

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in
Medicina Veterinaria

**Studio di fattibilità di un alimento
completo fresco per cani: atteggiamento
dei proprietari e aspetti di conservabilità
del prodotto**

Relatore

Dott.ssa Ricci Rebecca

Correlatore

Dott. Fasolato Luca

Laureanda

Andreatta Sara

Matricola n. 594630

ANNO ACCADEMICO 2014/2015

“Ora questa non è la fine.
Non è nemmeno l’inizio della fine.
Ma è, forse, la fine dell’inizio.”
[cit.]

INDICE GENERALE

1	INTRODUZIONE	1
1.1	PETFOOD	3
1.1.1	TIPOLOGIE DI ALIMENTI PER CANI E GATTI	4
	- DIETA COMMERCIALE	4
	- ALTERNATIVE AL PETFOOD: LA DIETA CASALINGA	6
1.1.2	RISCHI LEGATI AL PETFOOD	13
1.2	SHELF-LIFE	15
1.2.1	FATTORI CHE INFLUENZANO LA SHELF-LIFE DEI PRODOTTI	16
1.2.2	METODI DI STUDIO DELLA SHELF-LIFE	18
1.2.3	METODI PER PROLUNGARE LA SHELF-LIFE	20
2	OBIETTIVI	21
3	MATERIALI E METODI	23
3.1	INDAGINE ALIMENTARE E ATTEGGIAMENTO DEI PROPRIETARI VERSO LA DIETA CASALINGA	23
3.2	PRODUZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO	24
3.2.1	FORMULAZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO	24
3.2.2	PRODUZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO: MISCELAZIONE, COTTURA E CONFEZIONAMENTO	27
3.3	ANALISI MICROBIOLOGICHE E CHIMICHE	29
3.3.1	MATERIALE NECESSARIO PER LE ANALISI	31

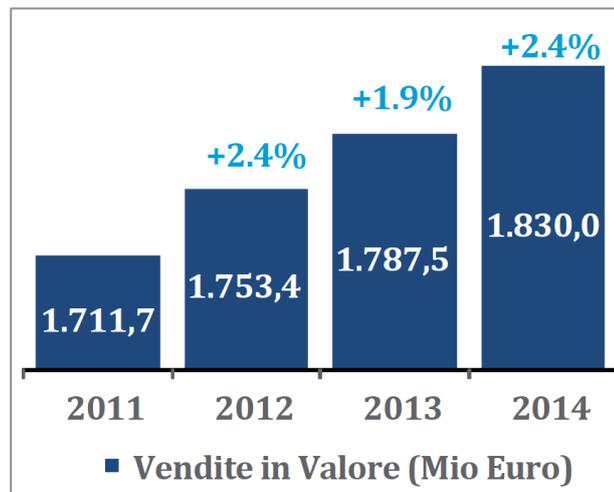
3.3.2	PREPARAZIONE MATERIALE	33
-	MATERIALE PER LE ANALISI MICROBIOLOGICHE	33
-	MATERIALE PER LE ANALISI CHIMICHE	40
4	RISULTATI E DISCUSSIONE	45
4.1	INDAGINE ALIMENTARE E ATTEGGIAMENTO DEI PROPRIETARI VERSO LA DIETA CASALINGA	45
4.1.1	PARTE 1: INFORMAZIONI GENERALI	46
4.1.2	PARTE 2: INFORMAZIONI SULLA GESTIONE DEGLI ANIMALI	51
4.1.3	PARTE 3/A: ALIMENTAZIONE COMMERCIALE	57
4.1.4	PARTE 3/B: ALIMENTAZIONE CASALINGA	61
4.1.5	PARTE 3/C: ALIMENTAZIONE MISTA	65
4.2	PRODUZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO E ANALISI MICROBIOLOGICHE E CHIMICHE	71
4.2.1	PROVA 1	72
4.2.2	PROVA 2	77
4.2.3	PROVA 3	82
5	CONCLUSIONI	91
6	ALLEGATI	93
7	BIBLIOGRAFIA	125
8	RINGRAZIAMENTI	135

