dieta prende il nome dalla sua ideatrice Wendy Volhard, una giornalista del Wall Street Journal, che ha abbandonato la sua carriera per seguire la sua passione per i cani. La *Volhard diet* (o Dieta Naturale) che nasce nel 1995, è forse, quella che fra tutte le filosofie del crudismo, si discosta di più dalla percezione del cane e del gatto come assoluti carnivori. Infatti in questa tipologia di alimentazione sono previsti due pasti al giorno: il primo (colazione) a base di cereali che corrisponde al 25% dell'intera dieta; il secondo a base di carne cruda che corrisponde al 75% della dieta. E' inoltre previsto il digiuno una o due volte alla settimana. La divisione dei pasti, sostiene Volhard, permette al sistema digerente dell'animale di utilizzare i propri enzimi in maniera più efficiente mentre rispettare il digiuno simulerebbe la condizione naturale in cui il carnivoro predatore non sempre riesce a procacciarsi il cibo tutti i giorni. Ad oggi non ci sono però studi a sostegno del beneficio del digiuno nel cane.

In Tabella 1 è riportato un esempio di *Volhard Diet* ritenuta adeguata per un cane di 23 kg ("*a 50-pound dog*"):

Colazione (giorno 1-6) 3 oz di mix di cereali (850g)	Cena (giorno 1-6) 12 oz di carne (giorno 1-5) (540g)
--	--

2 cucchiaini di melassa 2 cucchiaini di olio di cartamo 200 IU di vitamina E 200 mg di vitamina C 50 mg di complesso di vitamina B 1 uovo piccolo più un quarto (non più di 4 alla settimana) Mezza tazza di yogurt o kefir	2 1/2 oz di fegato(giorno 1–5) (70g) 14 oz di ricotta (giorno 6) (390g) Mezzo cucchiaino di alghe 1 cucchiaio di aceto di mele 1 cucchiaino di lievito di birra 200 mg di vitamina C 1 cucchiaino di fegato di merluzzo 1 cucchiaino di aglio (in capsule) 2 1/2 di farina d’ossa 2 cucchiaini di germi di grano 3 cucchiaini di crusca 2 cucchiaini di erbe aromatiche 2 cucchiaini di frutta (a giorni alterni)
Colazione (giorno 7) 2 1/3 oz di mix di cereali (75g) 200 mg di vitamina C 50 mg di vitamina B Una tazza di yogurt o kefir 4 cucchiaini di miele	Cena (giorno 7) Digiuno
Raccomandazioni: una o due volte la settimana, date al vostro cane un osso come premio speciale	

Tabella 1 Tratta da “Wendy Volhard’s Homemade Dog Food Recipe”,

1.1.3 THE ULTIMATE DIET

Infine, troviamo “*the ultimate diet*” proposta dalla Dott.ssa Schultze ne “*Natural nutrition for dogs and cats: the ultimate diet*” pubblicato nel 1998, la quale sostiene che la maggior parte dei problemi di salute degli animali domestici deriva dalla loro alimentazione. Occorre pertanto, che l’animale intraprenda un percorso di depurazione, non solo associando alla propria dieta alimenti crudi sia a base di carne che di verdure, ma che le materie prime utilizzate siano certificate e, possibilmente, di origine biologica. Solo se il proprietario ha la certezza che gli alimenti che fornisce al proprio animale siano realmente “naturali”, può sentirsi sicuro che da questa alimentazione il proprio animale domestico potrà ricavare solo

effetti. Tra le diete casalinghe crudiste, “*the ultimate diet*” risulta probabilmente quella più vicina ad una teoria Olistica umana basata sull’utilizzo di medicina alternativa e, appunto, un’alimentazione adeguata allo stato di salute dell’animale. Tra i consigli della Dott.ssa Shultze vi è l’uso di integratori come il ginger (in caso di stati infiammatori) e raccomanda anche che tutti gli alimenti con le stesse proprietà del ginger debbano essere forniti rigorosamente crudi proprio per permettere che le loro funzioni rimangano integre.

1.2 LA DIETA BARF

La dieta BARF (*Biologically Appropriate Raw Food* (o per alcuni *Bones And Raw Food*), è nata a partire dai primi anni Novanta da un'idea del Dr. Billinghurst, medico veterinario di origine australiana e resa ufficiale con la pubblicazione del suo libro “*Give your dog a bone*”, avvenuta nel 1993.

Nel suo articolo “*The “BARF” trend – advantages, drawbacks and risks*” (2014) Handl spiega in cosa consiste una dieta BARF: all'animale viene fornito un pasto a base essenzialmente di carne cruda, compresa di organi e un'elevata percentuale di ossa cosiddette “polpose”, ovvero ossa (generalmente appartenenti ad animali di piccola taglia come pollo, coniglio, quaglia) con una notevole presenza di carne ancora attaccata; queste possono essere somministrate tal quali oppure previa macinazione.

L'articolo spiega che vengono somministrati verdura, frutta, oltre a noci, oli, erbe aromatiche, uova e latticini anche se in quantità molto inferiori rispetto alle percentuali attribuite alla carne. La presenza di cereali non è raccomandata, tuttavia vengono spesso forniti all'animale patate o legumi (entrambi previa cottura). Questa caratteristica rappresenta una delle differenze che distanzia la dieta BARF dal modello predatore-preda. Un'altra differenza è rappresentata dall'uso di integratori, esistono già sul mercato in una vasta selezione, appositamente studiati per integrare le razioni di questa dieta (Handl 2014). In aggiunta a ciò, un altro autore pro BARF, Tom Lonsdale nel suo libro “*Work Wonders*” ammette anche “*a bowl in which to feed table scraps*” ovvero la possibilità di permettere al nostro animale di mangiare gli avanzi dei nostri pasti (come croste di formaggio, pezzetti di carne o verdure, ecc) se pur in piccole dosi per evitare che noccano alla salute dell'animale. È importante però tenere presente le differenze di cultura gastronomica tra i Paesi. Lonsdale, ad esempio, è australiano e sulla sua tavola raramente troveremo avanzi di pasta o di altri alimenti a base di carboidrati.

1.2.1 LA DIETA BARF SPIEGATA SUI SOCIAL NETWORK

Nei gruppi di discussione presenti sui social network o in internet spesso vengono pubblicati articoli dove vengono spiegate in parole semplici come deve essere sviluppata una dieta BARF. Nella Tabella 2 sono riportate le categorie di ingredienti che devono costituire una

dieta BARF per cani, secondo le indicazioni trovate su una nota scritta da una barfista con diversi anni di esperienza, che ha deciso di condividere le sue conoscenze su “*Barf&Co.*”, uno dei gruppi di discussione presenti su Facebook®. L’autrice di questa nota spiega innanzitutto che se il cane o il gatto non sono abituati alla dieta BARF è assolutamente necessario un periodo di lenta introduzione, per permettere loro di abituarsi ad un regime alimentare “più impegnativo” dal punto di vista digestivo. L’animale a seguito di un cambio di dieta, potrà manifestare episodi di feci molli, raramente, al contrario, si hanno problemi di costipazione, che potrebbero essere dovute alla somministrazione di ossa polpose. Queste dovrebbero infatti essere somministrate tritate nel primo periodo. Inoltre, l’autrice consiglia di associare inizialmente le ossa polpose, principale causa di costipazione, agli organi, principale causa invece, di feci molli.

In generale, l’autrice divide la dieta BARF secondo le proporzioni di ingredienti indicate in Tabella 2.

Ossa polpose	40-50% (questa percentuale è piuttosto variabile: ad esempio Lonsdale, nel suo libro, arriva a consigliare fino al 70% ovvero il 100% di carne suddivisa tra ossa polpose e organi)	Possono essere di prede piccole perché più tenere e la scelta della specie varia in base a taglia ed età del cane o gatto: quaglia, pollo, faraona, coniglio, ecc. Del tacchino sono ammesse ossa del solo collo perché meno pericolose. Le ossa rigorosamente mai cotte.
Carne senza osso	20-30%	Di qualsiasi specie (pesce compreso) tranne, si consiglia, di maiale o cinghiale. Inizialmente, si consiglia l’uso di una sola proteina, per ossa polpose e carne senza osso.
Organi	10-15%	Principalmente cuore e fegato che si ritengono essenziali (il fegato non deve superare il 5%). Oltre a questi si possono fornire milza, reni, timo, dorelli di pollo, ecc.

Trippa verde	10-20%	Fondamentalmente ha una funzione probiotica e viene somministrata per agevolare, sembra, la digestione. Si potrebbe comunque sostituire con probiotici di altra origine
Verdure	10-15%	Si somministra frullata ad eccezione di cipolla, porro, pomodori crudi, melanzane e peperoni.
Altro	5% massimo	Frutta, uova (sconsigliato l'albume ma a favore di guscio e tuorlo), olii, erbe, spezi, aglio o frutta secca. Integratori. Gli snack possono essere a base di frutta fresca. Si fa uso di parti cartilaginee (come trachee o code) ritenute utili a favorire la masticazione e la pulizia dei denti.

Tabella 2: percentuali relative alla composizione della dieta BARF, indicate nei gruppi di discussione su Facebook®.

Sui *social network* alcuni consigliano anche un digiuno una o due volte la settimana, quando possibile. La quantità totale della razione, continua questo articolo, dovrebbe essere calcolata su un 2-4% del peso corporeo dell'animale (anche Lonsdale fa spesso riferimento a questa percentuale). La differenza di percentuale, viene aggiunto, si basa sulle attività del cane, sulla sua età o sulla sua fase vitale (ad esempio per un cucciolo le percentuali saranno molto superiori fino addirittura ad un 6-8% del suo peso per diminuire via via con l'accrescimento). Ad esempio, un cane di 15 kg, in pesoforma, che fa moto medio, dovrebbe assumere una quantità di cibo totale pari al 3% circa, ovvero 450g che corrisponde a:

45% ossa polpose = 200g

25% carne senza osso = 90g

10% organi = 45g

10% trippa = 45g

10% verdura = 45g

1.3 DIETA BARF CONTRO DIETE COMMERCIALI COTTE

Come accennato prima, attraverso i gruppi di discussione è facile intuire che i proprietari a favore di una dieta a crudo, anche chiamati “Barfisti”, apprezzano in essa l’inalterata presenza di principi nutritivi, che vengono spesso denaturati per effetto del calore utilizzato nella cottura. In effetti, spiegano diversi autori (Handl, 2014; Freeman et al., 2013), molti nutrienti sono termolabili come le vitamine del gruppo B e la vitamina A. Sottolineano anche che alcuni nutrienti risultano essere maggiormente biodisponibili in seguito alla cottura, come avviene ad esempio per alcune proteine di origine vegetale. Tuttavia, coloro che sono a favore della cottura dell’alimento, sostengono che ci sono metodi che possono mantenere intatte le proprietà nutritive degli alimenti o che, semplicemente, è necessario aggiungere una quantità di alimento sufficiente a compensare il trattamento termico. Per quanto riguarda l’alimento commerciale, invece, le proteine sono sottoposte a notevoli cambiamenti dovuti alle lavorazioni a cui l’alimento è sottoposto (come estrusione, calore, alta pressione o aggiunta di acqua), che possono portare ad un’alterazione della loro digeribilità e biodisponibilità.

Un altro problema imputato alla cottura del cibo è la minore digeribilità. Molti barfisti dichiarano di notare una riduzione della quantità di feci prodotte dai cani che ne fanno uso, segno di una maggiore digeribilità della dieta cruda. Come detto sopra, in effetti, la cottura può causare, se fatta in maniera scorretta, l’alterazione della biodisponibilità di alcuni elementi: una fra le reazioni che causano maggiori danni è quella di Maillard (Friedman, 1996). D’altra parte però uno studio di Vester et al. (2010) sui felini esotici ha rivelato che in queste diete risultano essere più digeribili le proteine crude ma meno i grassi e l’efficienza di conversione energetica, rispetto ad una dieta commerciale secca. In ogni caso, la mancanza di aminoacidi essenziali non dovrebbe essere un problema per cani e gatti se viene loro fornita una dieta di qualità, sia essa commerciale o casalinga, con la presenza di un alto contenuto di proteine animali ad alto valore biologico. Ad esempio in uno studio di Kerr et al. (2012), sono state comparate tre diverse diete, commerciale secca, cruda e casalinga cotta su gatti domestici e ne è stata valutata la digeribilità: nella dieta cruda è stata rilevata una maggiore digeribilità per macronutrienti ed energia rispetto alla dieta commerciale secca, ma nessuna differenza significativa tra la dieta cruda e quella cotta.

Infine, scrive la Handl (Handl, 2014), secondo chi pratica la BARF, un grosso limite della cottura è quello di eliminare gli enzimi essenziali presenti naturalmente nella carne che permettono al cane una digestione più rapida (li ritengono utili a compensare la mancanza di

enzimi nella saliva del carnivoro). In realtà, spiegano Freeman e colleghi (2013), cani e gatti non necessitano di enzimi esogeni per aumentare la digeribilità dell'alimento.

1.4 VANTAGGI DELLA DIETA BARF

In questo capitolo sono riportati e discussi i vantaggi che la dieta BARF garantirebbe secondo i barfisti. E' importante sottolineare che, poiché ad oggi non esistono studi scientifici che dimostrino i vantaggi della dieta BARF rispetto alla dieta commerciale, quelle di seguito descritte sono solo le opinioni e le impressioni percepite dai barfisti.

1.4.1 CONOSCERE L'ORIGINE DEL CIBO

Per un barfista è molto importante che la dieta si avvicini quanto più possibile al fabbisogno del suo animale e la dieta BARF sembra dare loro questa sicurezza. La principale preoccupazione che BARF sembra risolvere a chi la segue, è quella di dare proteine di bassa qualità o di derivazione dubbia al proprio animale. Indubbiamente la dieta BARF permette di evitare con maggiore facilità cibi impopolari o poco tollerati, perché sotto il diretto e totale controllo del proprietario. Per molti, non solo tra i proprietari ma anche tra veterinari pro BARF, questa dieta è considerata come un percorso di depurazione dalle diete commerciali ritenute ricche di prodotti di origine sintetica. Questo concetto è rafforzato dal fatto che in passato si è assistito a diversi casi di ritiri di cibo commerciale dovuti alla presenza di alimenti contaminati o pericolosi per la salute degli animali a cui erano destinati. Da questo punto di vista è innegabile che una dieta casalinga (cruda o cotta) risulti essere più sicura rispetto ad una dieta commerciale secca o umida dove non è sempre possibile conoscere tutte le materie prime che la compongono e tanto meno la loro qualità e la loro provenienza.

1.4.2 NESSUN ADDITIVO

Il termine "additivo" non gode di una buona reputazione e spesso la gente è fortemente prevenuta nei confronti dell'inclusione di queste sostanze nei mangimi. Pochi sono a conoscenza che tale parola può includere semplicemente l'uso di integratori come le vitamine o i minerali. La gente è portata a credere che additivi sintetici come conservanti o aromi siano aggiunti ai mangimi per scopi "ingannevoli", tali cioè da indurre l'animale a mangiare cibo di bassa qualità o a creare dipendenza verso l'alimento (Handl, 2014). La dieta BARF si presenta come alternativa più "naturale" e salutare rispetto ad un mangime commerciale, ma

quello che la maggior parte dei proprietari ignora, è che tutti gli additivi devono passare attraverso rigorosi controlli e percorsi di certificazione e approvazione e che sono strettamente regolamentati sia nella composizione che nel dosaggio (come descritto nel Regolamento (CE) 429/2008 e nel Regolamento (UE) 892/2010).

1.4.3 NIENTE CEREALI

Il potenziale danno proveniente dall'uso di cereali e glutine nei cani e nei gatti è molto discusso. La dieta BARF, soprattutto quella spiegata nei social networks, si prefigge di evitarli rigorosamente, compreso l'utilizzo di snacks o "premietti" a base di cereali o carboidrati perché ritenuti dannosi. Un interessante e recente studio genetico condotto da Axelsson et al. (2013), ha valutato le differenze genomiche tra cane e lupo, mostrando che esistono ben 36 regioni del corredo genetico che sono responsabili dell'evoluzione da lupo a cane. Dieci fra queste regioni, sono fondamentali per permettere una corretta digestione dell'amido. Questo dimostra che nella forte pressione evolutiva, i progenitori del cane hanno adattato, almeno in parte, il proprio sistema digerente ad un regime alimentare che prevedeva anche l'uso di cereali.

1.4.4 MAGGIORE SALUTE DENTALE

Oltre ai miglioramenti citati nel capitolo 1.1 in termini di lucidità e odore del pelo, serenità e energia, un vantaggio che viene rivendicato spesso da autori come Billingham e Lonsdale è quello della pulizia dentale: la presenza di ossa nella dieta e la necessità di masticare e rosicchiare, spiegano tali autori, aumentano la resistenza del periodonto e permettono una costante pulizia della superficie dentale.

Uno studio di Steenkamp et al. (1999) condotto sulle condizioni periodontali dei canidi africani, fece emergere come questi animali soffrissero di forti periodontiti, di lesioni e di scheggiature dentali. Steenkamp concluse che "predatori con un elevato contenuto di ossa nella loro dieta, ha un'elevata prevalenza di fratture dentali". Ciò significa che utilizzare una dieta che segue gli istinti naturali di cane e gatto non necessariamente li protegge dai disturbi orali.

Un sondaggio svolto da Johnston nel 2012 tra veterinari e infermieri veterinari in Inghilterra, e pubblicato sulla rivista “*Veterinary Times*”, mostra che il 14% dei veterinari consiglia una dieta con un’alta percentuale di ossa polpose, ritenuta positiva per l’igiene dentale dell’animale, mentre il 5% ritiene che la dieta BARF risulti di beneficio sulla salute del periodonto. Dallo stesso sondaggio è risultato, d’altra parte, che assistenti e infermieri preferiscono evitare di consigliare una dieta cruda con elevate percentuali di ossa per migliorare l’igiene orale del cane perché ritenute pericolose sia per la possibilità di eventuali contaminazioni batteriche sia per la pericolosità derivante dall’ingestione delle stesse.

1.5 GLI SVANTAGGI DELLA DIETA BARF

Esistono tuttavia una serie di svantaggi legati all'uso della dieta BARF, che sono chiaramente evidenziati in alcune recenti *reviews* (Handl, 2014; Freeman et al., 2013). In questo capitolo vengono riportati i principali punti critici individuati in questi due articoli.

1.5.1 SQUILIBRI NUTRIZIONALI

Premettendo che, secondo i più basilari principi di nutrizione animale, è fondamentale conoscere:

- il contenuto nutrizionale degli elementi che compongono la dieta per combinarli tra loro in porzioni adeguate;
- i fabbisogni nutrizionali dell'animale a cui si somministra la dieta: tali fabbisogni, non si ottengono semplicemente calcolandoli come percentuale di peso corporeo dell'animale (come viene indicato nei testi e siti pro BARF), ma sono pubblicati da organismi ufficiali come AAFCO o FEDIAF e gli intervalli di riferimento tengono conto dell'energia della dieta, piuttosto che del contenuto di SS in diete contenenti 4000 kcal/kg, oltre che dello stato fisiologico dell'animale (in accrescimento, in lattazione o in mantenimento).

È necessario che il proprietario non si affidi esclusivamente a ricette o indicazioni trovate su siti internet o ricettari, perché questi presentano spesso errori e imprecisioni, ma è importante che si affidi ad un veterinario competente per la formulazione di una dieta completa e bilanciata per il suo cane.