1

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni la crisi economica si sta abbattendo sulla maggior parte delle famiglie italiane. Nonostante ciò, il settore del petfood sembra non risentirne ed è in continua crescita. Questo è quello che afferma il Rapporto Assalco – Zoomark 2015, che riporta un aumento delle vendite rispetto all'anno precedente del 2,4% nel 2012, dell'1,9% nel 2013 e del 2,4% nel 2014 (Figura 1.1).

Figura 1.1
Vendite petfood (in milioni di Euro)
Fonte: Rapporto Assalco 2015



Sempre secondo lo stesso Rapporto, i principali motivi di questo trend positivo sono dati sia dall'aumento delle famiglie con almeno un pet, sia dalla crescente attenzione degli italiani per la salute e la cura dei propri animali da compagnia. Molti proprietari, infatti, pongono il benessere dei propri animali davanti a tutto, non rinunciando quindi ad acquistare prodotti di alta qualità. Questo è vero in misura maggiore per i proprietari di cani (rispetto a quelli di gatti) in cui c'è una

maggiore consapevolezza dell'importanza della buona alimentazione per tutelare la salute del proprio animale (Assalco – Zoomark, 2015). Altro indice sottolineato dal Rapporto Assalco che conferma quanto appena detto sta nella scelta del tipo di negozio (e di conseguenza della qualità dei mangimi) in cui i proprietari di animali da compagnia acquistano i prodotti alimentari. Innanzitutto, ricordiamo che possiamo distinguere tre diversi canali di vendita: Grocery (ipermercati, supermercati, discount; ampia gamma di prodotti di fascia economy e media), Petshop tradizionali (ampia gamma di prodotti premium e superpremium) e Catene petshop (almeno sette punti vendita di proprietà; unisce specializzazione dei Petshop tradizionali e convenienza del canale Grocery). Prendendo come riferimento l'alimento secco, i dati Assalco – Zoomark 2015 ci dicono che il 54,9% dei proprietari di gatti lo acquistano in Grocery, il 36,3% in Petshop tradizionali, l'8,8% in Catene petshop. I proprietari di cani, invece, per il 55,9% si rivolgono a Petshop tradizionali specializzati, il 32,2% in Grocery e l'11,9% in Catene petshop (Assalco – Zoomark, 2015).

Questi dati suggeriscono che, mentre i proprietari di cani basano la scelta dell'alimento sul consiglio del proprio Medico Veterinario affidandosi alle principali marche di riferimento per avere la certezza della qualità, per i proprietari di gatti il criterio principale di scelta è la soddisfazione dei gusti/preferenze dell'animale, a discapito spesso della qualità del prodotto acquistato (Assalco – Zoomark, 2015).

1.1 PETFOOD

L'industria del petfood nasce verso la metà del 1800, contemporaneamente all'aumento del benessere di alcuni ceti sociali: persone benestanti con più tempo libero e una maggiore disponibilità economica. Le persone comuni iniziarono quindi a considerare gli animali da compagnia come un "bene di lusso", e la loro alimentazione diventò più controllata. I primi biscotti per cani, che ebbero uno straordinario successo, nacquero in Inghilterra nel 1860 ed erano costituiti da un impasto cotto di grano, bietole e ortaggi agglomerati con sangue di manzo. La richiesta di questo tipo di prodotti aumentò improvvisamente e così, nei 50 anni successivi, ci fu un'esplosione di industrie dedicate alla produzione di alimenti per cani, principalmente in scatola (Burns, 2008; Cellania, 2013).

Durante la guerra, però, il razionamento di carne e lamiera costrinse gli imprenditori a trovare un'alternativa e così, nel 1957, venne prodotto dalla divisione petfood della Ralston Purina Company il primo alimento estruso per cani. Quello per gatti fu prodotto dalla stessa azienda 5 anni più tardi, nel 1962. Il suo enorme successo portò ad un metodo di produzione che viene utilizzato anche ai giorni nostri (Burns, 2008).