Specificato questo, lo squilibrio nutrizionale è una situazione in cui, purtroppo, è facile incorrere e può essere collegata a diverse situazioni: le più frequenti sono gli eccessi o le carenze di alcuni nutrienti o la sottovalutazione delle effettive esigenze dovute allo stato fisiologico dell'animale (accrescimento, gravidanza e lattazione, presenza di disturbi o patologie). Uno studio americano (Freeman et al. 2001), ha valutato l'adeguatezza nutrizionale di 3 diete casalinghe crude e 2 commerciali crude e ha dimostrato diversi squilibri in ognuna di esse: ad esempio, rapporti calcio/fosforo errati o presenza di vitamine A e E ben sotto il fabbisogno minimo. Un altro studio (Dillitzer, et al., 2011), condotto in Europa, ha messo in evidenza come, analizzando l'adeguatezza di 12 nutrienti in 95 diete

casalinghe crude fornite dai proprietari ai loro cani, ben il 60% risultava essere gravemente squilibrata.

Le principali cause di squilibrio nutrizionale che possono dipendere da (Handl, 2014):

- **Da un contenuto proteico molto elevato:** normalmente non è un problema per un cane sano, risulta invece più problematico per un soggetto anziano o che soffre di patologie epatiche o renali;
- **Da un contenuto proteico basso:** è sicuramente più raro e dovuto principalmente all'uso di carni molto grasse;
- **Contenuto elevato in grassi:** si definiscono in eccesso nel caso in cui superino il 30%SS, il cui risultato è un più alto rischio di pancreatite;
- **Integrazione eccessiva o deficitaria di calcio o alterazione del rapporto calcio-fosforo:** già verificate in diversi studi e particolarmente pericolosa in soggetti in accrescimento e anziani;
- **Carenza di vitamina A, E e D;**
- **Carenza di oligoelementi come zinco, rame o iodio**
- **Uso spropositato, inutile e dannoso di alcuni integratori.**

E' importante sottolineare che uno squilibrio nutrizionale non è sempre evidenziabile attraverso i controlli annuali come le analisi del sangue: questo significa, in sostanza, che anche se all'esame del sangue i valori sono all'interno dei *range* fisiologici non è escluso che l'animale sia alimentato con una dieta squilibrata.

1.5.2 RISCHI MICROBIOLOGICI

La carne può contenere virus, batteri e parassiti. Un esempio molto conosciuto è il virus che provoca la Pseudorabbia, che può presentarsi nelle carni di suino di dubbia provenienza e risulta essere, fra le altre cose, una pericolosa zoonosi (trasmissibile dall'animale all'uomo). Oltre a questo, i principali batteri contaminanti sono: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* e *Yersinia enterocolitica*, *Toxoplasma gondii* oltre a una serie di endoparassiti come l'*Echinococcus*. Questi contaminanti sono molto spesso sottovalutati dalla maggioranza degli utenti presenti sui social network: un esempio è rappresentato da foto che mostrano i cani alle prese con corna e zampe di bovini con ancora attaccati peli e residui stallatici. La toxoplasmosi invece, è una malattia che ha gravi ripercussioni sugli

immunodepressi e sulle donne in gravidanza (danni permanenti al feto come ritardi mentali, epilessia, ecc.). Secondo uno studio (Dubey et al., 2005), raramente, la carne risulta contaminata con questo parassita, ma anche piccole quantità sono potenzialmente sufficienti ad infettare il tratto intestinale dei gatti alimentati a crudo e presentarsi sotto forma di oocisti nelle loro feci. La contaminazione batterica delle carni può avvenire se non vengono rispettate le principali e più basiche regole di igiene. A questo proposito esiste uno studio (Lejeune et al., 2001) che spiega che tale principio vale a partire dalla produzione, fino alla manipolazione dei tagli da parte del consumatore: la contaminazione infatti può avvenire durante la lavorazione dei quarti in un macello attraverso il contatto con i batteri presenti nelle pelli o nelle interiora, durante il packaging, la vendita al banco del macellaio o del supermercato e infine durante la manipolazione nella propria cucina domestica.

1.5.3 PROBLEMI DOVUTI ALLA PRESENZA DI OSSA

I sostenitori della dieta BARF affermano che ci sia minore probabilità di incorrere in problemi dovute all'ingestione con ossa crude, rispetto alle ossa cotte. In realtà, a livello scientifico, la veridicità di questa affermazione non è mai stata valutata. In generale, i rischi in cui l'animale domestico può incorrere mangiando ossa sono: frattura dei denti e danni gastrointestinali come occlusioni o perforazioni. È pur vero che chi pratica la dieta BARF presta particolare attenzione alle tipologie di ossa che vengono fornite al proprio animale e alla loro modalità di somministrazione. Ciò nonostante, è riportato di frequente nei gruppi di discussione che un eccessivo apporto di ossa polpose nella dieta, porti a casi di stipsi o feci dure.

1.5.4 INGREDIENTI NOCIVI O NON ADEGUATI

Sebbene molti proprietari dimostrino di conoscere bene quali alimenti siano dannosi o nocivi per i propri animali, molto spesso questi vengono pubblicizzati, consigliati o venduti come prodotti idonei ma che in realtà, a livello scientifico, sono ancora molto discussi. Un esempio è l'aglio: nella dieta BARF è spesso utilizzato perché ritenuto avere diversi effetti positivi tra cui la purificazione del sangue e la capacità di agire come repellente per gli ectoparassiti. In realtà non esistono prove scientifiche reali a favore di questa teoria. Al contrario esistono

studi in letteratura, che dimostrano che l'assunzione di aglio provoca danni agli eritrociti (Lee et al., 2000).

Altri prodotti che sui forum BARF si sconsigliano di consumare crudi sono le patate e i legumi. Esistono poi esempi di alimenti che genericamente nella dieta BARF vengono consumati crudi come l'uovo che, al di là della potenziale presenza di salmonella, contiene avidina nell'albume, che cattura la biotina e non la rende biodisponibile per l'organismo.

Un altro prodotto messo in discussione è il pesce: alcune specie (es. sgombridi) contengono tiaminasi, un enzima che rende la tiamina indisponibile. Oltre alla tiaminasi, il pesce contiene anche la trimetilammina, una sostanza che si forma con l'avanzamento dello stato di decomposizione e che, se ingerita, entra nel sistema circolatorio legandosi al ferro. Se assunta per lunghi periodi può portare ad anemia.

1.5.5 IL PROBLEMA DELLA TIREOTOSSICOSI

Un recente studio (Kohler et al., 2012), ha descritto 12 cani con una elevata concentrazione di tiroxina nel sangue (alcuni dei quali con evidenti segni di ipertiroidismo) dovuti all'assunzione di una dieta cruda. Tutti i soggetti sono rientrati nel *range* di valori normali dopo un cambio di dieta. Questo problema, è dovuto al frequente uso nella dieta BARF, di parti anatomiche come carni della testa e del collo, nonché l'uso di trachee e laringi. Questi tagli possono contenere ghiandole tiroidee o loro parti e veicolare quindi ormoni tiroidei. Tali ormoni risultano essere termostabili, quindi anche le diete casalinghe cotte sono potenzialmente a rischio qualora includano quei tagli. Fino ad ora non ci sono studi scientifici che abbiano valutato la dose entro la quale questi prodotti non creino danni agli animali e pertanto dovrebbero essere considerati non idonei al consumo.

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio ha avuto due obiettivi principali.

Poiché l'alimentazione BARF è diffusa in molti Paesi ma mancano dati sulla percezione del fenomeno in Italia, il primo obiettivo è stato quello di ottenere informazioni dai proprietari italiani di cani alimentati con questa tipologia di dieta per delinearne il profilo, verificare le ragioni che hanno portato alla scelta di una dieta cruda, capire come sono venuti a conoscenza di questa tendenza alimentare e valutare le loro conoscenze in termini di sicurezza alimentare. Inoltre, si è proceduto a delineare il profilo del cane alimentato con dieta BARF, ricavando informazioni riguardanti razza, taglia, età, sesso e condizione riproduttiva.

Numerosi studi sono stati condotti allo scopo di verificare i rischi microbiologici derivanti dall'uso di alimenti BARF sui cani che li consumano e sui proprietari. Queste ricerche provengono per lo più da Canada e Stati Uniti, dove l'impiego della dieta BARF e del crudismo in generale sono particolarmente diffusi e gli alimenti BARF sono facilmente reperibili sul mercato. Mancano invece dati provenienti da prodotti venduti sul territorio italiano. Il secondo obiettivo della tesi è stato quindi quello di verificare la qualità microbiologica di prodotti alimentari di origine animale venduti *online* e destinati a cani alimentati con dieta BARF.

3. MATERIALI E METODI

3.1 INDAGINE TRA I PROPRIETARI BARF

Per delineare il profilo dei proprietari che somministrano al proprio cane una dieta BARF e le motivazioni che li spingono a questa scelta, nonché le caratteristiche peculiari della gestione di questa dieta, è stato creato un questionario tramite l'applicazione Google Forms® ed è stato poi divulgato tramite il social network Facebook® in vari gruppi di discussione inerenti all'argomento (ad esempio Barf&Co, Barf.it, Barf opinioni libere e senza censura, ecc.).

Il questionario comprendeva 44 domande tutte a risposta multipla (unica, con un limite di opzioni da scegliere o con numero indefinito di opzioni possibili). È stato suddiviso in 3 parti:

1. Nella prima parte si chiedevano i dati del cane inerenti a razza, età, sesso, peso, condizione riproduttiva e stato di salute;
2. Nella seconda parte sono stati raccolti i dati anagrafici del proprietario e del suo stato di famiglia;
3. La terza parte si può suddividere ulteriormente in due macroargomenti: la parte A riguarda le motivazioni che hanno portato i proprietari di cani alla scelta di questa dieta, la conoscenza dei rischi legati all'uso di BARF e il parere dei proprietari riguardo vantaggi e svantaggi di tale dieta; la parte B invece raccoglie informazioni riguardo la formulazione della dieta somministrata.

Il questionario è stato condiviso in rete per un mese, dal 3 Settembre 2015 al 3 ottobre 2015.

Una copia del questionario è presente in Allegato I.

3.2 ANALISI DI LABORATORIO

Le analisi descritte in seguito sono state svolte presso il laboratorio di Microbiologia degli Alimenti del Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS) tra Maggio e Novembre 2015.

3.2.1 DESCRIZIONE DEI CAMPIONI

Sono stati acquistati 13 campioni da un noto sito *e-commerce* specializzato in vendita di carne cruda preconfezionata destinata all'alimentazione BARF per cani.

Su questo sito internet vengono riportate le principali caratteristiche che contraddistinguono i prodotti in vendita e che di seguito sono riassunte:

- la carne proviene da animali allevati in Germania (zona di Schleswig Holstein e adiacente ai Paesi Bassi). I fornitori sono selezionati tra le piccole aziende private dove gli animali sono allevati con metodi non intensivi;
- la lavorazione della carne è rapida e avviene rispettando la catena del freddo che si conclude con il congelamento a -18°C . La carne può essere macinata o trasformata e non sono aggiunti additivi o conservanti;
- il confezionamento è affidato ad un servizio qualificato e conforme all' ISO 9001:2000. Inoltre, tutta la merce viene consegnata al corriere congelata e l'arrivo a destinazione dovrebbe avvenire entro 1 o 2 giorni lavorativi. Se alla consegna le confezioni dovessero risultare totalmente o parzialmente scongelate, questo non rappresenta una perdita di qualità del prodotto e non dà diritto ad alcun risarcimento;
- i prodotti sono sottoposti a controllo volontario da autorità nazionali competenti. I controlli garantiscono la freschezza e la qualità dei prodotti. Gli standard di controllo sono in riferimento alle caratteristiche della carne destinata al consumo alimentare umano.

I 13 campioni di carne acquistati sono elencati in Tabella 3, insieme alla descrizione del prodotto, così come riportata sul sito.

Trippa verde	Non lavata, contiene residui di cibo e verdure predigerite
---------------------	--

Salmone	Macinato grosso
Manzo	Macinato con carne, trippa, frattaglie e cartilagine/ossa
Mix di trippa verde	Trippa verde mista a carne della gola e della testa (bovino)
Cavallo	Muscolo con una parte di cartilagine. Contiene pochi tendini e fasce
Fegato	Di bovino, macinato grosso
Reni	Di bovino, macinato grosso
Anatra	Carne, ossa e frattaglie <i>“come si trova in natura”</i>
Tacchino	Muscolo del petto e della coscia
Power mix	Mix di carne della bocca (bovino), faringe ricca di carne, trippa verde e il 15% di sego (privo di tessuto tiroideo)
Ragù pollame	Mix di cuori e stomaci di polli e tacchini
Colli di pollo tritati	-
Carne della testa	Di bovino, macinato grosso

Tabella 3: campioni acquistati e relativa descrizione del prodotto presente nel sito.

I campioni acquistati sono arrivati in laboratorio circa 48 ore dopo l'ordine in confezioni da 500g o da 1kg. Al momento della consegna i campioni risultavano congelati e le confezioni

erano integre. Sono stati immediatamente messi in congelatore a -18°C. Le confezioni presentavano in etichetta: il nome del prodotto, la composizione analitica e per i prodotti composti da più ingredienti era presente la percentuale di inclusione di ciascun componente.

3.2.2 CAMPIONAMENTO

Per poter meglio effettuare il campionamento dell'aliquota necessaria per le indagini microbiologiche, si è fatto scongelare il prodotto di nostro interesse qualche ora prima del prelievo. Al momento dello scongelamento, risultavano esserci importanti perdite di liquido che facevano pensare ad una poco accurata chiusura delle confezioni. Tutti i campioni venivano prelevati in asepsi, garantita dalla lampada Bunsen e dall'uso di strumentazioni sterili (guanti, pinzette, forbici, ecc.), trasferendo l'aliquota prelevata, dopo averla opportunamente pesata in contenitori sterili della capacità di 200 ml. Le determinazioni poi, venivano ripetute a 0, 48 e 72 ore, rispettivamente cioè a T₀, T₂ e T₃.

Il campionamento è stato fatto a T₀ anche per tutte le successive determinazioni.

Per le analisi a T₀ sono stati prelevati 20g per le analisi quantitative, 25g per ciascuna delle analisi qualitative (*Salmonella* spp. e *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*.) e 10g per la misurazione del pH che veniva effettuata successivamente e, quindi, il campione veniva nuovamente congelato all'interno di recipienti plastici del volume di 200 ml. Per le analisi ai tempi rispettivamente di T₂ e T₃, i prelievi sono stati eseguiti in modo tale da poter riporre i campioni in frigorifero per la *shelf-life* sia a 2°C che a 7°C, ovvero conservati all'interno di contenitori sterili della capacità di 200 ml. Pertanto sono stati prelevati 20g per le analisi quantitative, 25g per ciascuna analisi qualitativa e 10g per la misurazione del pH e sono stati riposti in frigo a 2°C. Il medesimo prelievo è stato fatto per i campioni riposti, invece, a 7°C.

Ad ogni campione è stato assegnato un numero di registro progressivo, tale da permettere una rapida identificazione e classificazione. Per ciascun campione è stata compilata anche una scheda del registro riservato alla registrazione dei risultati ottenuti, riportando le informazioni conosciute, come il luogo del prelievo e la matrice.

I 13 campioni sono stati processati per le seguenti ricerche microbiologiche (Tabella 4):

Analisi Quantitative	Analisi Qualitative
Carica microbica totale	<i>Listeria</i> spp.
Coliformi totali	<i>Salmonella</i> spp.
Coliformi fecali	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i>	

Analisi Quantitative	Analisi Qualitative
<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Listeria</i> spp. <i>Clostridium difficile</i>	

Tabella 4: batteri ricercati nelle indagini di questo studio

3.2.3 ANALISI QUANTITATIVE

Per analisi quantitativa si intende la procedura di determinazione del numero di Unità Formanti Colonie (o UFC) per millilitro o grammo di campione. A tale scopo è necessario applicare alle indagini microbiologiche la tecnica delle diluizioni seriali in modo da permettere una conta delle colonie “coltivate” accurata e precisa.

3.2.3.1 PREPARAZIONE DEI TERRENI

I terreni di coltura utilizzati per le analisi microbiologiche sono stati preparati preventivamente in quantitativo sufficiente e stoccati in frigorifero sino alla data in cui sono state svolte le attività di ricerca che hanno interessato i campioni BARF.

Per la loro preparazione sono stati necessari alcuni strumenti quali:

- cappa chimica;
- cilindro graduato;
- acqua deionizzata;
- cucchiaio o spatolina;
- navicelle;
- bottiglia della capacità di 500ml o 1 litro;
- bilancia tecnica di precisione;
- microonde e autoclave;
- piastre Petri o provette sterili;

In Tabella 5, sono riportati tutti i terreni e i brodi di coltura impiegati nelle analisi:

TERRENO	RICERCA	TIPOLOGIA
Plate Count Agar (PCA)	Conta microbica totale	Terreno che contiene triptone, lievito e glucosio, tre sostanze utili all'accrescimento della maggior parte dei

TERRENO	RICERCA	TIPOLOGIA
		batteri
Mac-Conkey Agar (MACC)	Coliformi fecali	L'agar MacConkey è un terreno di coltura selettivo e differenziale per i batteri Gram negativi in particolare di coliformi fecali.
Sorbitol MacConkey Agar (SMAC)	<i>E. coli</i>	Terreno selettivo per l'isolamento e la differenziazione di <i>Escherichia coli</i> da campioni alimentari
Glutamate Starch Phenol Agar (GSP)	<i>Pseudomonas</i> spp.	Terreno selettivo per l'isolamento di <i>Pseudomonas</i> e <i>Aeromonas</i> nella matrice alimentare. Per tale identificazione viene additivato un determinato quantitativo di penicillina.
Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG)	Coliformi totali	Terreno selettivo e differenziale per l'isolamento ed il conteggio degli enterobatteri negli alimenti
Listeria PALCAM Agar Base (PALCAM)	<i>Listeria</i> spp.	Terreno selettivo utilizzato per la differenziazione e l'isolamento di <i>Listeria monocytogenes</i> nei campioni clinici, nel latte, nei formaggi e in campioni di origine diversa, anche fortemente contaminati
UVM Broth o Listeria Enrichment Broth	<i>Listeria</i> spp.	Brodo di pre-arricchimento utilizzato per la ricerca qualitativa di <i>Listeria monocytogenes</i>
BPW (Acqua peptonata)	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella</i> spp.	Brodo di pre-arricchimento utilizzato per la ricerca qualitativa di <i>Yersinia enterocolitica</i> e <i>Salmonella</i> spp.
Rappaport Vassiliadis (RV)	<i>Salmonella</i> spp.	Brodo di arricchimento selettivo per l'identificazione di <i>Salmonella</i> spp.
Selenite Broth	<i>Salmonella</i> spp.	Brodo di arricchimento selettivo per l'identificazione di <i>Yersinia enterocolitica</i> .
Fraser Broth	<i>Listeria monocytogenes</i>	Brodo di arricchimento selettivo per l'identificazione di <i>Listeria monocytogenes</i>

TERRENO	RICERCA	TIPOLOGIA
XLT4 Agar base	<i>Salmonella</i> spp.	Terreno utilizzato per l'isolamento e l'identificazione di Salmonelle
Yersinia Selective Agar Base (CIN)	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Terreno selettivo e differenziale per l'identificazione di <i>Y.enterocolitica</i> se utilizzato con l'aggiunta di Yersinia selective supplement SR0109
Agar Listeria according to Ottaviani and Agosti (ALOA)	<i>Listeria monocytogenes</i>	Terreno selettivo per l'identificazione di Listerie e differenziazione di <i>L.monocytogenes</i>
Klinger's Iron Agar (KIA)	identificazione <i>Y.enterocolitica</i>	Terreno impiegato per la differenziazione delle Enterobatteriacee in base alla capacità specie-specifica di utilizzare gli zuccheri (glucosio o lattosio) o di produrre idrogeno solforato. A seconda della fermentazione si otterranno risultati diversi: ad esempio viraggio di colore (a rosso o giallo o nero) che può avvenire sul fondo o sullo slant.
Simmon's Citrate Agar	identificazione <i>Y.enterocolitica</i>	Terreno che differenzia i batteri gran-negativi in base all'utilizzo del citrato. Quando il citrato viene utilizzato avviene un viraggio del colore da verde a blu intenso
SIM Medium Agar	Test motilità e Indolo	Terreno differenziale utilizzato per verificare la mobilità dei batteri. Viene impiegato anche per verificare la produzione di indolo da parte dei batteri con l'aggiunta di Kovac's reagent al momento del test.

Tabella 5: terreni impiegati nelle indagini.

3.2.3.2 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni, sono stati mantenuti in asepsi e miscelati in sacchetto sterile con 180g di soluzione fisiologica sterile (composta da peptone 0,15% e NaCl 0,85% in 1000ml di acqua deionizzata) per poter ottenere una diluizione 1:10 (campione ÷ diluente). Sono stati lasciati riposare per circa 5 minuti e successivamente messi in Stomacher 400 per circa 1 minuto in modo tale da distribuire omogeneamente, nella soluzione fisiologica, i microrganismi presenti

nella matrice. Infine, il contenuto dei sacchetti è stato filtrato e versato in contenitori sterili, andando a costituire la diluizione madre (1:10).

In seguito sono state allestite una serie di diluizioni seriali a partire dalla diluizione madre (1:10), in modo tale da ottenere diluizioni in successione 1:100, 1:1000, 1:10000 e così via. Alla fine quindi, ogni soluzione rappresentava una concentrazione dieci volte minore rispetto alla precedente. Le diluizioni venivano fatte in provette contenenti 9 ml di soluzione fisiologica sterile e venivano costituite prelevando 1ml. Prima del prelievo, ogni provetta veniva preventivamente agitata tramite *Vortex*.

3.2.3.3 SEMINA E INCUBAZIONE

In questa fase si procede alla semina su piastre sterili preventivamente contrassegnate dal numero identificativo associato al campione. L'operazione avviene sempre in condizioni di sterilità. La semina è stata fatta:

-per spatolamento: attraverso l'inoculo di 0,1ml di campione ad una determinata diluizione tramite pipetta con punta sterile su una piastra già contenente il terreno. La semina deve avvenire previo agitazione tramite *Vortex*, per poter prelevare 0,1ml quanto più rappresentativi possibili;

-per inclusione: si preleva 1ml del campione ad una determinata diluizione tramite pipetta con punta sterile e si inocula nella piastra sterile vuota. A questa si aggiunge un sottile strato di terreno, mantenuto liquido e si omogeneizza con leggeri movimenti a circolari a formare un ipotetico "8". Si lascia solidificare il terreno e successivamente si procede col formare un secondo strato dello stesso terreno.

In seguito alla semina, ogni piastra è stata messa ad incubare a temperature (in genere con l'aiuto di termostati a temperatura controllata) e tempi specifici per permettere ai microrganismi di crescere nelle loro condizioni ottimali. Tutte le piastre sono state lasciate incubare capovolte per evitare la formazione di condensa.

In Tabella 6 sono riportati i terreni impiegati e le modalità di semina e incubazione:

Plate Count Agar (o PCA)	La semina è stata fatta per inclusione e poi posto in incubatore a 31°C per 48 ore. Una prima lettura viene comunque fatta anche a 24 ore.
Violet Red Bile Glucose Agar (o VRBG)	Anche in questo caso la semina è stata fatta per inclusione. L'incubazione è stata fatta a 37°C per 24 ore.

Mac-Conkey Agar (o MACC)	La semina è avvenuta per spatolamento. La piastra seminata è stata messa ad incubare a 42°C per 24 ore.
Sorbitol Mac-Conkey Agar (o SMAC)	In questo caso è stato seminato per spatolamento e posto a incubare a 37°C per 24 ore.
Glutamate Starch Phenol Agar (o GSP)	Come i precedenti è stata utilizzata la tecnica dello spatolamento. L' incubazione è avvenuta a temperatura di 20/22°C per 48/72 ore.
Listeria Palcam Agar Base (o PALCAM)	In questo caso, prima della semina, il campione ha subito una fase di pre-arricchimento in BPW della durata di un' ora. La semina è stata fatta per spatolamento a partire dalla diluizione madre per tutti i campioni, mentre l' incubazione è avvenuta a 37°C per 48 ore.
Clostridium Difficile Agar (o CD)	La semina è avvenuta per spatolamento solo in seguito a pastorizzazione del campione. Per la pastorizzazione sono stati prelevati 6 ml dalla diluizione madre e sono stati trasferiti in provette sterili. Sono state poi leggermente forate sul tappo (con punteruolo sterile) e messe in becher con acqua che è stata portata fino a leggera ebollizione in microonde. L' incubazione è stata fatta in anaerobiosi (tramite l' impiego di una giara ermetica e con l' ausilio di una certa quantità di Anaerocult, un dispositivo chimico, è possibile generare un ambiente anaerobico all' interno del contenitore) a 37°C per 48/72 ore. In questo caso il terreno era stato acquistato in piastra.

Tabella 6: terreni, tempi e modalità di semina e crescita microbica tramite incubazione in termostato

3.2.3.4 CONTA DELLE COLONIE

Una volta concluso il periodo di incubazione, le colonie presenti su ciascuna piastra venivano contate. Il conteggio avviene tramite la formula:

$$N = \frac{n/p}{V * d}$$

N: numero di colonie su grammo o millilitro

n: numero di colonie nelle piastre considerate

p: numero di piastre considerate

V: volume dell' inoculo in millilitri

d: diluizione considerata

Per essere contabili, le piastre devono contenere un numero statisticamente significativo di colonie, compreso quindi fra 30 e 300. In realtà, se il terreno è selettivo si possono prendere come reali, valori anche intorno al 15. Numeri superiori a 300 sono invece difficili da contare, perché spesso le colonie non sono più isolate.

I risultati così ottenuti vengono espressi in Unità Formanti Colonie per grammo (o UFC/g) e vengono riportati sul registro.

In Tabella 7 sono riportate le caratteristiche che le colonie dovevano presentare per essere contabili, su ciascun terreno:

PCA	Le colonie possono essere bianche, gialle o rosa e di piccole dimensioni.
VRBG	Le colonie considerate erano quelle di diametro maggiore di 0.5 mm di colore rosso-viola con o senza alone rosso-viola.
MACC	Le colonie lattosio-positive appaiono rosse e circondate da un alone. Le colonie lattosio-negative sono incolori; venivano considerate solo le prime.
SMAC	Venivano contate le colonie rosse anche con eventuale presenza di alone.
GSP	Le colonie di <i>Pseudomonas</i> spp. appaiono di colore violetto.
PALCAM	Le colonie si presentano di colore grigio verdastro con centro nero infossato, circondate da un alone nero, con la tipica forma a “pedina di dama”
Clostridium Difficile Agar (o CD)	Le colonie si presentano di 4 - 6 mm di diametro , irregolari , in rilievo, opache, e di color grigio-bianco

Tabella 7: caratteristiche di crescita delle colonie per ciascun terreno.

3.2.4 ANALISI QUALITATIVE

Le analisi qualitative sono impiegate per individuare la presenza o l'assenza di un determinato microorganismo. In questo studio è stata ricercata la presenza di *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *Yersinia enterocolitica*. La metodologia ufficiale elenca una serie di passaggi:

- Fase di pre-arricchimento;
- Fase di arricchimento;
- Prelievo e semina.

Ognuna di questa fasi avviene a 24 ore di distanza l'una dall'altra e sempre in condizioni di sterilità.

3.2.4.1 RICERCA DI LISTERIA MONOCYTOGENES

1.Pre-arricchimento: in questa fase iniziale, ai 25g di campione prelevato vengono aggiunti 225 ml di Listeria Enrichment Broth (UVM) all'interno di un contenitore sterile con numero identificativo del campione; in seguito viene messo immediatamente ad incubare a 37° C per 24 ore.

2.Arricchimento selettivo: trascorse le 24 ore, viene prelevato 1 ml della coltura per trasferirlo in una provetta sterile contenente 9 ml di Fraser Broth (di colore ambrato) e successivamente riposto nuovamente a incubare a 37° C per 24 ore.

3.Semina: in questo caso, se si verifica un viraggio del colore da ambrato verso il nero, è segnale di una possibile presenza di *Listeria* spp.. Solo in questo caso, si passa alla semina su piastre. Quindi, viene prelevato il contenuto della provetta, tramite un'ansa sterile e viene seminato per strisciamento a quadranti su un terreno selettivo, genericamente ALOA o PALCAM. In questa sperimentazione, per la ricerca qualitativa di *Listeria* spp. è stato utilizzato ALOA: questa scelta è dovuta principalmente alla capacità di questo terreno di identificare la presenza di *Listeria monocytogenes* con la formazione di colonie verde-blu circondate da un evidente alone opaco; *Listeria* spp. invece si presenta con colonie verde-blu ma senza alone. Le piastre seminate sono state incubate a 37°C per 24/48 ore.

4.Conservazione: nel caso in cui al momento della lettura, è risultato esserci una crescita e quindi la sospetta presenza di *Listeria* spp., per ogni piastra sono state prelevate da una a tre colonie e sono state trasferite su una provetta sterile contenente PCA precedentemente preparato e lasciato solidificare a becco di clarino. Le colonie venivano seminate per infissione con ago e strisciamento dello *slant*. Dopo aver riportato il numero identificativo del campione sulla provetta, è stato lasciato crescere a 37°C per 24/48h e infine conservato in frigorifero per eventuali ulteriori accertamenti.

3.2.4.2 RICERCA DI SALMONELLA SPP.

Pre-arricchimento: i 25g di campione appena prelevato vengono messi in un barattolo sterile, unitamente a 225 ml di BPW e messi ad incubare a 37°C per 24 ore.

Arricchimento: è stato inoculato 1 ml di coltura in 9 ml di Rappaport Vassiliadis broth (RV) (di colore azzurro-blu intenso) precedentemente distribuito in provette sterili. Le provette ottenute sono state incubate a 37° C per 24 ore.

Semina: se il brodo colturale vira da colore blu verso azzurro o addirittura bianco con relativa torbidità, è possibile ci sia presenza di *Salmonella* spp. e pertanto si procede con la semina. Le colture risultate positive, sono state seminate con un'ansa sterile su XLT4 Agar con semina per strisciamento a quadranti. Le piastre sono state poi poste a incubare a 37° C per 24/48 ore.

Lettura: Le colonie di *Salmonella* si presentano con un centro nero (produzione di idrogeno solforato) ed alone leggermente rossiccio. In caso di risultato negativo, sulla piastra potrebbe non crescere nulla oppure potrebbero formarsi colonie bianche corrispondenti a Coliformi. Nel caso di sospetto *Salmonella* spp. dovrebbe avvenire l'isolamento delle colonie sospette e il conseguente riconoscimento tramite terreno KIA e successivamente a eventuale identificazione tramite test biochimico. Durante questa sperimentazione non è mai stato necessario superare la fase di lettura su XLT4.

3.2.4.3 RICERCA DI YERSINIA ENTEROCOLITICA

Pre-arricchimento: corrisponde a quella per *Salmonella* spp., pertanto si parte dai medesimi 25g addizionati a 225ml di BPW, messi ad incubare per 24 ore a 37°C

Arricchimento: è stato prelevato 1ml da BPW e inoculato in provette sterili contenenti 9ml di Selenite F-broth (BBL). Le provette sono state messe ad incubare per 24 ora a 37°C.

Semina: se avviene un viraggio di colore del brodo, è possibile che via sia presenza di *Y.enterocolitica* e pertanto si procede con la semina. La semina viene fatta su piastra per strisciamento a quadranti tramite l'utilizzo di un'ansa sterile. Il terreno impiegato è Yersinia Selective Agar base (o CIN), precedentemente preparato e distribuito in piastre Petri. Successivamente alla semina, le piastre sono state lasciate a temperatura ambiente per 24/48 ore.

Lettura: Le colonie di *Y.enterocolitica* si presentano con la tipica forma ad "occhio di bue", rosso scuro al centro circondato da un bordo trasparente. Le colonie sono state isolate su provette contenenti KIA a becco di clarino e sono state lasciate a temperatura ambiente per 24/48 ore.

Accertamenti successivi e conservazione: Per risultare positivo a *Y.enterocolitica*, il KIA deve presentare fondo giallo e becco rosso. Tutti i campioni sono stati sottoposti al test

dell'ossidasi (per essere considerata sospetta *Y.enterocolitica* deve risultare negativo), isolando una colonia del batterio su piastre PCA e lasciandola crescere per 24 ore in maniera tale da risultare incolore e procedendo quindi con il test dell'ossidasi. Contemporaneamente venivano prelevate alcune colonie isolate dalla piastra di CIN e venivano trasferite su piastre di Simmon's Citrate Agar. Esso si presenta di colore verde brillante e risulta virare al blu scuro nel caso in cui la colonia utilizzi il sodio citrato presente nel terreno. Per risultare positivo a *Y.enterocolitica*, non deve avvenire alcun viraggio. Solo nel caso in cui il test del citrato risultasse negativo, si è proceduto con l'isolamento della colonia per infissione tramite ago in due diverse provette, entrambe contenenti SIM medium agar, per procedere al test della motilità e dell'indolo. SIM Medium Agar è un terreno differenziale utilizzato per evidenziare la motilità dei microrganismi, la produzione dell'indolo e di idrogeno solforato. La motilità si evidenzia per intorbidamento del terreno a partire dal punto di inoculo. Per evidenziare la produzione di Indolo si procede versando una goccia di reagente Kovac's: nel caso della *Y.enterocolitica* dovrebbe risultare positiva alla motilità a 25°C dopo 24 ore e positiva anche alla produzione di indolo entro 5 minuti dal contatto col reagente; non dovrebbe invece verificarsi produzione di idrogeno solforato.

3.2.5 DETERMINAZIONE DEL pH

La determinazione del pH è stata fatta in un momento successivo agli accertamenti microbiologici. In seguito al campionamento, il pH da verificare per le analisi a T₀ veniva immediatamente riposto in congelatore in seguito a opportuna identificazione, mentre le misurazioni valide per T₂ e T₃ (rispettivamente a 2°C e 7°C e a 2°C) venivano riposte insieme ai campioni nel frigorifero per la *shelf-life* e congelati solo una volta raggiunto il giorno corrispondente, ovvero a T₂ o a T₃. Per la determinazione, i campioni, ancora parzialmente congelati, venivano omogeneizzati in acqua deionizzata e successivamente filtrati tramite l'utilizzo di un foglio di carta da filtro appoggiato ad un imbuto. Il liquido filtrato percolava all'interno di una provetta sterile e successivamente il pH veniva determinato tramite pHmetro Toledo-Mettler S220 SevenCompact™ pH/Ion. Queste operazioni non prevedevano le condizioni di sterilità.

3.3 ELABORAZIONE STATISTICA

Sia i dati raccolti tramite il questionario sia quelli ottenuti attraverso analisi microbiologiche sono stati riportati su due diversi fogli Microsoft® Excel e sottoposti ad analisi di statistica descrittiva.

In particolare nelle analisi microbiologiche, sono stati inseriti i dati relativi a: numero di registro del campione, breve descrizione della matrice, cariche microbiche (espresse in log UFC/g) ottenute per ciascun criterio microbiologico indagato, temperatura di conservazione dei campioni (2° o 7°C) e tempi in cui sono state effettuate le analisi (T0, T2 e T3). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) mediante procedura GLM di SAS allo scopo di valutare l'effetto del tempo (T0 vs T2 vs T3) sulle cariche microbiche dei campioni conservati a 2°C. I confronti delle medie dei tempi di analisi sono state effettuate mediante test di Bonferroni. Un'ulteriore ANOVA (procedura GLM, SAS) è stata effettuata per confrontare l'effetto della temperatura (2°C vs 7°C) sulla carica microbica dei campioni analizzati 2 giorni dopo lo scongelamento (T2). Il test di Bonferroni è stato applicato anche in questo caso per il confronto tra le medie. Infine è stato calcolato il numero di campioni non conformi ai criteri microbiologici previsti dal Regolamento (CE) 1441/2007 per le carni crude macinate. E' quindi stato effettuato un test non parametrico di confronto tra k proporzioni al fine di valutare, per ciascun criterio microbiologico, le differenze tra le percentuali di campioni non conformi ai limiti di tollerabilità tra T0, T2 e T3 per i campioni conservati a 2°C e tra 2° e 7°C per i campioni analizzati a T2.

4.RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 INDAGINE TRA I PROPRIETARI BARF

Le risposte ricevute sono state 218. Il questionario è stato pubblicato solo in lingua italiana ma circa il 3% dei rispondenti proviene da paesi esteri, per lo più Europei (6 su 7).

4.1.1 PRIMA PARTE – DATI DEI CANI

In generale la maggior parte dei cani risulta di taglia grande (48%), seguita dalla taglia media (34%), dalla piccola (11%) e infine dalla gigante (7%). All'interno della popolazione indagata sono state riconosciute 60 razze. Le principali individuate sono state Labrador e Golden Retriever (14%), Cane Lupo Cecoslovacco (6%), Pastore Tedesco (6%), Border Collie (4%), Akita Inu (4%), Australian Shepherd (3%). Le razze meno rappresentate sono il 33% del totale. Il 18% dei cani risultavano di razza meticcia di cui il 51% tra i 11-25kg (taglia media), il 28% di peso inferiore ai 10 kg (taglia piccola), e il 20% sopra i 26kg (taglia grande/gigante).

Il 51% dei cani era di sesso maschile mentre il 49% di sesso femminile.

È stato chiesto se l'animale era stato sterilizzato e 147 proprietari (il 67% del totale) hanno risposto negativamente. Dei 147 cani interi, 58 risultavano essere femmine, mentre i maschi 89; tra i cani interi, 81 erano di taglia grande o gigante e 52 di taglia media e solo 14 di taglia piccola. La sterilizzazione è uno degli argomenti più dibattuti fra i proprietari BARF:

l'opinione generale è che la sterilizzazione sia un'operazione innaturale e innecessaria.

La maggior parte dei proprietari (85%) ritengono, , che il proprio cane sia di peso ideale e goda di ottima salute.

Nelle risposte inerenti alla domanda sull'età del cane è interessante notare che il 14% e il 12% appartengono rispettivamente a cuccioli di età

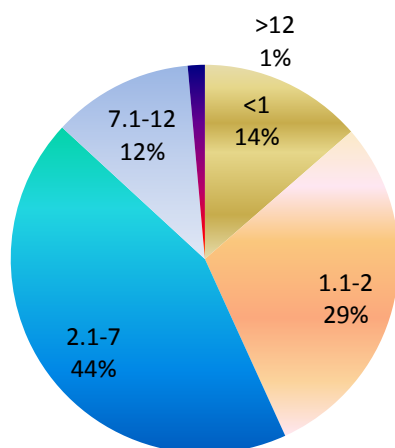


Figura 1: Classe di età dei cani

inferiore a un anno e agli anziani di età superiore ai 7 anni. La fascia più corposa resta comunque quella tra i 2 e i 7 anni con il 44% sul totale.