1.1.1 TIPOLOGIE DI ALIMENTI PER CANI E GATTI

Dieta Commerciale

Secondo la definizione presente nel Regolamento CE n. 767/2009 del Parlamento Europeo, e riportata dal Code Of Good Labelling Practice For Pet Food, con il termine alimenti per animali da compagnia o petfood si intendono alimenti trasformati, semi-trasformati o non trasformati fabbricati da un produttore di petfood, destinati ad essere ingeriti dagli animali da compagnia, dopo essere stati immessi in commercio (FEDIAF, 2011).

Il petfood commerciale si distingue, sulla base del contenuto di acqua, in **secco** se questa è inferiore al 14%, **semi-umido** se è superiore o uguale al 14% e inferiore al 60%, **umido** se l'acqua è superiore o uguale al 60% (Figure 1.2, 1.3, 1.4) (FEDIAF, 2011).

Figura 1.2
Alimento secco



Figura 1.3
Alimento semi-umido



Figura 1.4
Alimento umido



Le Nutritional Guidelines (FEDIAF, 2013) suddividono inoltre il petfood in alimento **completo** e **complementare**. Il primo è in grado di soddisfare il fabbisogno quotidiano di tutti i nutrienti senza necessità di integrazioni, mentre l'alimento complementare apporta una gamma ristretta di nutrienti (es. lo snack) e

per questo non può rappresentare più di una piccola percentuale (generalmente non superiore al 10%) della dieta dell'animale per non incorrere in uno sbilanciamento dei fabbisogni nutrizionali.

Gli alimenti commerciali sono formulati sia per animali sani in mantenimento nelle diverse condizioni fisiologiche (**alimenti di mantenimento** per cani o gatti in accrescimento/gravidanza/lattazione/anziani/che vivono in casa/che svolgono attività sportiva intensa, ecc.), sia per individui malati (**alimenti dietetici**) per i quali la nutrizione gioca un ruolo fondamentale nel controllo dei segni clinici (es. alimenti per cani/gatti con insufficienza renale, problemi gastroenterici, iperlipemia, cardiopatia, allergia alimentare, ecc.) (Circolare Ministero della Salute, 2012).

Anche il processo di produzione è differente a seconda della tipologia commerciale.

L'**alimento secco** deriva da un processo di estrusione (Bone-Shannon, brevetto 1977). Questo viene prodotto sotto forma di crocchette di varie forme e colori. Come già detto, la percentuale di umidità in questi prodotti è inferiore al 14% (FEDIAF, 2011). Il contenuto di proteine è compreso fra il 18% SS e il 32% SS, quello di grassi fra l'8% SS e il 22% SS, mentre i carboidrati sono presenti in misura maggiore e variano dal 46% SS al 74% SS (Case et al., 2000). I vari ingredienti che compongono l'alimento vengono mescolati e successivamente cotti ad alta temperatura e pressione all'interno di un estrusore. Questo processo porta ad una sterilizzazione del prodotto e, grazie anche al basso contenuto di acqua, rende l'alimento stabile nel tempo (Tran et al., 2008). Nonostante molti cani e gatti trovino più appetibile l'alimento umido, quello secco è apprezzato dai proprietari grazie alla sua praticità, facilità d'impiego e conservazione, costo contenuto, comodità in caso di viaggi o spostamenti, velocità di somministrazione e possibilità di utilizzare alimenti già formulati secondo le esigenze nutrizionali del proprio cane, tenendo conto di taglia, età, condizione nutrizionale, stile di vita e stato di salute (Remillard, 2008).