Un altro dato interessante è quello ricavato dalle abitudini del cane: il 77% vive sempre in casa con la famiglia, il 17% entra solo in certi momenti (ad esempio nelle ore più calde o per dormire) mentre solo il 6% è sempre lasciato fuori in giardino. Questo significa che la maggior parte dei cani nella popolazione indagata vive a stretto contatto con la famiglia, condividendo gli spazi comuni.

Il 55% dei cani BARF viene portato del veterinario solo in caso di problemi sanitari e per le profilassi vaccinali annuali. Interessante è la valutazione delle risposte racchiuse nel 6% di “altro”: la maggior parte ha desiderato specificare, infatti, che le vaccinazioni sono state fatte solo una volta da cuccioli e poi non c’è stato alcun motivo di portare il proprio cane dal veterinario. Altri, invece, effettuano le titolazioni anticorpali (non viene mai precisato l’intervallo di tempo fra un test e quello successivo) per verificare l’efficacia dei vaccini ed eventualmente, ripeterli. Nella dieta BARF la funzione ed efficacia dei vaccini è molto discussa e ci sono opinioni molto contrastanti non solo fra i proprietari ma anche fra i veterinari a favore delle diete a crudo. Molti proprietari BARF non ritengono opportuno effettuare le vaccinazioni annuali ai propri cani perché ritengono che *“ogni vaccino fatto in ogni momento della vita di un cane può potenzialmente ucciderlo o creargli seri problemi”*, come viene spiegato in un articolo pubblicato sul Dogs Naturally Magazine e disponibile *online* (www.dogsnaturallymagazine.com). Sempre in questo articolo, viene fatto riferimento alla scarsa attenzione che il veterinario porrebbe verso la pratica dell’immunizzazione naturale che permette all’organismo di sviluppare un sistema immunitario altamente funzionale, senza la necessità di somministrare vaccinazioni. E’ dichiarato inoltre nella stessa fonte che i cuccioli *“sono vaccinati troppo presto, troppo spesso e con troppi vaccini per volta”*. Questo implica una soppressione del sistema immunitario con conseguenze di vario genere. Viene consigliato pertanto di non vaccinare.

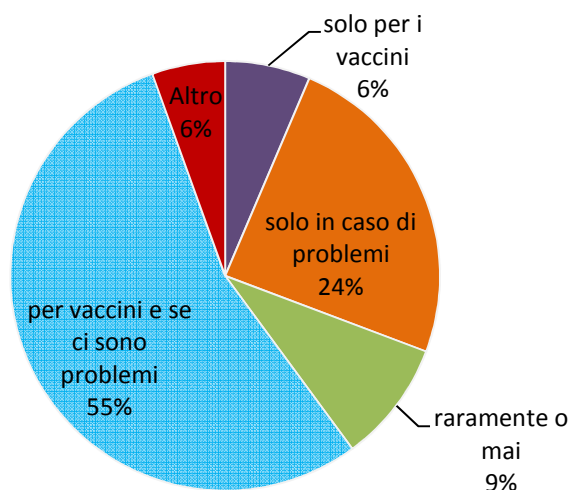


Figura 2: Frequenza delle visite veterinarie

4.1.2 SECONDA PARTE – DATI DEL PROPRIETARIO

Al fine di esemplificare l'analisi dei dati, le regioni e le relative province sono state così suddivise:

- **Nord:** Friuli-Venezia Giulia, Veneto, Trentino Alto-Adige, Lombardia, Piemonte, Valle d'Aosta, Liguria e Emilia Romagna;
- **Centro:** Toscana, Umbria, Marche, Lazio, Abruzzo e Molise;
- **Sud e isole:** Campania, Basilicata, Puglia, Calabria, Sicilia e Sardegna;
- **Eestero.**

È risultato quindi, che il 59% dei proprietari proveniva da province del Nord Italia (per lo più del Veneto e della Lombardia), il 23% dal Centro (principalmente Lazio e Toscana), il 15% dal Sud o dalle Isole e infine il 3% dall'estero (Svizzera, Belgio e Tanzania).

L'82% dei proprietari che hanno partecipato all'indagine sono donne. Inoltre, il 65% dei rispondenti appartiene alla fascia di età tra i 21 e i 40 anni, il 32% tra i 40 e i 60 anni, solo il 2,5% è di età inferiore ai 20 anni e lo 0,5% sopra i 60. È stata anche valutata la correlazione tra sesso dei proprietari e dati relativi alla composizione del nucleo familiare (Tabella 8):

Nucleo familiare	Sesso proprietari	
	donna	uomo
altro	3	0
coppia	81	25
famiglia con figli	57	7
single	37	8
Totale complessivo	178	40

Tabella 8: incrocio tra nucleo familiare e sesso dei proprietari

Nella maggior parte dei casi, sia la donna che l'uomo vivono in coppia mentre nel caso di famiglia con figli, sono per lo più donne che si occupano dell'alimentazione del cane. Anche tra i proprietari single è possibile osservare che nella maggior parte dei casi è la donna a scegliere la dieta a crudo per il proprio cane. Anche una indagine effettuata da ANMVI sul profilo del proprietario del cane in Italia aveva dimostrato che nel 75,3% (di cui il 52,2% maggiorenne) dei casi è la donna ad preoccuparsi dell'alimentazione e delle cure veterinarie in generale del cane (www.anmvi.it).

È stato ritenuto interessante valutare la distribuzione delle taglie di cani per tipologia di nucleo familiare (Figura 3): la taglia grande prevale in tutte le categorie considerate, seguita

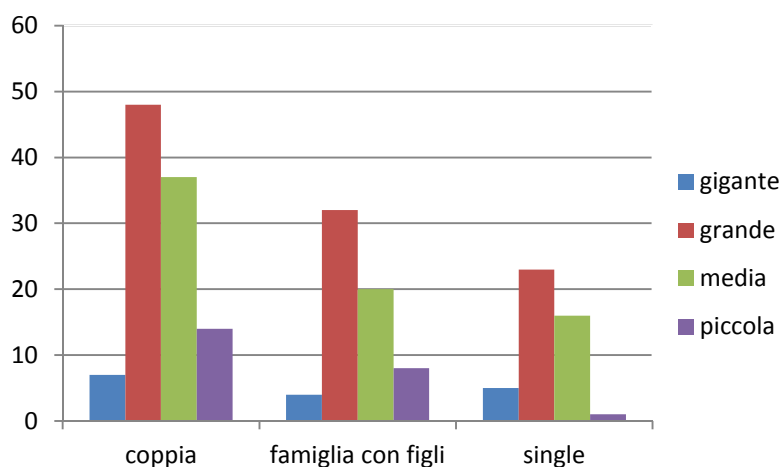


Figura 3: taglia dei cani e la composizione del nucleo familiare

da quella media, indipendentemente dalla presenza di figli. In generale la distribuzione delle taglie è simile in ciascuna categoria di nucleo familiare, con una eccezione per la taglia piccola, poco presente tra i single.

È stato poi chiesto, se all'interno del nucleo familiare, fossero presenti elementi dello *Young-Old-Pregnant-Immunodeficient (YOPI) group*. ed è risultato che:

- Tra le 11 famiglie con bambini sotto i 3 anni, 5 avevano anche un figlio tra 3-10 anni e in questi ultimi 4 nuclei familiari è presente pure 1 anziano o 1 donna in gravidanza;
- Tra le 29 famiglie con bambini tra i 3 e 10 anni, 6 avevano anche un anziano (di cui 1 contemporaneamente malato cronico), 1 aveva una donna in gravidanza e 3 avevano casi di persone affette da malattia cronica;
- In questa indagine sono state evidenziate 4 donne in gravidanza: due con bambini (esempi riportati poco sopra) e 2 primipare; in nessuno di questi 4 casi era presente un anziano o una persona malata.

Questo aspetto è stato indagato perché in letteratura è stato chiaramente dimostrato che cani che assumono diete crude sono a rischio di contaminazione con batteri di interesse zoonotico (e.g. *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria* spp. E *Toxoplasma gondii*) che possono eliminati attraverso le feci e diffusi nell'ambiente domestico (Finley et al., 2007). Questo rappresenta quindi un rischio potenziale di infezione per le persone che vivono a stretto contatto con il cane e ne condividono gli spazi. Il rischio di infezioni aumenta nel caso in cui all'interno del nucleo siano presenti persone malate, anziani, bambini o donne in gravidanza. E' noto che gli animali impiegati nella *pet therapy* non possano essere nutriti con diete a base di carni crude (Lefebvre et al., 2008). Risulta quindi evidente che, anche nella popolazione da noi indagata, ci sono 62 famiglie (28.5%) sottoposte a tale rischio.

Riguardo le abitudini di vita del cane, è risultato che il 71% dei proprietari abita in una casa con giardino, il 17% non ha spazi aperti e/o vive in appartamento mentre il 12% lascia a disposizione del cane in terrazzo.

In ogni caso, l'84% dei proprietari porta a passeggio il proprio cane almeno una volta al giorno. Il 11% dei cani invece resta in giardino o in terrazza mentre solo l'1% rimane sempre chiuso in recinto. Il restante 4% è riferito ad altre attività.

La Tabella 9 riporta il numero di cani che effettuano attività fisica giornaliera di vario genere, suddivisa per tipologia di stabulazione.

Attività quotidiana	Dove vive		
	con ampia terrazza	con giardino	senza spazio esterno
sta in giardino/terrazza	1	23	0
sta in recinto	0	1	0
viene portato in passeggiata	25	124	35
altro	1	7	1
Totale complessivo	27	155	36

Tabella 9: N di cani impiegati in attività fisica quotidiana di vario genere e tipologia di stabulazione casalinga.

Come si poteva presumere, i proprietari che non hanno spazi esterni, portano il proprio cane a passeggio una o più volte al giorno e tra coloro che dispongono di spazi esterni, sono proporzionalmente superiori i proprietari che dispongono di terrazzo rispetto a quelli con giardino i quali, spesso preferiscono lasciare che il cane gestisca autonomamente le proprie attività.

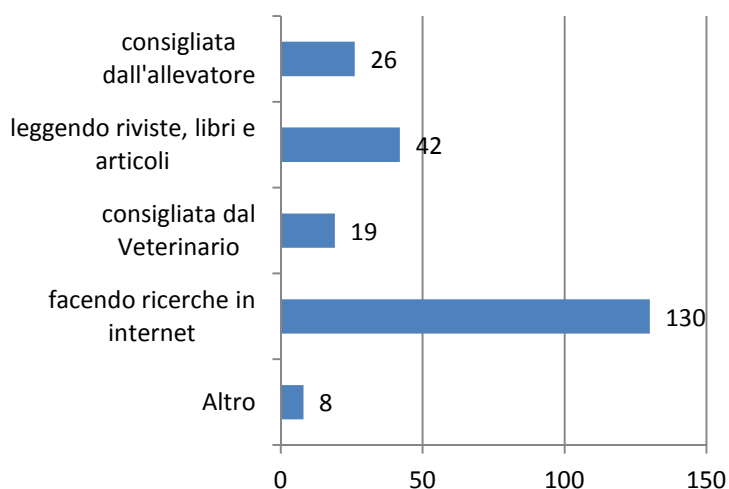


Figura 4: Risposte relative al recapito di informazioni circa la dieta BARF

Indagando come i rispondenti siano giunti a conoscenza della dieta BARF (Figura 4), è emerso che la ricerca attraverso internet è la più frequente, seguita dalla lettura di articoli, riviste o libri. La minoranza invece è stata consigliata dall'allevatore o dal veterinario. Questo risultato è interessante poiché, come è noto,

internet può fornire moltissime informazioni, non sempre veritiere: questo significa che è importante avere delle conoscenze di base sulla nutrizione degli animali domestici nonché di aspetti di sicurezza alimentare, che generalmente il medico veterinario dovrebbe fornire ai propri clienti.

4.1.3 TERZA PARTE – DIETA BARF

4.1.3.1 Motivazioni

Quando è stato chiesto ai rispondenti quali fossero i principali motivi che li hanno spinti a scegliere la dieta BARF sono emerse risposte riguardanti la questione di principio e l'aspetto legato alla salute dell'animale (Figura 5).

Con "principio" si intende un'alimentazione che rispetta la natura carnivora dell'animale (poiché il cane deriva dal lupo) e semplicemente per questo motivo questa dieta viene

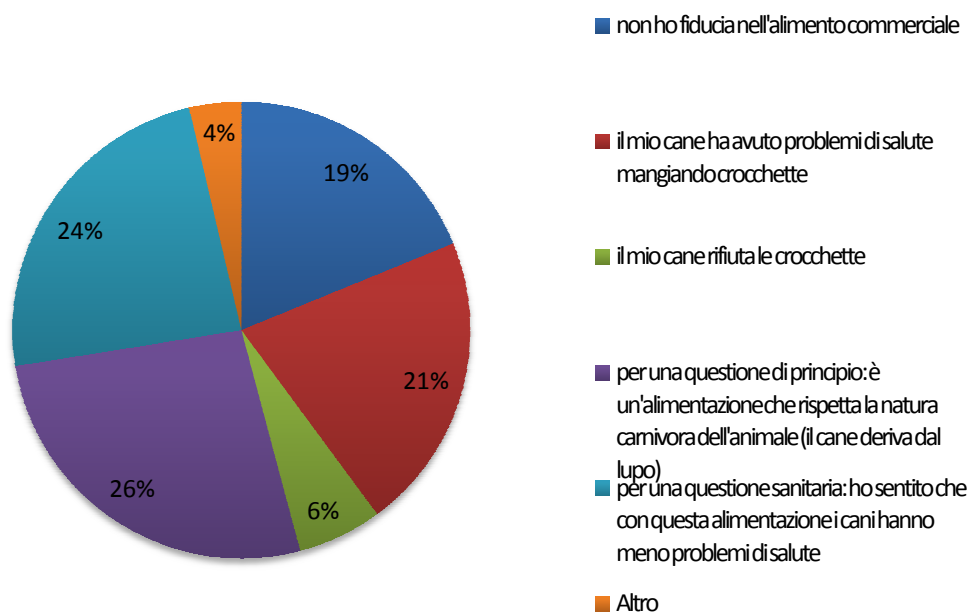


Figura 5: Distribuzione delle motivazioni che spingono i proprietari a scegliere la dieta BARF

considerata la migliore scelta alimentare. Per quanto riguarda invece l'aspetto sanitario dell'animale, ci si riferisce sia al fatto che i barfisti sostengono che questa dieta migliori la condizione di salute dell'animale (24% delle risposte), sia al fatto che l'uso delle crocchette abbia provocato in passato problemi sanitari (21% delle risposte).

Nel questionario diffuso è emerso inoltre che molti proprietari hanno notato dei miglioramenti nella salute dell'animale e più specificamente: pelo e cute più puliti, meno odorosi e più brillanti, un aumento della massa e muscolatura e denti più sani, miglioramento dell'alitosi. Inoltre, alcuni hanno precisato che problemi di salute come struviti, cistiti, continui raffreddori o allergie sono risultati essere molto più gestibili se non addirittura risolti (Figura 6).

Per quanto riguarda il comportamento, la maggioranza dei rispondenti (47%) non ha mai

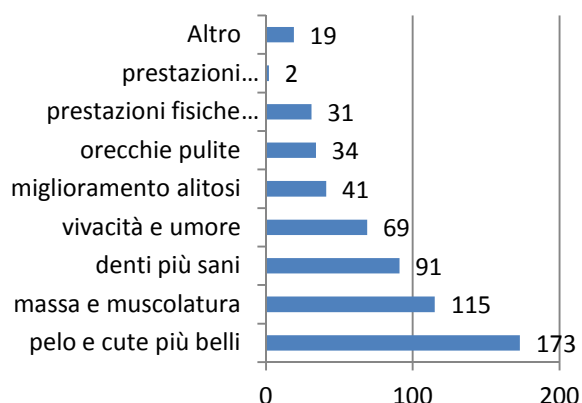


Figura 6: miglioramenti notati dai proprietari.

notato anomalie comportamentali nei propri cani alimentati a BARF, mentre il resto, trova il proprio animale più sereno, tranquillo e vivace. Nessuno ha notato irrequietezza o aggressività.

Tra le motivazioni che spingono i proprietari ad usare BARF, va fatto notare che il 19% dei rispondenti ha esplicitamente dichiarato una profonda sfiducia verso l'alimento commerciale,

anche se questo non ha mai causato danni al proprio animale.

4.1.3.2 Rischi sanitari legati all'uso della dieta BARF

Nel questionario è stato inoltre indagato se il proprietario ritenesse la dieta BARF sicura da un punto di vista sanitario. Il 94% dei rispondenti ha dichiarato di ritenere la dieta BARF sicura, il 5% non si è mai posto il problema e solamente l'1% considera la possibilità che questa dieta possa portare disturbi di qualsivoglia genere. La letteratura recente ha evidenziato come campioni di carni crude vendute sul mercato americano e canadese per uso BARF siano contaminate con batteri, tra cui *Salmonella* spp. (Strohmeier et al., 2006; Finley et al., 2002). Come già detto, alcuni studi hanno dimostrato che i cani che assumono *Salmonella* spp. attraverso l'alimento sono in grado di diffondere il batterio nell'ambiente attraverso le feci per alcune settimane e senza dimostrare sintomi rappresentando un potenziale rischio per le persone che vivono a stretto contatto con l'animale (Finley et al., 2007; Joffe e Schlesinger, 2008).

Per approfondire lo stato della conoscenza del proprietario riguardo il rischio sanitario per cani e persone, è stato chiesto se l'affermazione "mangiando carne cruda il cane può contrarre malattie" fosse da considerarsi vera o falsa, e i risultati sono stati confrontati con le risposte relative alla sicurezza alimentare (Tabella 10).

Barf è una dieta sicura?	Il cane può contrarre malattie mangiando BARF?			
	ne ho sentito parlare ma la cosa non mi preoccupa	no	non ne ho mai sentito parlare	si
No	0	0	1	0
Non mi sono mai posto il problema	3	4	1	3
Si	35	137	8	26
Totale complessivo	38	141	10	29

Tabella 10: dati relativi alla sicurezza alimentare della dieta BARF e alla percezione delle possibili malattie contraibili

Come intuibile, molti di coloro che ritengono sicura la dieta cruda ritengono anche che l'affermazione di cui sopra sia falsa, mentre una piccola parte dichiara di averne sentito parlare ma di ritenere irrilevante il problema. Altri, invece, tendono a contraddirsi, ritenendo sicura la dieta BARF ma ammettendo contemporaneamente vera l'affermazione. Si può asserire, quindi, che esiste in più casi confusione e talvolta mancanza di informazione circa la sicurezza alimentare della dieta BARF. Esiste già uno studio (Lenz et al., 2008) che, attraverso la compilazione di un questionario rivolto a 42 proprietari di cani alimentati con diete a base di carni crude e 49 proprietari di cani alimentati con diete a base di alimenti non crudi, dimostra che i proprietari o non sono a conoscenza del rischio derivante dall'uso di diete a base di carni crude o lo ignorano completamente. Questa circostanza risulta molto pericolosa perché questi proprietari potrebbero trascurare di prevenire importanti zoonosi attraverso l'impiego di adeguate strategie di intervento che sono rappresentate da semplici principi igienico-sanitari.

Il questionario ha infine approfondito l'aspetto sanitario con domande che raccoglievano l'esperienza dei proprietari intervistati sugli effetti negativi dati dalla dieta BARF sulla salute dell'animale. Il 55% dei proprietari ha dichiarato di non aver mai notato alcun tipo di problema, mentre le risposte del restante 45% di intervistati sono riportate in Figura 7. Diarrea, stitichezza o costipazione, insieme a episodi di vomito sono i problemi principalmente lamentati. In uno studio recente è stato dimostrato che cani alimentati con

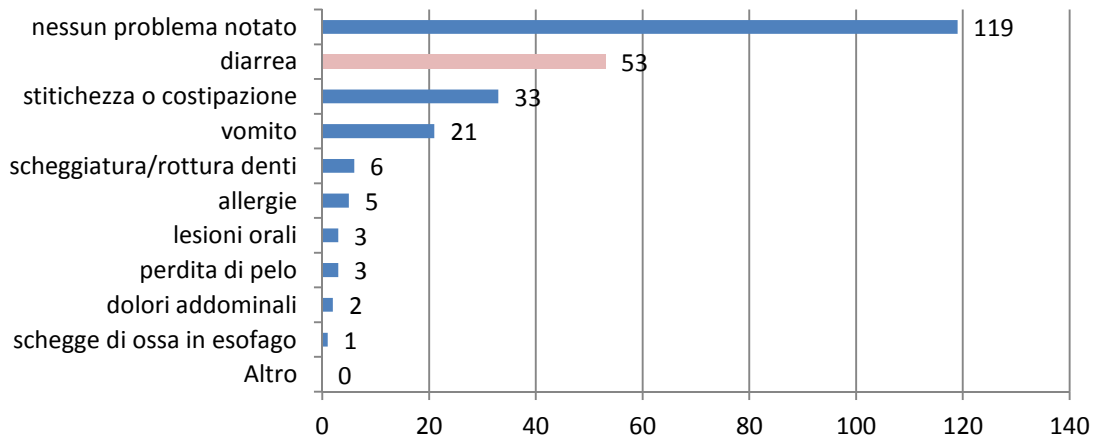


Figura 7: peggioramenti notati dai proprietari

dieta cruda, presentavano valori elevati di tiroxina (alcuni con segni clinici di ipertiroidismo, altri, invece asintomatici) che sono poi tornati nella norma in seguito alla modificazione della dieta (Köhler et al., 2012). L'ipotesi degli autori era che all'interno di queste carni ci fossero residui di ghiandole tiroidee contenenti tiroxina. Uno studio non più recente (Steenkamp et al., 1999) ha analizzato 29 teschi di licaoni selvatici (*Lycaon pictus*) reperiti in musei. È interessante notare che questi animali presentavano evidenti lesioni dentali e forti periodontiti: secondo gli autori questo farebbe ipotizzare che una dieta simile a quella di un parente selvatico non protegge il cane da possibili disturbi del periodonzio.

4.1.3.3 Vantaggi e svantaggi della dieta BARF

Il 57% dei rispondenti ha risposto che preferisce la dieta BARF perché è sotto il suo diretto controllo e sa esattamente cosa c'è dentro; il 23% dichiara che la dieta BARF è vantaggiosa perché contiene come ingrediente principale proteine di origine animali; l'11%, infine, sostiene che questa dieta permette al cane di soffermarsi sul pasto più a lungo e quindi ricavare maggiore soddisfazione dal suo consumo. Pochi hanno considerato come principale vantaggio la mancanza di carboidrati (1%), il fatto che la carne non venisse cotta (1%) oppure che risulti molto più appetibile delle crocchette (3%).

Per gli svantaggi, invece, è necessario aprire una parentesi sulle risposte relative ad "altro", che corrispondono al 16% del totale: innanzitutto, è emerso il problema di garantire l'alimentazione BARF quando il proprietario necessita di affidare il cane a terzi (pensioni o dog sitting) o quando va in ferie (per la difficoltà nel reperire gli ingredienti altrove, mantenerli refrigerati e preparare il pasto). A questo si aggiunge la necessità di spazi, anche

considerevoli, in congelatore, dove poter riporre ingredienti o porzioni: alcuni lamentano di essere stati costretti a comprare un freezer dedicato o di non poter addirittura congelare i propri alimenti per mancanza di spazio. Tra il 16% di coloro che hanno preferito specificare la propria opinione su “altro”, risulta che il 47% non trova alcuno svantaggio nella dieta BARF (opzione mancante tra le scelte). Tuttavia, la maggior parte dei barfisti rispondenti ha dichiarato che lo svantaggio principale è il reperimento di alcuni ingredienti (38%), che è necessario dedicare molto tempo per la preparazione della dieta (22%), che è una dieta costosa (13%). Inoltre, alcuni hanno identificato come svantaggio principale il rischio di ingestione di ossa (5%) di vomito o diarrea (2%). Altri ritengono uno svantaggio il fatto che alcuni ingredienti non sempre piacciono al cane (4%).

Quando ai proprietari è stato chiesto cosa non li convince dell'alimento commerciale (Figura 8), sono due le principali motivazioni emerse: la presenza di additivi e l'impossibilità di capire la provenienza e la qualità delle materie prime. A questo si aggiunge la mancanza di chiarezza degli ingredienti elencati in etichetta, la preferenza di occuparsi personalmente della dieta del proprio cane e l'alto contenuto di carboidrati. Una nota di riguardo, anche in questo caso, va rivolta a chi ha risposto “altro”: ad esempio, l'alimento commerciale è stato definito inadatto al cane perché *lavorato, molto lontano dal reale fabbisogno dell'animale, poco appetibile* o composto da *materie prime di scarsa qualità*.

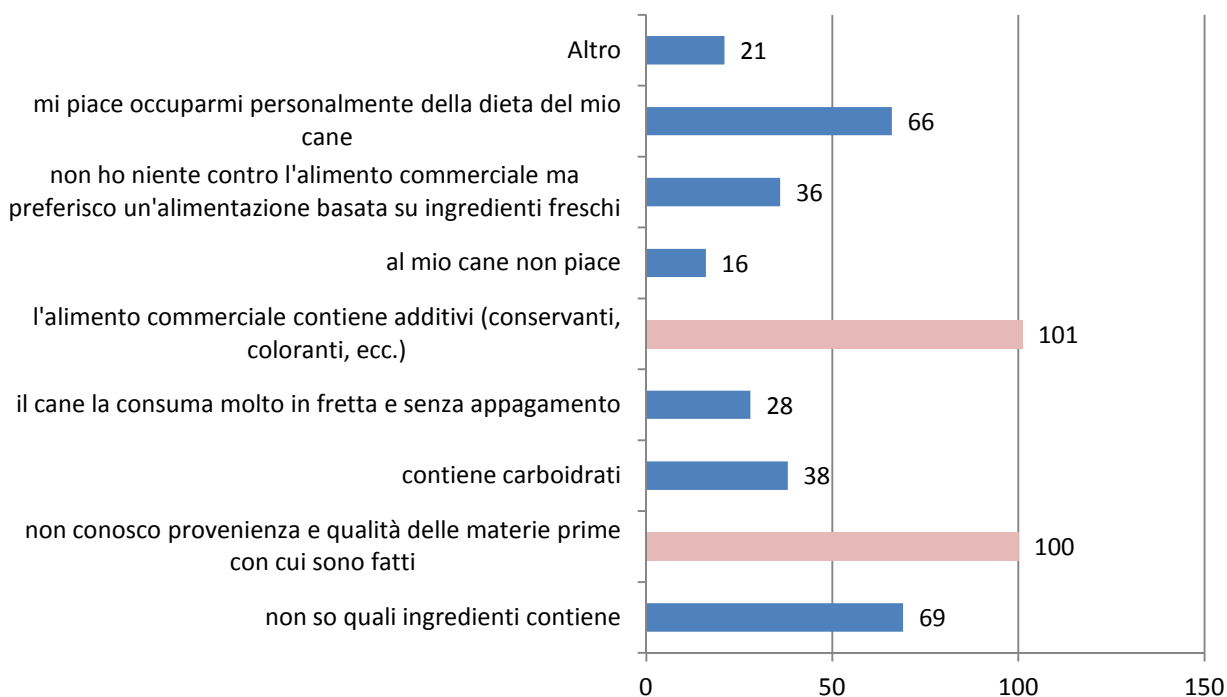


Figura 8: risposte in merito alla sfiducia dell'alimento commerciale

4.1.3.4 Organizzazione della dieta

Innanzitutto è stato chiesto da quanto tempo il cane segue la dieta BARF: il 49% la fa da 1 a 5 anni, il 39% da meno di un anno (in questa fascia sono da considerare anche i cuccioli svezzati a BARF di età inferiore all'anno al momento del test), il 3% la segue da più di 10 anni (tra cui presenza di cani anziani) e il 9% da i 5 ai 10 anni.

Il 94% dei proprietari ha dichiarato di aver fatto precedente esperienza con il cibo commerciale secco.

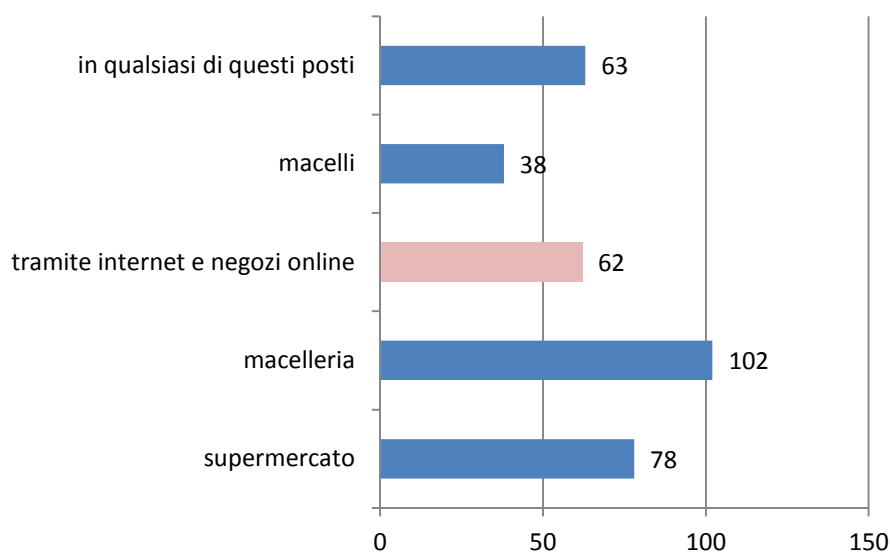


Figura 9: luoghi principali dove vengono reperite le materie prime

Dalla Figura 9 emerge che i barfisti acquistano le materie prime principalmente in macelleria o al supermercato. Meno frequentemente acquistano *online* o direttamente nei macelli (quest'ultima pratica è oltretutto vietata dalla legge).

In seguito il questionario ha indagato quali fossero i principali alimenti utilizzati nella dieta BARF.

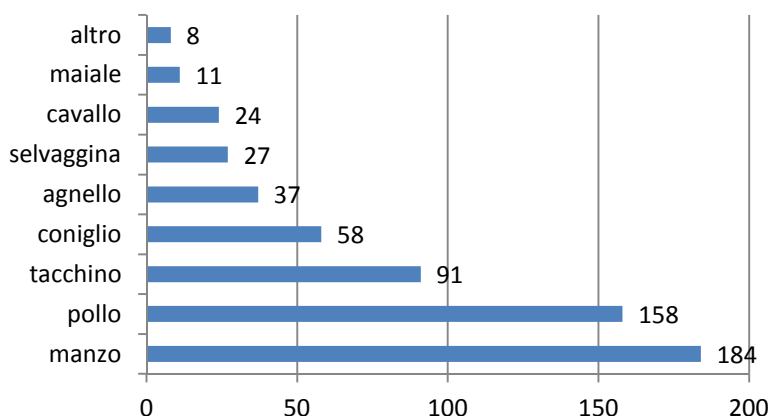


Figura 10: carni utilizzate

Per quanto riguarda la carne (Figura 10), manzo, pollo e tacchino sono i più utilizzati, probabilmente per il loro basso costo e la loro facile reperibilità. Anche il coniglio viene impiegato di frequente, meno invece, l'agnello e la selvaggina. Quasi per

nulla presente, invece, l'utilizzo di carne di cavallo o, ancor meno, quella di maiale.

Le frattaglie sono ingredienti fondamentali nelle diete BARF e dalla presente indagine risulta

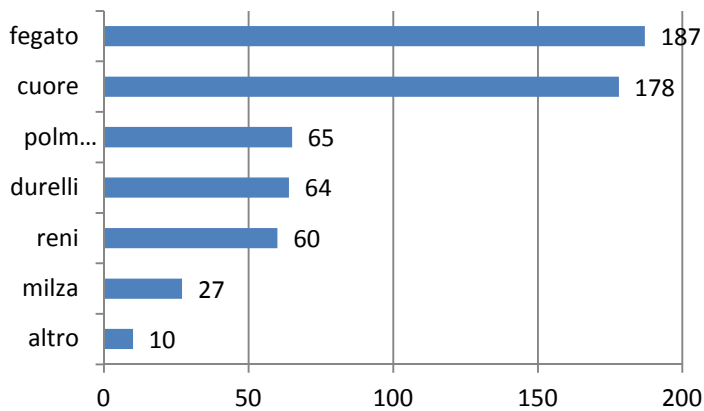


Figura 11: frattaglie utilizzate

evidente che fegato e cuore sono utilizzati più di frequente (Figura 11). A seguire polmoni, durezza di pollo e reni. Alcuni, in “altro” dichiarano di non usare affatto frattaglie nella formulazione della loro dieta (e di utilizzare quindi una percentuale più alta di ossa polpose) oppure al contrario, fanno uso di qualsiasi tipo di frattaglia riportata tra le opzioni, senza essere in grado di definire la più utilizzata.

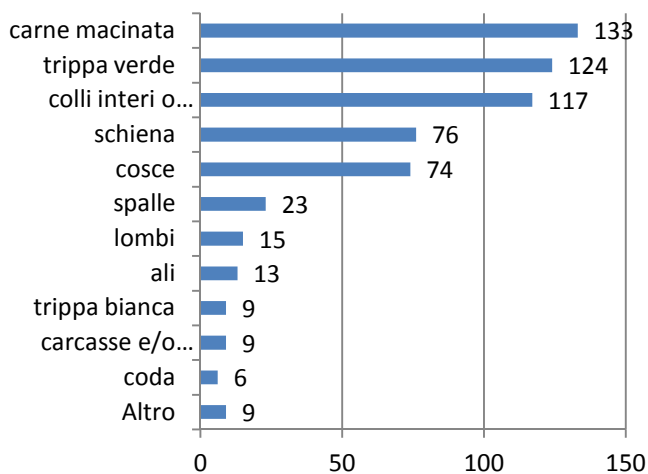


Figura 12: parti anatomiche impiegate

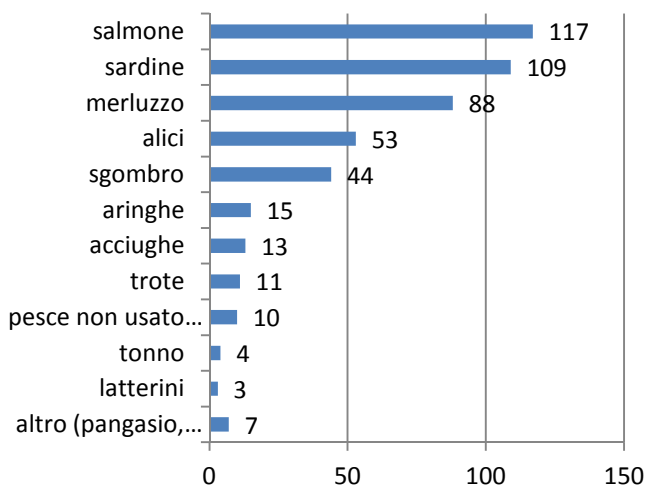


Figura 13: pesce impiegato

Le parti anatomiche più utilizzate (Figura 12) sono la trippa verde e i colli (di pollo) macinati o interi. Nella dieta BARF la trippa verde è considerata un alimento fondamentale. Secondo le informazioni reperibili dai siti BARF le proprietà di questo alimento sono molteplici e fra queste viene annoverata la funzione probiotica basata sulla presenza di enzimi e batteri digestivi. Questi, spiegano nei blog, non solo giocano un ruolo importante nella digestione del cane ma ne migliorano il metabolismo e il sistema immunitario, purificano il sangue e rimuovono le tossine. Inoltre, viene fatto ampio uso di schiena, cosce, ali e spalle. Anche la carcassa

Le parti anatomiche più utilizzate (Figura 12) sono la trippa verde e i colli (di pollo) macinati o interi. Nella dieta BARF la trippa verde è considerata un alimento fondamentale. Secondo le informazioni reperibili dai siti BARF le proprietà di questo alimento sono molteplici e fra queste viene annoverata la funzione probiotica basata sulla presenza di enzimi e batteri digestivi. Questi, spiegano nei blog, non solo giocano un ruolo importante nella digestione del cane ma ne migliorano il metabolismo e il sistema immunitario, purificano il sangue e rimuovono le tossine. Inoltre, viene fatto ampio uso di schiena, cosce, ali e spalle. Anche la carcassa

intera dell'animale (generalmente pollo, quaglia, coniglio, ecc.), detta "preda", più tipiche di una RMBD basata sul "Prey-Model", viene impiegata con una certa frequenza. E' stata inclusa tra le opzioni a questa domanda anche la "carne macinata" di cui i barfisti fanno ampio uso, senza ovviamente sapere da quale parte anatomica questa provenga.

Per quanto riguarda il pesce (Figura 13), vengono principalmente utilizzati il salmone, le sardine e il merluzzo. Seguono alici, sgombro, aringhe e acciughe. Sono stati poi spesso indicati trote, tonno e latterini. Dieci rispondenti su 218 (4% circa) non utilizzano pesce nella dieta del loro cane.

Ricordando che l'uso di ossa polpose dovrebbe rappresentare una percentuale preponderante in questo tipo di alimentazione (40-50%), è risultato che il 41% dei rispondenti le fornisce quotidianamente al proprio cane, un altro 41% le somministra non più di 1 o 2 volte la settimana, il 10% le include raramente mentre l'8% le rifiuta poiché le ritiene pericolose. Nella dieta BARF c'è una netta distinzione fra ossa polpose, che rientrano, appunto, nell'alimentazione quotidiana come ingrediente principale, e "ossa ricreative", la cui funzione è riconducibile al normale uso degli snack. Di queste ultime sarebbe interessante capirne la gestione e la somministrazione: nei forum vengono spesso consigliate parti cartilaginee piuttosto che vere e proprie ossa, perché considerate pericolose e difficili da gestire in quanto è necessario un continuo e attento controllo del cane da parte del proprietario. Vengono poi sconsigliate ossa di tacchino, bovino e cavallo.

È stato sondato, inoltre, l'utilizzo di frutta e verdura nella dieta BARF. L'obiettivo era quello di individuare la frequenza con cui alcuni tipi di verdure e di frutta venivano somministrate al cane. Spesso, in seguito alla condivisione del questionario su Facebook®, è stato più volte fatto notare dagli utenti che la rosa di opzioni selezionate era molto limitata. Sarebbe stato sicuramente interessante, prima delle frequenze, individuare quali fossero i prodotti ortofrutticoli più utilizzati. In ogni caso, tra i risultati riportati in Tabella 11, è intuibile che non vi è un impiego importante di verdure in questa dieta: gli unici ortaggi utilizzati con frequenza abbastanza omogenea sono le carote, le zucchine e le verdure a foglia larga. Non sono quasi per niente considerate le melanzane, i peperoni e i piselli.