L'**alimento semi-umido**, poco utilizzato nel nostro Paese, è generalmente venduto, come mangime complementare, sotto forma di snack. Il tasso di umidità varia dal 14% al 60% (FEDIAF, 2011). I tenori analitici dei principali componenti comprendono: proteine 20-28% SS; grassi 8-14% SS; carboidrati 58-72% SS (Case et al., 2000). Avendo un tasso di umidità maggiore rispetto agli alimenti secchi, l'appetibilità aumenta, ma con essa cresce anche il rischio di proliferazioni batteriche. Per prolungare la conservabilità di questi prodotti vengono aggiunti umettanti (sostanze che si legano all'acqua non rendendola quindi più disponibile ai microrganismi) oppure conservanti (Wortinger, 2007).

L'**alimento umido** si trova in commercio principalmente come alimento completo, confezionato in busta o lattina, anche se esistono pure prodotti complementari. La percentuale di umidità di questi cibi deve essere per legge superiore al 60% (FEDIAF, 2011). Visto il grande contenuto di acqua, la quantità da somministrare a cane e gatto aumenta rispetto all'alimento secco, rendendolo un prodotto costoso e per lo più usato per aumentare l'appetibilità delle crocchette. Per questo, l'utilizzo degli alimenti umidi è maggiore per i cani di piccola taglia o per i gatti (Assalco – Zoomark, 2015). In riferimento alla sostanza secca, hanno un tenore proteico che varia dal 28% al 50% SS, il contenuto di grassi varia dal 20% al 32% SS e quello di carboidrati dal 18% al 57% SS (Case et al., 2000).

Alternative al Petfood: la Dieta Casalinga

La crescente attenzione verso il benessere animale ha portato molti proprietari a cercare alternative al petfood commerciale. Secondo il questionario dell'APPA (American Pet Products Association) del 2011-2012, il 21% dei cani e il 15% dei gatti viene alimentato con alimenti ad uso umano o dieta casalinga (Parr and Remillard, 2014). Alla base di questa scelta c'è la convinzione da parte del proprietario che la crocchetta e/o l'alimento in lattina non siano sani per il proprio cane/gatto e anzi, possano rappresentare a lungo andare una fonte di pericolo per

il proprio pet, favorendo l'insorgenza di malattie (Stockman et al., 2013). Questa convinzione nasce generalmente dalla consultazione di siti internet, non sempre appropriati, sull'alimentazione del cane e del gatto o, più semplicemente, dal pensiero personale che la salute del proprio animale parta da un'alimentazione simile a quella umana (Remillard, 2008). Gli ingredienti nel petfood generalmente indicati come fonte di pericolo per la salute di cane e gatto sono gli additivi, ma anche le farine di carne o più in generale le materie prime di dubbia qualità e provenienza (Michel, 2006; Schenck, 2010).

Con il termine "**dieta casalinga**" si intende un'alimentazione completa e bilanciata composta da ingredienti ad uso umano rappresentati da fonti proteiche (carne, pesce, uova, formaggi), fonti di grassi (olio, grassi animali), fonti di carboidrati (pasta, riso, patate, verdure) miscelate in proporzioni tali da soddisfare i fabbisogni energetici, proteici e di grassi dell'animale. Per rendere la dieta completa, a questo composto è necessario integrare un prodotto vitaminico-minerale commerciale (Parr and Remillard, 2014; Moss [online]).

Secondo quanto affermato dagli articoli di Remillard (2008) e Schenck (2010), esistono diversi motivi che spingono i proprietari a preferire la dieta casalinga rispetto all'alimento commerciale. I principali sono: i problemi di salute causati da additivi, conservanti e contaminanti; l'incapacità di comprendere l'etichetta sugli alimenti commerciali e conseguente sfiducia negli stessi; la mancanza di un prodotto commerciale adeguato per la condizione clinica del proprio animale; il desiderio di cucinare per il proprio animale per fornirgli una dieta varia (Remillard, 2008; Schenck, 2010).

Il principale beneficio nell'utilizzare una dieta casalinga è quindi il diretto coinvolgimento dei proprietari nel benessere del proprio animale. Benché le diete casalinghe siano più costose e richiedano più tempo di preparazione rispetto all'alimento commerciale, e anche se diventano molto impegnative nel momento in cui l'animale si trova in viaggio o ospedalizzato, molti proprietari ritengono che questi inconvenienti siano minimi rispetto alla conoscenza, confidenza e senso del

controllo che possono avere solo se preparano loro stessi il pasto al proprio pet (Remillard, 2008).

Per formulare una dieta bilanciata, gli ingredienti devono essere selezionati sulla base del contenuto di nutrienti, della loro tolleranza, disponibilità e costo. Questo procedimento richiede software, competenze specifiche, conoscenze nutrizionali e l'accesso alle banche dati degli ingredienti disponibili (Remillard, 2008). I sostenitori delle diete casalinghe spesso ignorano le potenziali conseguenze negative che esse possono provocare, soprattutto a causa dello sbilanciamento nutrizionale (Weeth, 2013). La pubblicazione di Stockman et al. (2013) ha riscontrato una forte mancanza di bilanciamento delle diete casalinghe, soprattutto se queste sono proposte da persone che non sono Medici Veterinari. Il 92% delle diete analizzate da questo studio aveva istruzioni vaghe o incomplete sulla preparazione della dieta e l'83,5% aveva deficienze multiple. I nutrienti più frequentemente carenti erano zinco, colina, ferro, iodio, combinazione di EPA e DHA, calcio, vitamine essenziali (Remillard, 2008; Stockman et al., 2013). Per sopperire a queste mancanze, spesso ci si affida ai supplementi vitaminici veterinari da banco, che però non sono sufficienti ad equilibrare la maggior parte delle diete (Remillard, 2008). Altre volte i proprietari utilizzano invece i supplementi vitaminici ad uso umano, che possono però contenere ingredienti potenzialmente pericolosi per cani e gatti, come ad esempio lo xilitolo (Weeth, 2013).

Anche se le diete fossero formulate da un Medico Veterinario specializzato in nutrizione, il proprietario dell'animale potrebbe non seguire alla lettera le istruzioni fornite o potrebbe nel tempo apportare modifiche, portando quindi a malnutrizione il proprio cane/gatto (Remillard, 2008). La percezione che la dieta di cani e gatti debba contenere principalmente carne porta, infatti, ad un eccesso di proteine nella dieta e sbilanciamento del calcio. Vengono spesso usati carne, grano e fonti vegetali che contengono più fosforo che calcio, portando ad un rapporto inverso di calcio e fosforo fino a 1:10, contro un fisiologico 1:1. Spesso viene quindi

consigliato di aggiungere ossa alla dieta, ma questo non risolve il rapporto inverso Ca:P che si viene a creare (Remillard, 2008).

Anche dallo studio condotto da Streiff et al. (2002) a Vienna risulta che la concentrazione di proteine presenti nelle diete casalinghe analizzate è molto superiore a quella raccomandata dalla AAFCO (American Association of Feed Control Officials). Oltre al livello proteico, sono stati riscontrati eccessi di energia, grasso, sodio, e carenze di calcio, fosforo, vitamine A ed E, potassio, ferro e zinco. Anche il rapporto Ca:P è risultato inferiore rispetto ai valori AAFCO (Streiff et al., 2002).

La pubblicazione di Buckley et al. (2011) ha invece evidenziato un'ulteriore problematica riguardante l'utilizzo di diete casalinghe: essendo composte da alimento umido e morbido, sia nei cani che nei gatti alimentati con queste diete si riscontrano maggiori problemi legati alla salute orale. La probabilità di sviluppo di patologie orali è, infatti, significativamente più alta nei cani e nei gatti alimentati con dieta casalinga (rispettivamente 41% e 56%) rispetto ai cani e gatti che assumo dieta commerciale secca (rispettivamente 22% e 24%) (Buckley et al., 2011).