		FREQUENZA (%)				
		0	1	2	3	4
Zucchine		13	19	26	29	13
Fagiolini		64	20	11	5	0
Zucca		42	35	13	7	3

FREQUENZA (%)					
	0	1	2	3	4
Carote	9	16	28	30	17
Legumi	83	13	2	1	1
Verdura a foglia larga	25	30	20	16	9
Cavoli e broccoli	60	26	10	2	2
Sedano	43	25	18	9	5
Carciofi	88	10	1	1	0
Melanzane	92	6	1	1	0
Peperoni	87	9	3	1	0
Piselli	69	19	8	3	1

Tabella 11: frequenza di utilizzo delle verdure nella dieta BARF

La frutta, invece, viene considerata come uno snack, che apporta fibre e vitamine naturali. Come si può notare dalla Tabella 12, la mela è il frutto che viene dato con maggior frequenza. Meno la pera, la banana e l'anguria (che resta comunque un frutto strettamente stagionale). Poco considerati gli agrumi, l'ananas, fichi e pesche.

FREQUENZA (%)					
	0	1	2	3	4
Mela	11	24	28	26	11
Pera	43	25	18	12	2
Agrumi	67	25	5	3	0
Banana	35	37	17	8	3
Anguria	52	32	10	5	1
Pesca	56	27	12	5	0
Albicocca	61	28	7	3	1
Ananas	76	18	4	2	0
Fragole	78	17	2	2	1
Fichi	83	11	4	2	0
Melone	59	25	10	4	2

Tabella 12: frequenza di utilizzo della frutta nella dieta BARF

Per quanto riguarda l'impiego di carboidrati, la maggior parte ha risposto di non farne uso

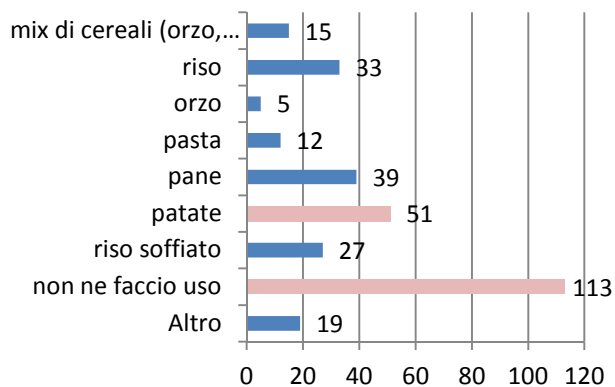


Figura 14: impiego di fonti di carboidrati

(Figura 14). La dieta BARF, infatti, si propone di ovviare al problema del massiccio utilizzo di carboidrati presenti nelle diete commerciali o nelle classiche diete casalinghe o Volhard diet (che utilizza il mix di cereali). Tuttavia, tra le fonti di carboidrati impiegate dalla minoranza dei barfisti inclusi in questa indagine, è risultata

preponderante la patata, somministrata rigorosamente cotta, il pane e il riso. Anche il quesito sugli integratori (Figura 15) è risultato essere alquanto limitante nella scelta delle risposte per i barfisti intervistati: 35 rispondenti, infatti hanno deciso di specificare nella casella "altro" integratori come: olio di pesce (nel questionario erano stati inclusi solo olio di salmone e olio di fegato di merluzzo, fonti note di omega-3), farina di cocco, erbe aromatiche come basilico, rosmarino o origano, zenzero e garofano. È stata spesso indicata anche la curcuma, per i suoi molteplici benefici dimostrati anche in altre specie animali. È ampio anche l'impiego di oli: dal comune olio extravergine di oliva o quello di girasole, a quello di sesamo o canapa. Infine integratori naturali come rosa canina, polvere di guscio d'uovo e polvere di mollusco verde, fino a quelli di tipo industriali come omega 3 in perle, l'uso di integratori specifici per patologie o i probiotici. Anche l'aglio è frequente, insieme all'olio di lino e a quello di salmone.

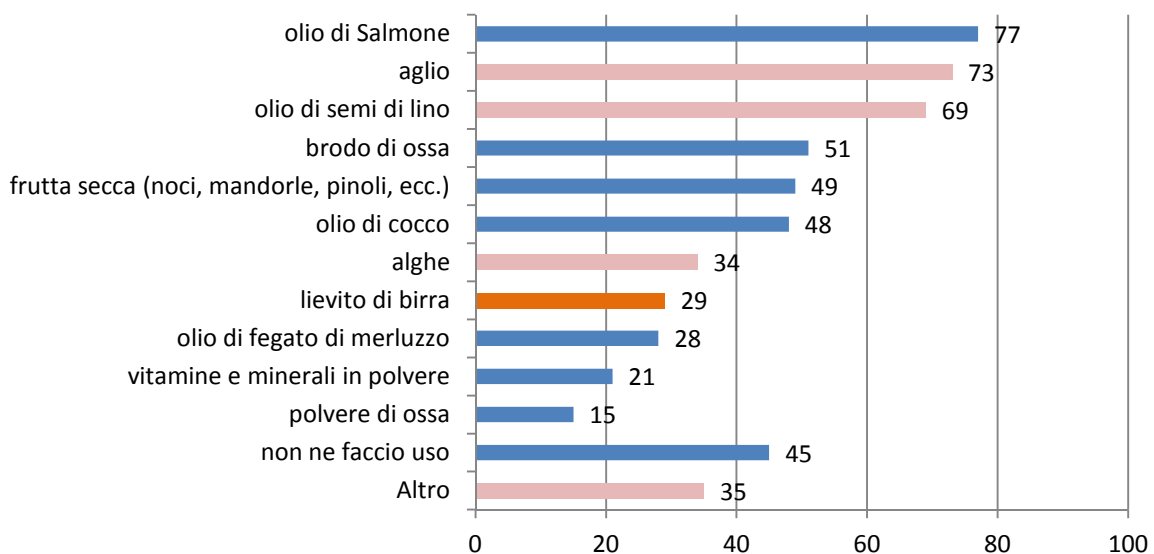


Figura 15: uso di integratori

Si è deciso di indagare, inoltre, quanto utilizzo si fa, in questa dieta, di derivati di origine animale (Figura 16). Principalmente, vengono impiegati uova, yogurt e formaggi così come anche Kefir, fermenti e latticello. Inoltre, 83 proprietari su 218 (38%) hanno specificato quali sono i formaggi che utilizzano principalmente (Figura 17): impiegano sia ricotta (46%), formaggi freschi o morbidi come ad esempio mozzarella 6%, fiocchi di latte 6%, Philadelphia 6%), sia formaggi a lunga stagionatura in particolare Grana Padano (14%) e Parmigiano Reggiano (10%).

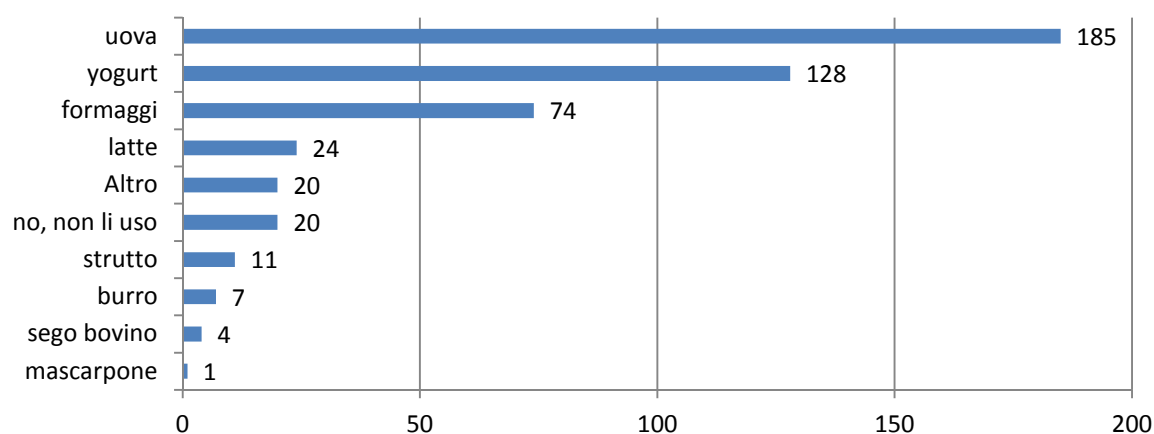


Figura 16: preferenze circa l'utilizzo di derivati di origine animale

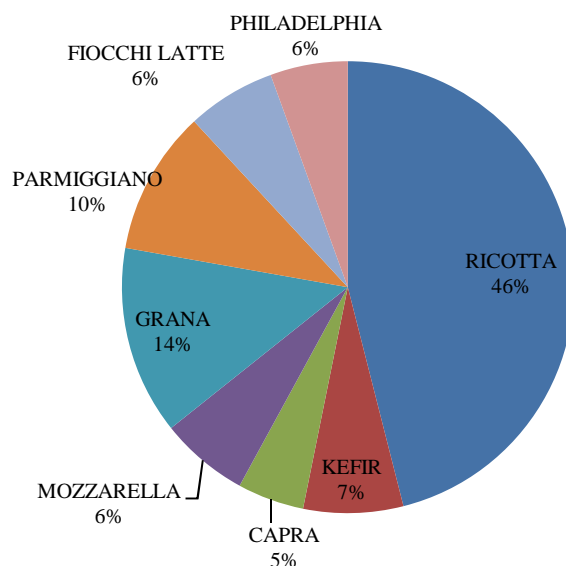


Figura 17: tipologie di formaggi impiegati

Sotto il profilo gestionale, il 79% dei proprietari ha eliminato completamente le crocchette dalla dieta del proprio cane, il 12% le utilizza solo quando è fuori casa per comodità e il 9% la impiega ancora a dosaggi più o meno importanti (piccole dosi, 50:50 o più del 50%).

È stato poi chiesto quali criteri vengono utilizzati per bilanciare la dieta BARF: il 33% ha risposto di seguire i consigli presenti sui forum *online*, il 30% utilizza tabelle nutrizionali presenti su internet o sui libri, il 19% ritiene di essere esperto e di poter quindi “andare a occhio”, l’8% chiede aiuto al veterinario mentre il 6% ad un nutrizionista esperto che li segue personalmente oppure *online*. L’1%, infine, si affida alle diete già complete comprate su siti *online* specializzati o il 2% trova le ricette in internet.

Inoltre, è stato chiesto se, nel caso di presenza di più cani, fosse esclusa la dieta per alcune categorie (Figura 18): ad eccezione dei 28 proprietari che possiedono un solo cane, il 75% del totale, ha risposto che la usa per tutti indifferentemente. Pochi la escludono per alcuni individui. Dalla Figura 18 è emerso che viene esclusa per cani anziani con problemi di salute che trovano difficoltà nella digestione e per cani che trovano un’alimentazione a base di carne cruda poco appetibile. Alcuni, invece, hanno risposto che forniscono percentuali di alimenti diversi a seconda delle diverse esigenze dell’individuo.

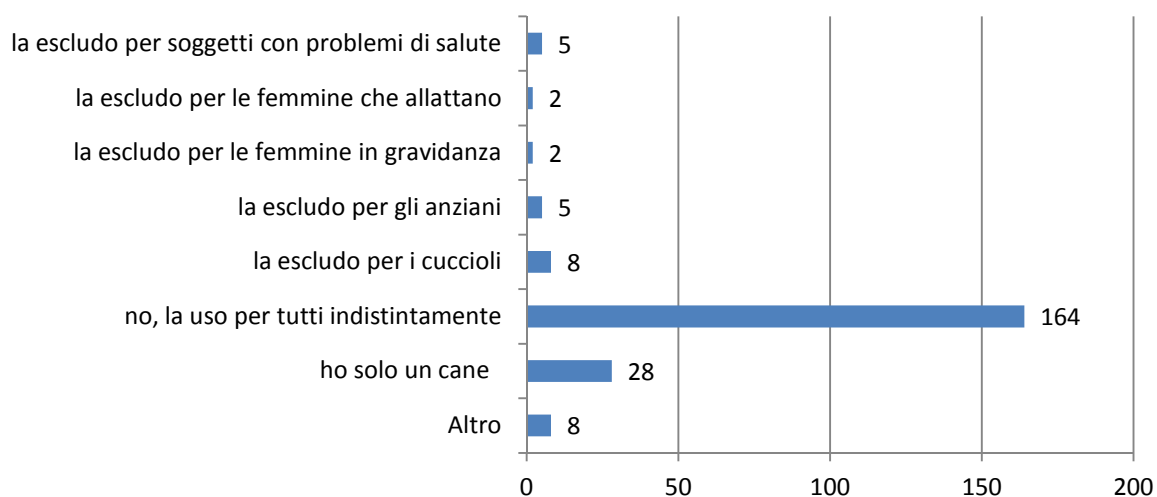


Figura 18: esclusione dalla dieta per alcune categorie

4.2 ANALISI DI LABORATORIO

4.2.1 ANALISI QUALITATIVE

Negli accertamenti qualitativi, nessun campione è mai risultato positivo per *Salmonella* spp.: anche se nella maggior parte dei casi il viraggio in RV, da blu a bianco opalescente, era sempre piuttosto evidente, sulla semina in XLT4 è sempre risultata la sola presenza di Coliformi di colore bianco.

Salmonella spp. è stato uno dei microrganismi maggiormente ricercato e in molti casi identificato negli studi che hanno valutato la contaminazione microbiologica di diete crude per animali domestici. Ad esempio, a seguito di un'epidemia di Salmonellosi diffusasi in allevamenti di Levrieri che venivano alimentati con dieta cruda, Morley et al. (2006) hanno isolato *Salmonella* spp. da 133 campioni di feci, cibo e ambiente circostante. Nel 93% dei casi si trattava di *S. enterica* e alcuni dei ceppi isolati dai campioni fecali (n=61) sono risultati antibiotico-resistenti. Questa epidemia si è conclusa con il 37% di mortalità fra i cuccioli che avevano contratto la malattia. Anche Finley et al. (2008) hanno riportato risultati provenienti da studi sulla qualità microbiologica di cibi commerciali crudi per cani. In particolare, gli autori hanno analizzato 166 campioni congelati acquistati in negozi di 3 diverse città canadesi per un periodo di circa 8 mesi: il 21% dei campioni analizzati è risultato positivo a *Salmonella* spp.: il 66% di questi campioni conteneva o era a base di pollo. Nel medesimo studio (Finley et al., 2008) sono stati individuati 8 sierotipi diversi, testati su 16 dei più comuni antibiotici in commercio: tali sierotipi, risultarono resistenti a 12 antibiotici su 16. Già nel 2001, Clark e colleghi, in seguito ad un'epidemia di *S. infantis* nell'uomo, hanno ricercato la presenza di *Salmonella* spp. in snack per cani commercializzati da 12 diverse aziende produttrici: 48 su 94 orecchie suine acquistate sono risultate positive al batterio. Gli autori furono in grado associare 5 case produttrici ai focolai di *S. infantis*. Nello stesso studio, Clark e colleghi (2001) hanno identificato inoltre i sierotipi di *Salmonella* spp. e i più frequenti sono risultati *S. Infantis*, *S. typhi* e *S. derby*.

Per quanto riguarda *Y. enterocolitica*, nel nostro studio non sono risultati casi sospetti nemmeno dopo i diversi passaggi di accertamento; solo in un caso, quello del ragù di pollame, si è proceduto con test della motilità e test dell'indolo su SIM (le colonie isolate da CIN risultavano essere ossidasi negative, positive su KIA e senza alcun viraggio su Simmon's

Citrate): il risultato è stata una forte motilità a 25°C, la formazione di idrogeno solforato (formazione di sostanza nera attorno all'inoculo) e una negatività al test dell'indolo. Secondo letteratura (Edwards et al., 1972), questa reazione potrebbe essere collegata alla possibile presenza di *S. typhimurium*, ipoteticamente non identificata durante i passaggi per la determinazione di *Salmonella* spp.

In una *review* (Lejune et al., 2001), la presenza di *Y. enterocolitica* è stata riportata in carne cruda e più spesso in quella di maiale, in realtà molto poco usata dai barfisti. Inoltre, la presenza di *Y. enterocolitica* può essere indicatrice delle condizioni igieniche messe in atto durante macellazione, confezionamento e stoccaggio. Infine, Lejune et al. (2001) riportano studi che rivelano come oltre la metà delle diete commerciali crude rischia una contaminazione da *Y. enterocolitica* e che esistono ben 8 sierotipi diversi responsabili di zoonosi.

Listeria spp. invece è risultata sospetta in 16 campioni corrispondenti a 8 matrici diverse: in questo studio il microrganismo è stato considerato sospetto anche nel caso in cui non vi fosse presenza di alone su ALOA. Sulla presenza di *Listeria* negli animali domestici, esiste uno studio (Weber et al., 1995) che individuò la presenza di *L. monocytogenes* nell'1,3% e di *L. innocua* nel 4% delle feci dei cani testati (n=300). Non fu mai verificato se la causa della contaminazione potesse derivare dal consumo di carni crude nell'alimentazione. Tuttavia, in uno studio recente (Nemser et al., 2014) è stata ricercata la presenza di alcuni microrganismi in diete commerciali di diverso tipo (crude o convenzionali secche e umide) per animali domestici, tra cui *Listeria* spp. Sono stati analizzati 1056 campioni nell'arco di 2 anni: 480 provenienti da cibi secchi o umidi e 576 provenienti da diete crude e snack essiccati. Dei 576, 66 sono risultati positivi alla presenza di *Listeria* spp., e 32 erano rappresentati da *L. monocytogenes*. Infine, sempre Lejeune et al. (2001) cita un caso di aborto di una cagna alimentata con dieta cruda a causa di un'infezione da *L. monocytogenes*.

Uno degli obiettivi che sarà realizzato nel prossimo futuro presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie è la tipizzazione dei ceppi di *Listeria* spp. isolati dai campioni .

4.2.2 CONSIDERAZIONI SUL pH

È stato identificato un intervallo di pH che va da 5,89 (ragù di pollame al tempo T2 e a 7°C) a 7 (Trippa mix a T0 e a 2°C) e una media pari a $6,56 \pm 0,33$. Villani (2007) riporta che l'intervallo di pH ideale per la carne può variare a seconda della matrice. Ad esempio, la carne fresca bovina può presentare un pH tra 5,5 e 6,2, mentre quella di pollo tra 6,2 e 6,4 e quella di pesce tra 6,2 e 6,6. I risultati ottenuti mostrano un *range* verso la basicità, rispetto ai valori riportati in letteratura. Un motivo che può giustificare un pH così basico è la presenza di enzimi nella carne, che nonostante il congelamento non fermano la loro attività metabolica. Attraverso la lisi di proteine, zuccheri ed elementi presenti nella matrice, si produce terreno fertile per la flora batterica che si attiverà più rapidamente al momento dello scongelamento. In effetti questi *range* di pH vengono considerati ideali per la crescita della maggioranza dei microrganismi ricercati (Villani, 2007). Un'altra spiegazione a valori di pH così basici è la notevole presenza di batteri proteolitici come *Pseudomonas* spp. a sfavore della flora batterica lattica che porterebbe, al contrario, ad un pH decisamente più acido.

4.2.3 ANALISI QUANTITATIVE

La Tabella 13 indica che per la maggior parte dei campioni conservati a 2°C la carica microbica aumenta significativamente all'aumentare dei giorni di conservazione. Le cariche microbiche di Coliformi fecali e *Listeria* spp. sono invece risultate inalterate nei vari tempi di analisi.

	T0	T2	T3	SE	P
CMT	6.72 ^b	7.98 ^a	8.57 ^a	0,34	0,002
Coliformi totali	4.33 ^b	5.33 ^{ab}	6.16 ^a	0,40	0,014
Coliformi fecali	3,60	4,22	4,62	0,33	0,112
<i>E. coli</i>	4.16 ^b	5.12 ^{ab}	6.49 ^a	0,38	0,001
<i>Pseudomonas</i> spp.	6.12 ^b	7.06 ^{ab}	8.41 ^a	0,37	0,001
<i>C. difficile</i>	1.83 ^b	2.12 ^{ab}	2.61 ^a	0,19	0,043
<i>Listeria</i> spp.	2,43	2,16	2,60	0,27	0,545

Tabella 13: Medie stimate, errore standard (SE) e significatività (P) delle cariche microbiche dei campioni conservati a 2°C e analizzati a T0, T2 e T3. Lettere diverse indicano medie stimate statisticamente diverse.

Per la maggior parte dei criteri microbiologici indagati non sono state evidenziate differenze statisticamente significative nel confronto tra le temperature di conservazione considerate (2° vs 7°C) (Tabella 14). Tuttavia, i campioni analizzati mostrano una carica microbica di Coliformi totali, *E. coli* e *Pseudomonas* spp. significativamente più alta a 7° C rispetto a quando conservati a 2°C.

	2°C	7°C	SE	P
CMT	7,98	8,60	0,28	0,128
Coliformi totali	5,33	6,22	0,29	0,041
Coliformi fecali	4,22	4,91	0,28	0,095
<i>E. coli</i>	5,12	6,24	0,29	0,011
<i>Pseudomonas</i> spp.	7,06	8,31	0,28	0,005

	2°C	7°C	SE	P
<i>C. difficile</i>	2,12	2,12	0,20	0,996
<i>Listeria spp.</i>	2,16	2,23	0,24	0,845

Tabella 14: Medie stimate, errore standard (SE) e significatività (P) delle cariche microbiche dei campioni analizzati a T2 e conservati a 2° e 7°C.

Partendo dalle dichiarazioni presenti sul sito *e-commerce*, secondo le quali tutti i prodotti sono sottoposti a controllo volontario in base alle norme vigenti per gli alimenti di Categoria 1 e che il sistema di confezionamento e lavorazione della carne è certificato, sono stati presi come riferimento i criteri microbiologici espressi dal Reg. CE 1441/2007 (che modifica il regolamento (CE) 2073/2005) per la carne macinata cruda che sono riportati in Tabella 15.

Microrganismo	Limite (UFC/g)
Carica microbica	<5,0 x 10 ⁶
Coliformi Totali	<5,0 x 10 ³
Coliformi Fecali	<5,0 x 10 ²
<i>E. coli</i>	<5,0 x 10 ²
<i>Listeria spp.</i>	<1,0 x 10 ²
<i>C. Difficile</i>	<1,0 x 10 ⁴
<i>Salmonella spp.</i>	Assente in 25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Assente in 25g
<i>Y. enterocolitica</i>	Assente in 25g

Tabella 15: Limiti di tollerabilità per i criteri microbiologici ricercati in riferimento alla carne macinata cruda (Reg. (CE) 1441/2007)

Per quanto riguarda *Pseudomonas spp.*, invece, il limite microbiologico è stato fissato per cariche inferiori a 1,0 x 10⁶. Tale valore è stato dedotto dalla letteratura: la carica di questo microorganismo infatti non è presente in alcun regolamento europeo perché non è considerato un patogeno alimentare. Come riportato in un recente articolo (Civera et al., 2011), *Pseudomonas spp.*, risulta un importante microrganismo alterante della matrice alimentare, soprattutto per i prodotti di origine animale come carne, pesce o formaggi. Viene, infatti, riportato uno studio (Gennari et al., 1992), dove notarono forti alterazioni della carne a cariche corrispondenti a 10⁸ -10¹¹ UFC/g, nello specifico di *P. fragii*. In conclusione, nel lavoro di Civera et al. (2011) viene individuata come limite di accettabilità per carni fresche e lavorate, una carica di *Pseudomonas spp.* inferiori a 10⁶-10⁷ UFC/g e considera la sua

presenza un indice di sensibilità al deperimento. Questi autori dimostrano, attraverso la letteratura, che cariche superiori a quella citata portano a marcate modificazioni delle caratteristiche organolettiche della matrice.

Invece, per *Clostridium difficile* è stato fatto riferimento ai dati disponibili per *C. perfringens* presente sul Reg(CE) 1441/2007, in quanto in letteratura non è stato ancora individuato con certezza il limite sanitario per questo batterio. In generale, in questo studio, il *C. difficile* è stato raramente isolato e non ha mai superato le cariche riportate in Tabella 15.

La Tabella 16 illustra il numero di campioni con cariche microbiche al di sopra dei limiti riportati in Tabella 15, per ciascuno dei criteri microbici indagati a T0, T2 e T3 conservati a 2°C e 7°C.

T°	tempo	CMT	Coliformi totali	Coliformi Fecali	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Listeria</i> spp.	<i>C.</i> <i>difficile</i>
		≥6,7	≥3,7	≥2,7	≥2,7	≥6	≥2	≥4
2	T0	7	9	13	13	8	8	0
2	T2	11	13	12	13	11	4	0
2	T3	5	6	6	6	6	4	0
7	T2	13	13	13	13	13	4	0

Totale campioni analizzati: T0: n=13; T2: n=13; T3: n=6

Tabella 16: Numero di campioni che presentano cariche microbiche (esprese come log UFC/g) superiori ai criteri stabiliti

E' interessante notare che già al momento dello scongelamento (T0) sono presenti numerose non conformità (Tabella 16). La non conformità per *E. Coli* e Coliformi fecali di tutti i campioni analizzati a T0 lascia ipotizzare una scarsa igiene durante le varie fasi di produzione, dalla macellazione al confezionamento.

In uno studio di Weese et al. (2005) sono state analizzate 24 diete commerciali crude per cani. I Coliformi fecali erano presenti in tutte e 24 le diete con un intervallo pari a 3,5-7,0 log CFU/g e una media di 5,9 log CFU/g. *E. coli* era presente in 15 diete ma mai nella forma O157:H7. Nel nostro studio la contaminazione da Coliformi fecali a T0 era inferiore ai valori riportati da Weese et al. (2005), ma 36 campioni su 45 rientravano nell'intervallo individuato dagli autori. In un altro studio (Nemser et al., 2014), sui 1056 campioni analizzati tra diete commerciali crude, estruse e umide, 10 campioni sono risultati positivi a *E. coli* verocitotossici (un ceppo di interesse zoonotico), tutti isolati dalle diete crude testate.

In generale, dal presente studio si è evidenziato che già a T0 il numero dei prodotti non conformi è piuttosto elevato e che, anche se conservati rigorosamente a 2°C, già dopo 48 ore quasi la totalità dei campioni risulta in evidente stato di alterazione. È possibile quindi ipotizzare che il prodotto possa rappresentare un rischio per coloro che lo manipolano ed eventualmente per chi lo consuma crudo. L'unico criterio microbiologico risultante sempre nella norma è il *C. difficile*. Quando i campioni scongelati sono stati conservati a 7°C, dopo 48 ore il superamento del limite di tollerabilità è avvenuto per la totalità dei campioni (n=13) in 5 dei criteri microbiologici indagati (Tabella 16).

Dall'analisi statistica (Tabella 17) risulta che non ci sono differenze statisticamente significative tra la percentuale di campioni non conformi conservati a 2°C e analizzati nei diversi tempi per tutti i criteri microbiologici indagati ad eccezione dei coliformi totali. Nessuna differenza è stata rilevata nel confronto tra le temperature: non è necessario quindi portare l'alimento in condizioni di abuso termico per ottenere cariche non conformi agli standard previsti per il consumo umano (Reg. (CE) 1441/2007).

	Tempo di conservazione (temperatura di 2°C)			P	Temperature (T2)		P
	T0	T2	T3		2°C	7°C	
CMT	53,8	84,6	83,3	0,172	84,6	100	0,124
Coliformi totali	69,2	100	100	0,035	100	100	-
Coliformi fecali	100	92,3	100	0,470	92,3	100	0,298
<i>E. coli</i>	100	100	100	-	100	100	-
<i>Pseudomonas</i> spp.	61,5	84,6	100	0,129	84,6	100	0,124
<i>Listeria</i> spp.	61,5	30,7	66,6	0,194	30,7	30,7	-
<i>C. difficile</i>	0	0	0	-	0	0	-

Tabella 17: Percentuale di campioni non conformi e valore di significatività (P) nel confronto tra campioni conservati a 2°C e analizzati a T0, T2 e T3 e tra campioni analizzati a T2 e conservati a 2° e 7°C.

Infine è stato creato un prospetto (Tabella 18) che mostra quali sono state le matrici che, a 2°C, si sono rivelate non conformi per i diversi criteri microbiologici.

2° C	CMT	Coliformi totali	Coliformi Fecali	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomona</i> <i>s spp.</i>	<i>Listeria</i> <i>spp.</i>
T0	Trippa verde	Trippa verde	Trippa verde	Trippa verde	Trippa verde	Trippa verde
	Salmone	Salmone	Salmone	Salmone	Salmone	Salmone
	Manzo	Manzo	Manzo	Manzo	Manzo	Manzo
	Trippa mix	Trippa mix	Trippa mix	Trippa mix	Trippa mix	Trippa mix
	Anatra	Reni	Cavallo	Cavallo	Cavallo	Cavallo
	Tacchino	Tacchino	Fegato	Fegato	Anatra	Tacchino
	Power mix	Power mix	Reni	Reni	Power mix	Power mix
		Colli di pollo	Anatra	Anatra	Colli di pollo	Carne testa
			Tacchino	Tacchino		
		Carne testa	Power mix	Power mix		
		Ragù pollame	Ragù pollame			
		Colli di pollo	Colli di pollo			
		Carne testa	Carne testa			
					Sospetta	
					Trippa mix Manzo Carne testa	
T2	Trippa mix	Trippa verde	Trippa verde	Trippa verde	Trippa mix	Trippa verde
	Reni	Salmone	Salmone	Salmone	Reni	Manzo
	Anatra	Manzo	Manzo	Manzo	Anatra	Tacchino
	Tacchino	Trippa mix	Trippa mix	Trippa mix	Tacchino	Power mix
	Power mix	Cavallo	Cavallo	Cavallo	Power mix	Sospetta
	Ragù pollame	Fegato	Reni	Fegato	Ragù pollame	Trippa verde
	Colli di pollo	Reni	Anatra	Reni	Colli di pollo	Salmone
	Carne testa	Anatra	Tacchino	Anatra	Carne testa	Manzo
	Salmone	Tacchino	Power mix	Tacchino	Salmone	Reni

2° C	CMT	Coliformi totali	Coliformi Fecali	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomona</i> <i>s spp.</i>	<i>Listeria</i> <i>spp.</i>
	Trippa verde	Power mix	Ragù pollame	Power mix	Trippa verde	Tacchino
	Manzo	Ragù pollame	Colli di pollo	Ragù pollame	Manzo	
		Colli di pollo Carne testa	Carne testa	Colli di pollo Carne testa		
T3	Power mix	Anatra	Anatra	Anatra	Anatra	Anatra
	Ragù pollame	Tacchino	Tacchino	Tacchino	Tacchino	Tacchino
	Colli di pollo	Power mix	Power mix	Power mix	Power mix	Power mix
	tritati	Ragù pollame	Ragù pollame	Ragù pollame	Ragù pollame	Carne testa
	Carne testa	Colli di pollo Carne testa	Colli di pollo Carne testa	Colli di pollo Carne testa	Colli di pollo Carne testa	
					Sospetta	
					Tacchino	

Tabella 18: matrici conservate a 2°C e risultate non conformi a T0, T2 e T3 per i criteri microbiologici considerati.

La Tabella 19 mostra invece, per ciascuno dei 13 prodotti acquistati, in quanti criteri microbiologici sono risultati non conformi a T0, T2 e T3 (conservazione a 2°C). Ad esempio, la trippa verde, un alimento particolarmente presente nella dieta BARF, è risultata non conforme per 6 criteri microbiologici su 7 già a T0. Come già accennato sopra, alcuni campioni non sono stati analizzati a T3 in quanto presentavano cariche troppo elevate già a T2 ed è questo il motivo per cui alcuni dati non sono presenti in colonna.

2°C	T0	T2	T3
Trippa verde	6	7	-
Salmone	6	6	-
Manzo	7	7	-

2°C	T0	T2	T3
Trippa mix	7	5	-
Cavallo	4	3	-
Fegato	2	2	-
Reni	3	6	-
Anatra	4	5	5
Tacchino	5	7	6
Power mix	6	6	6
Ragù pollame	2	5	5
Colli di pollo	4	5	4
Carne testa	5	5	6

Tabella 19: numero di criteri microbiologici risultati non conformi a T0, T2 e T3 (conservazione a 2°C).

In generale, senza considerare i dati relativi a T3, i prodotti che sono risultati maggiormente contaminati e quindi con un maggior numero di non conformità, sono:

-A T0: Manzo e trippa mix

-A T2: Trippa verde, manzo e tacchino.

5. CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Questo studio ha avuto due importanti obiettivi: il primo è stato quello di valutare il profilo del cane alimentato con dieta BARF e di quello del suo proprietario, indagando attraverso un questionario *online* le motivazioni principali che hanno spinto queste persone a tale scelta e come questa alimentazione sia gestita in famiglia. Il secondo obiettivo è stato quello di valutare la qualità microbiologica mediante prova di *shelf-life* di 13 alimenti BARF reperiti su un noto sito *e-commerce* dedicato ai barfisti.

I risultati del presente studio hanno raccolto informazioni da 218 proprietari di cani alimentati con diete BARF evidenziando che questi soggetti appartengono a varie razze, rappresentati in maggior parte da cani di taglia medio grande. I cani hanno un'età per lo più compresa fra i 2 e i 7 anni, ma sono presenti soggetti di tutte le fasce di età, anche quelle più a rischio come cuccioli e anziani. I cani alimentati con dieta BARF sono ripartiti equamente per il sesso, anche se la maggior parte di questi soggetti non è sterilizzata. Un aspetto importante è rappresentato dalla convivenza con l'uomo: i cani oggetto di studio vivono in maggioranza in casa, a stretto contatto con i componenti della famiglia.

Il profilo del proprietario BARF italiano è rappresentato da donne che provengono per lo più dal Nord Italia, hanno in media dai 21 ai 40 anni e vivono in coppia o in famiglia con figli. Nei nuclei famigliari oggetto di studio sono state identificate persone a rischio come bambini al di sotto i 3 anni, anziani, donne in gravidanza e persone affette da malattie croniche e quindi immunodeficitarie; alcuni di questi individui erano presenti contemporaneamente nel medesimo nucleo familiare.

La motivazione principale che spinge il proprietario a scegliere per il proprio cane una dieta BARF è la questione etica, ovvero la possibilità di avvicinare il proprio animale domestico ad un'alimentazione carnivora simile a quella del suo predecessore, il lupo. Un'altra motivazione su cui è necessario spendere due parole è quella legata all'aspetto sanitario dell'alimento, poiché secondo i barfisti l'alimentazione cruda è più salutare di quella commerciale, secca o umida, visto che questa in passato ha creato vari problemi di salute ai cani. Tuttavia da questa indagine è apparso evidente come nella maggior parte dei casi, i proprietari risultassero confusi circa la sicurezza alimentare di questa dieta oppure non si fossero nemmeno mai posti questo problema.

Dai risultati delle analisi microbiologiche condotte in questo studio, si può comprendere come la maggior parte dei prodotti crudi acquistati *online* siano altamente contaminati già al momento dello scongelamento. Essendo consci che non esistono indicazioni relative alla qualità microbiologica dei prodotti crudi in commercio per cani o gatti, sono state applicate le indicazioni presenti sul Reg. (CE) 1441/2007 per carni crude macinate adatte al consumo alimentare umano: non è noto se queste indicazioni siano troppo restrittive quando applicate all'uso di alimenti crudi negli animali domestici. Va detto che, visto l'ampio utilizzo dei siti *e-commerce* da parte dei consumatori, notevole attenzione dovrebbe essere posta sulla qualità dei prodotti che, come questi, sono venduti *online*. Innanzitutto, dovrebbero esserci maggiori garanzie riguardo la provenienza e la qualità delle materie prime di questi prodotti alimentari crudi per i *pet*, nonché sui metodi di lavorazione impiegati per trasformarli. Dai prodotti reperiti non è stato nemmeno possibile sapere se gli stabilimenti di trasformazione fossero a norma. Inoltre, la modalità di trasporto di questi prodotti rappresenta un altro punto di discussione poiché non è possibile sapere se la catena del freddo è garantita per tutto il percorso e se ed eventualmente come avviene la disinfezione del mezzo di trasporto. Se la catena del freddo non venisse rispettata, la qualità chimica e microbiologica dei prodotti potrebbe essere altamente compromessa. I risultati ottenuti nella prova di *shelf-life* hanno dimostrato che, dopo 48 ore di conservazione a 2°C, la maggior parte dei prodotti considerati nello studio non rientrava più nei criteri di conformità stabiliti e, anzi, arrivava a superarli anche di 6 unità logaritmiche, come è accaduto per *Pseudomonas* spp. Sarebbe importante quindi regolamentare il commercio di questi ingredienti, visto il sempre più elevato impiego da parte dei proprietari, stabilendo delle linee guida sulla qualità della produzione, conservazione e trasporto del materiale. Inoltre sarebbe utile stabilire dei requisiti microbiologici adatti a questi prodotti.

Questa regolamentazione è quanto mai necessaria, vista l'implicazione che la contaminazione delle carni consumate dai cani di proprietà ha sulla salute pubblica.

A questo si aggiunge anche il fatto che la maggior parte delle matrici analizzate e non conformi corrispondono alle materie prime principalmente impiegate dai barfisti, come emerso dall'indagine: manzo, pollo, tacchino e trippa verde. L'unico alimento che, tra i campioni analizzati, è da considerarsi microbiologicamente più sicuro è il fegato, anch'esso sempre presente nella dieta BARF e risultato tra tutti, quello con il minor numero di non conformità. Va detto però che in questo studio è stato analizzato un numero di campioni che

andrebbe decisamente aumentato per avere un quadro più completo e delle conclusioni più solide sulla qualità microbiologica di questi alimenti.

D'altra parte, come è emerso dall'indagine condotta, la maggior parte dei proprietari acquista le materie prime in supermercati e macellerie, dove in teoria, lo standard d'igiene è elevato e vengono garantiti i controlli necessari a stabilire la conformità per il consumo alimentare umano.

Infine, è importante sottolineare il ruolo del veterinario e/o del nutrizionista nella diffusione delle informazioni a tutti coloro che utilizzano una dieta BARF per il proprio cane: è necessario informare circa la possibilità che batteri di interesse zoonotico si diffondano attraverso le feci del proprio cane in ambiente domestico nonché sulle importanti norme igieniche da rispettare per ridurre i rischi di contaminazione dell'alimento e per prevenire possibili rischi di infezione delle persone che vivono a contatto con l'animale. In alcuni casi (se in casa è presente un soggetto a rischio) l'impiego di queste diete dovrebbe essere fortemente scoraggiato.

6. BIBLIOGRAFIA

- Axelsson E, Ratnakumar A, Arendt M-L, et al., *The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet*. Nature, 2013; 360-364
- Behravesh CB, Ferraro A, Deasy M, et al., *Human Salmonella Infections linked to contaminated dry dog and cat food, 2006– 2008*. Pediatrics, 2010;477-483
- Billinghamurst I., *Give your dog a bone: the practical commonsense way to feed dogs for a long healthy life.*, Australia: Bridge Printery Ian Billinghamurst, 1993.
- Daniel P. Schlesinger, Daniel J. Joffe *Raw food diets in companion animals: A critical review*, Can Vet J., 2011; 50-54.
- Dillitzer N, Becker N, Kienzle E., *Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adults dogs*. Br J Nutr, 2011; 106:S53–S56
- Dubey JP, Hill DE, Jones JL, et al., *Prevalence of viable Toxoplasma gondii in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers.*, J Parasitol, 2005;91:1082–1093
- Finley R, Reid-Smith R, Ribble C, et al., *The occurrence and antimicrobial susceptibility of Salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities*. Zoonoses Public Health, 2008;462-469
- Finley R, Ribble C, Aramini J, et al., *The risk of salmonellae shedding by dogs fed Salmonella-contaminated commercial raw food diets*. Can Vet J, 2007; 48:69–75
- Finley R., Reid-Smith R. and Weese JS *Human health implications of Salmonella-contaminated natural pet treats and raw per food*. Clin Infect Dis., 2006; 686-691.
- Freeman LM, Chandler ML, Hamper BA, et al. *Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats*. Vet Med Assoc:Timely Topics in Nutrition, 2013; 1549-1558.
- Freeman LM, Michel KE., *Evaluation of raw food diets for dogs* J Am Vet Med Assoc., 2001;705-709
- Friedman M., *Food browning and its prevention: an overview*. J Agric Food Chem, 1996;631-653
- Gennari M, Dragotto F., *A study of the incidence of different fluorescent Pseudomonas species and biovars in the microflora of fresh and spoiled meat and fish, raw milk, cheese, soil and water*, J Appl Bacteriol. 1992; 281-288

- Handl S., *The “BARF” trend – advantages, drawbacks and risks*, Veterinary Focus, 2014; 16-23.
- Helen M. Berschneider, DVM, *Alternative Diets*, Clinical Techniques in Small Animal Practice, 2002;1-5
- J. Scott Weese, Joyce Rousseau and L. Arroyo *Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets*. Can Vet J., 2005; 513-516.
- Joffe DJ, Schlesinger DP., *Preliminary assessment of the risk of Salmonella infection in dogs fed raw chicken diets*. Can Vet J, 2002; 441-442
- Johnston N., *Attitudes to oral care in dogs among UK’s vets and vet nurses*, Veterinary Times, 2012; www.vetsonline.com
- Kerr KR, Vester Boler BM, Morris CL, et al., *Apparent total tract energy and macronutrient digestibility and fecal fermentative end-product concentrations of domestic cats fed extruded, raw beef-based, and cooked beef-based diets*. J Anim Sc, 2012;515-522
- Köhler B, Stengel C, Neiger R., *Dietary hyperthyroidism in dogs*. J Small Anim Prac, 2012; 182-184
- Lee et al., *Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs*. Am. J. Vet. Res.2000; 61: 1446-50
- Lefebvre SL, Reid-Smith R., et al., *Evaluation of the risks of shedding Salmonellae and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta.*, Zoonosis Public Health, 2008; 55:470-480.
- Lejeune JT, Hancock DD. *Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs*, J Am Vet Med Assoc., 2001; 1222-1225.
- Lenz J, Joffe D, Kauffman M, et al., *Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs*. Can Vet J 2009;50:637–643
- Lonsdale T., *Work Wonders: feed your dog raw meaty bones*, Australia: Rivetco P/L, 2005.
- Morley PS., Strohmeier RA et al., *Evaluation of the association between feeding raw meat and Salmonella enteric infections at a greyhound breeding facility*. J Am Vet Med Assoc, 2006; 228:1524-1532.

- Rodriguez-Palacios A., et al. *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. *Animal Health Res Rev.*, 2013; 11-29.
- Sarah M. Nemser et al. *Investigation of Listeria, Salmonella and Toxigenic Escherichia coli in Various Pet Foods*. *Foodborne Patholog Dis.*, 2014: 706-709.
- Schultze KR, ed., *Natural nutrition for dogs and cats: the ultimate diet*. Carlsbad, Calif: Hay House Inc, 1998.
- Singleton C., Wack R., Larsen RS. *Bacteriologic and nutritional evaluation of a commercial raw meat diet as a part of a raw meat safety program* *Zoo Biol*, 2012; 574-585.
- Steenkamp et al., *Oral and dental conditions in adult african wild dog skulls: a preliminary report*, *J Vet Den*, 1999;65-68
- Strohmeyer RA, Morley PS, Hyatt DR, et al. *Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs*. *J Am Vet Med Assoc* 2006;228:537–542.
- Tiziana Civera, Bartolomeo Griglio et al., *Alterazioni organolettiche negli alimenti causate da pseudomonadaceae. Possibili ricadute per la sanità pubblica*, AIVEMP newsletter, 2011: 10-14
- Vester BM, Burke SL, Liu KJ, et al., *Influence of feeding raw or extruded feline diets on nutrient digestibility and nitrogen metabolism of African wildcats (Felis lybica)*. *Zoo Biology*, 2010; 676-686
- Volhard W, Brown KL., *The holistic guide for a healthy dog*. New York: Howell Book House, 1995.
Volhard W., *Wendy Volhard's Homemade Dog Food Recipe*, www.volhard.com.
- Weber A, Poterl J, et al., *Studies on the occurrence of Listeria noncytogenes in fecal samples of domestic and companion animals*. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 1995; 117-123.
- Wright JG et al., *Multidrug-resistant Salmonella Typhimurium in four animal facilities*. *Emerg Infect Dis*. 2005; 1235-1241.

7. REGOLAMENTI

- Regolamento (CE) 1441/2007 della Commissione del 5 dicembre 2007 “*che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari*” Gazzetta Ufficiale dell’Unione Europea 7.12.2007, L322,12
- Regolamento(CE) n. 2008 della Commissione del 25 Aprile 2008 DELLA COMMISSIONE del 25 aprile 2008 “*Modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 1831/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda la preparazione e la presentazione delle domande e la valutazione e l'autorizzazione di additivi per mangimi*” Gazzetta Ufficiale dell’Unione Europea 22.5.2008, L133,1.
- Regolamento(UE) n. 892/2010 della Commissione dell’8 ottobre 2010 “*lo status di alcuni prodotti in relazione agli additivi per mangimi cui si applica il regolamento (CE) n. 1831/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio*” Gazzetta Ufficiale dell’Unione Europea 9.10.2010, L 266, 6

8. SITOGRAFIA

- Gruppi Facebook®: BARF & Co., Barf dieta, Barf.it, DIARIO BARF, Dieta BARF (www.petfood.it), Dieta Barf: opinioni libere senza censura. - Silvestri V., *BARF in pratica*, gruppo BARF & Co., Facebook®, 2014
- www.anmvi.it
- www.cucinacasalingapercani.it – la magia della trippa verde questa sconosciuta
- www.dogsnaturallymagazine.com
- www.fda.gov – recalls and withdrawals
- www.ncbi.nlm.nih.gov
- www.podcast.federica.unina.it – Microbiologia di prodotti alimentari: Carne. Prodotti carnei fermentati., 2007
- www.rawfed.com
- www.rawmeatybones.com

9. ALLEGATO 1 – QUESTIONARIO DIETA BARF

29/9/2015

QUESTIONARIO SULLA DIETA BARF

QUESTIONARIO SULLA DIETA BARF

*Campo obbligatorio

DATI DEL CANE

1. **Razza ***

.....

2. **Peso del cane ***

(in kg)

.....

3. **Sesso ***

Contrassegna solo un ovale.

Maschio

Femmina

4. **Il tuo cane è sterilizzato? ***

Contrassegna solo un ovale.

Sì

No

5. **Età ***

(ES. 1 ANNO, 3 ANNI, < DI UN ANNO...)

.....

6. **Taglia ***

peso ideale: piccola <10kg; media 11-25kg; grande 25-45kg; gigante >45kg

Contrassegna solo un ovale.

piccola

media

grande

gigante

7. Il tuo cane vive in casa? **Contrassegna solo un ovale.*

- sì, vive sempre in casa con noi
- no è sempre fuori in giardino/box/recinto
- entra in casa solo in certi momenti della giornata

8. Secondo te il tuo cane è: **Contrassegna solo un ovale.*

- molto magro
- leggermente sottopeso
- di peso ideale
- leggermente sovrappeso
- sovrappeso

9. Quanto spesso porti il cane dal Veterinario? **Contrassegna solo un ovale.*

- solo per i vaccini
- solo in caso di problemi
- raramente o mai
- per vaccini e se ci sono problemi
- Altro:

DATI DEL PROPRIETARIO

10. Provincia *

scrivere il nome della provincia per esteso

.....

11. Sesso **Contrassegna solo un ovale.*

- uomo
- donna

12. Età **Contrassegna solo un ovale.*

- <20 anni
- 21-40 anni
- 40-60 anni
- >60 anni

13. Nucleo familiare: **Contrassegna solo un ovale.*

- single
 coppia
 famiglia con figli
 coinquilini senza legame di parentela
 Altro:

14. In casa attualmente ci sono: **Contrassegna solo un ovale per riga.*

	si	no
bambini (età <3 anni)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
bambini (età 3-10 anni)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
anziani (>75 anni)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
donne in gravidanza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
persone affette da malattie croniche e/o in terapia	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

15. Vivete in appartamento/casa: **Contrassegna solo un ovale.*

- con giardino
 con ampia terrazza
 senza spazio esterno

16. Per sgambare quotidianamente, il cane: **Contrassegna solo un ovale.*

- sta in giardino/terrazza
 sta in recinto
 viene portato in passeggiata
 Altro:

17. Come hai conosciuto la dieta BARF? **Seleziona tutte le voci applicabili.*

- consigliata da un amico
 facendo ricerche in internet
 consigliata dal Veterinario
 leggendo riviste, libri e articoli
 consigliata dall'allevatore
 Altro:

DIETA BARF



18. **Qual è il motivo principale che ti ha portato a scegliere un'alimentazione BARF per il tuo cane? ***

segna la risposta che ritieni più importante
Contrassegna solo un ovale.

- non ho fiducia nell'alimento commerciale
- il mio cane ha avuto problemi di salute mangiando crocchette
- il mio cane rifiuta le crocchette
- per una questione di principio: è un'alimentazione che rispetta la natura carnivora dell'animale (il cane deriva dal lupo)
- per una questione sanitaria: ho sentito che con questa alimentazione i cani hanno meno problemi di salute
- Altro:

19. **Da un punto di vista sanitario, ritieni BARF una dieta sicura per il cane? ***

Contrassegna solo un ovale.

- Sì
- No
- Non mi sono mai posto il problema

20. **A tuo parere qual è il vantaggio principale della dieta BARF? ***

segna la risposta che ritieni più importante
Contrassegna solo un ovale.

- contiene principalmente proteine animali, che sono le più importanti nella dieta di un cane
- non contiene carboidrati
- il fatto che la carne non è cotta
- al cane piace molto di più delle crocchette
- il cane si soddisfa di più perchè passa più tempo a consumare il pasto rispetto a quello impiegato su una ciotola di crocchette
- so esattamente cosa contiene la dieta perchè sotto il mio diretto controllo
- Altro:

21. A tuo parere qual è lo svantaggio principale della dieta BARF? *

segna la risposta che ritieni più importante

Contrassegna solo un ovale.

- mangiando ossa possono incorrere in problemi di salute, anche seri
- non sempre al cane piace
- a volte il cane vomita o ha diarrea
- il reperimento di alcuni ingredienti è faticoso
- è una dieta costosa
- è necessario molto tempo per la sua preparazione
- Altro:

22. Cosa non ti convince dell'alimento commerciale? *

segna le 3 opzioni che ritieni più importanti

Seleziona tutte le voci applicabili.

- non so quali ingredienti contiene
- non conosco provenienza e qualità delle materie prime con cui sono fatti
- contiene carboidrati
- il cane la consuma molto in fretta e senza appagamento
- l'alimento commerciale contiene additivi (conservanti, coloranti, ecc.)
- al mio cane non piace
- non ho niente contro l'alimento commerciale ma preferisco un'alimentazione basata su ingredienti freschi
- mi piace occuparmi personalmente della dieta del mio cane
- Altro:

23. Qualcuno afferma che mangiando carne cruda il cane può contrarre malattie. E' vero secondo te? *

Contrassegna solo un ovale.

- si
- no
- non ne ho mai sentito parlare
- ne ho sentito parlare ma la cosa non mi preoccupa

24. Da quanto tempo fai uso della dieta BARF? *

Contrassegna solo un ovale.

- meno di un anno
- 1-5 anni
- 5-10 anni
- da più di 10 anni

25. Hai mai usato l'alimento commerciale prima di adottare la dieta BARF? *

Contrassegna solo un ovale.

- Si
 No

26. Dove acquisti generalmente la carne? *

Seleziona tutte le voci applicabili.

- supermercato
 macelleria
 tramite internet e negozi online
 macelli
 in qualsiasi di questi posti

27. Di quale tipologia di carne fai abitualmente uso? *

scegliere le 3 opzioni più utilizzate

Seleziona tutte le voci applicabili.

- agnello
 maiale
 manzo
 pollo
 tacchino
 cavallo
 selvaggina (anatra, quaglie, ecc.)
 coniglio
 Altro:

28. Di quale tipologia di pesce fai abitualmente uso? *

scegliere le 3 opzioni più utilizzate

Seleziona tutte le voci applicabili.

- acciughe
 merluzzo
 salmone
 sardine
 sgombro
 alici
 aringhe
 Altro:

29. Di quali parti anatomiche fai principalmente uso? *

scegliere le 3 opzioni più utilizzate
Seleziona tutte le voci applicabili.

- carne macinato
- trippa verde
- trippa bianca
- cosce
- spalle
- lombi
- colli interi o macinati
- coda
- schiena
- Altro:

30. Di quali frattaglie fai principalmente uso? *

scegliere le 3 opzioni più utilizzate
Seleziona tutte le voci applicabili.

- fegato
- reni
- cuore
- polmoni
- milza
- durrelli
- Altro:

31. Quali tipi di verdure usi? *

indicare la frequenza di utilizzo di ogni ingrediente (0:non ne faccio uso; 1:raramente(1-3 volte/mese); 2: 1 volta/settimana; 3: 2-3 volte/settimana; 4:quotidianamente
Contrassegna solo un ovale per riga.

	0	1	2	3	4
zucchine	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
fagiolini	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
zucca	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
carote	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
legumi (fagioli, lenticchie, ceci, ecc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
verdura a foglia larga (bietta, coste, spinaci, ecc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
cavoli / broccoli	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
sedano	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
carciofi	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
melanzane	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
peperoni	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
piselli	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

32. Fai uso di frutta nella dieta del tuo cane? *

indicare la frequenza di utilizzo di ogni ingrediente (0:non ne faccio uso; 1:raramente(1-3 volte/mese); 2: 1 volta/settimana; 3: 2-3 volte/settimana; 4:quotidianamente
Contrassegna solo un ovale per riga.

	0	1	2	3	4
mela	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
pera	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
agrumi	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
banana	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
melone	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
anguria	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
pesche	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
albicocche	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
ananas	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
fragole	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
fichi	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

33. Fai uso di fonti di carboidrati? *

indica massimo 3 opzioni (le più utilizzate)
Seleziona tutte le voci applicabili.

- riso soffiato
- patate
- pane
- pasta
- orzo
- riso
- mix di cereali (orzo, avena, farro...)
- non ne faccio uso
- Altro:

34. Indica gli integratori di cui fai uso? **Seleziona tutte le voci applicabili.*

- polvere di ossa
- alghe
- lievito di birra
- aglio
- olio di Salmone
- olio di semi di lino
- olio di fegato di merluzzo
- olio di cocco
- brodo di ossa
- vitamine e minerali in polvere
- frutta secca (noci, mandorle, pinoli, ecc.)
- non ne faccio uso
- Altro:

35. Somministri ossa polpose al tuo cane? **Contrassegna solo un ovale.*

- si, tutti i giorni
- si, più volte alla settimana
- raramente
- no, ritengo pericoloso somministrare ossa di qualsiasi tipo
- Altro:

36. Indica i derivati di origine animale di cui fai uso? **Seleziona tutte le voci applicabili.*

- no, non li uso
- burro
- mascarpone
- yogurt
- formaggi
- latte
- uova
- sego bovino
- strutto
- Altro:

37. Se fai uso di formaggi, specifica quali:

.....
.....
.....
.....
.....

38. Usi ancora una parte di crocchette? *

Contrassegna solo un ovale.

- no, le ho eliminate completamente
- sì, ne uso una piccola quantità tutti i giorni
- regolarmente 50:50
- regolarmente più del 50%
- solo quando sono lontano da casa per comodità

39. Come dosi le quantità degli ingredienti nella dieta BARF? *

Contrassegna solo un ovale.

- vado a occhio, ormai sono esperto
- le calcolo in base a tabelle nutrizionali disponibili in internet o sui libri
- trovo le ricette in internet
- uso le diete pronte acquistabili in internet e non doso
- chiedo consiglio al veterinario
- ho imparato a formularle da sola con l'aiuto dei consigli sui forum
- Altro:

40. Quanto tempo dedichi alla preparazione delle razioni? *

Contrassegna solo un ovale.

- non molto, le acquisto pronte e basta scongelarle
- non so quantificare il tempo impiegato
- 10 minuti/giorno
- 20-30 minuti/giorno
- 30-45 minuti/giorno
- 45-60 minuti/giorno
- 60-120 minuti/giorno
- > 120 minuti/giorno

41. Hai notato miglioramenti nel tuo cane da quando utilizzi la dieta BARF? *

al massimo 3 opzioni

Seleziona tutte le voci applicabili.

- pelo e cute più belli
- denti più sani
- vivacità e umore
- prestazioni fisiche (allenamenti, gare, attenzione...)
- prestazioni riproduttive
- massa e muscolatura
- miglioramento alitosi
- orecchie pulite
- Altro:

42. Hai mai notato problemi di salute legati all'assunzione di questa dieta? *

al massimo 3 opzioni

Seleziona tutte le voci applicabili.

- stitichezza o costipazione
- vomito
- dolori addominali
- diarrea
- allergie
- perdita di pelo
- lesioni orali
- scheggiatura/rottura denti
- schegge di ossa in esofago
- Altro:

43. Hai mai notato alterazioni comportamentali legati all'assunzione di questa dieta? **Seleziona tutte le voci applicabili.*

- mai
- cane più sereno e tranquillo
- cane più vivace e attivo
- cane più irrequieto
- cane più aggressivo
- Altro:

44. Se hai più cani, escludi la dieta BARF per qualcuno di loro? *

Seleziona tutte le voci applicabili.

- no, la uso per tutti indistintamente
- la escludo per i cuccioli
- la escludo per gli anziani
- la escludo per le femmine in gravidanza
- la escludo per le femmine che allattano
- la escludo per soggetti con problemi di salute
- Altro:



RINGRAZIAMENTI

Ringrazio i miei genitori che mi hanno spronata a dare sempre il meglio che potevo e mi hanno sostenuta in qualsiasi scelta io decidessi di intraprendere.

Ringrazio Enrico, costante presenza nei momenti felici e in quelli difficili

A Elisa, la correttrice di bozze più scrupolosa di sempre

A Claudia, l'amica migliore che si possa desiderare, dico solo "Grazie" perché tu sai già quale significato dare a queste 6 lettere.

A Sarah, il pilastro universitario di questi miei due anni di studio, la mia motivatrice personale.

Un grazie anche a tutti coloro che mi hanno seguito, insegnato e fatto crescere in questa esperienza. A Riccardo e tutti i collaboratori del laboratorio ispezione: grazie per aver sopportato questa rompicatole per 6 lunghi e interminabili mesi.

E infine a Laika, instancabile compagna nelle notti di studio matto e disperatissimo.