L'alimentazione casalinga è generalmente cotta ma negli ultimi 10 anni si sono evidenziate delle mode alimentari alternative al petfood basate sull'uso di carni crude. A questo proposito va citata la **dieta BARF** (Bone And Raw Food). Questo stile alimentare per il cane è stato proposto per la prima volta dal Dr. Billinghurst nel 1993 (Joffe and Schlesinger, 2002). I principi di questa dieta si basano sul consumo di carni crude e ossa animali, a cui si associano ingredienti naturali vari tra cui verdura, frutta fresca, frutta secca ecc. a fronte della completa esclusione dei carboidrati. A supporto di questa scelta alimentare sono riportate le caratteristiche delle diete dei predecessori selvatici, lupo e gatto selvatico (Michel, 2006; Handl, 2014).

Le fonti di informazione per la BARF sono principalmente siti internet e libri.

Questi articoli sono spesso scritti in uno stile scientifico, ma contengono informazioni fuorvianti ed inesatte (Handl, 2014). Soffermendosi sui siti web dedicati alla dieta BARF (www.barf.it; www.barfworld.com), si evince che i suoi sostenitori (i cosiddetti barfisti) attribuiscono alla stessa numerosi benefici per la salute dell'animale, come ad esempio l'aumento delle difese immunitarie e dell'energia, un miglioramento delle condizioni di pelle e pelo, la diminuzione di malattie allergiche e metaboliche, la riduzione degli odori orali e fecali (Weese et al., 2005). Ad oggi non esistono studi pubblicati su riviste scientifiche a supporto di queste teorie, per tanto queste affermazioni devono essere considerate inappropriate (Wortinger, 2007; Freeman and Heinze, 2012; Handl, 2014).

Recentemente alcune pubblicazioni hanno riportato dati piuttosto interessanti riguardanti i rischi legati all'assunzione di diete BARF. Tra questi sono emersi la carenza e/o eccesso di alcuni nutrienti che a lungo andare potrebbero causare delle ripercussioni sulla salute dell'animale (Freeman and Heinze, 2012). I tenori di vitamine e minerali sono stati valutati da uno studio condotto presso l'Università di Monaco che ha riscontrato nel 60% delle diete crude analizzate uno o più dei seguenti squilibri: rapporto Ca:P inferiore a 0,6:1, carenze di vitamina D, vitamina A, rame, zinco, iodio (Dillitzer et al., 2011). Altri rischi per la salute conseguenti all'uso di una dieta a base di carni crude e ossa sono lo sviluppo di gastroenteriti, che possono derivare o da contaminazioni batteriche o dall'elevato livello di grasso presente nella dieta, e la frattura di denti o la perforazione del tratto gastrointestinale da parte di un frammento osseo (Michel, 2006; Freeman and Heinze, 2012; Handl, 2014). Un ulteriore effetto negativo sulla salute dato dall'assunzione di una dieta cruda è stato evidenziato da uno studio effettuato fra il 2006 e il 2011 da Köhler et al.. I cani sottoposti allo studio hanno sviluppato ipertiroidismo a causa dell'assunzione di dieta BARF (Köhler et al., 2012).

La contaminazione batterica rappresenta un rischio sia per l'animale che assume carne non cotta e quindi potenzialmente contaminata da virus, batteri e parassiti, sia per il proprietario che entra a contatto in modo diretto o indiretto con il cibo

(durante la preparazione della dieta) e con le feci dell'animale (Joffe and Schlesinger, 2002; Handl, 2014). I possibili batteri patogeni che troviamo nella carne cruda sono *E. Coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria* e *Clostridium*, oltre ad endoparassiti come *Echinococcus* spp., che possono portare a malattia i cani/gatti che li assumono (LeJeune and Hancock, 2001; Handl, 2014). Uno studio effettuato da Joffe e Schlesinger (2002) ha riportato l'isolamento di *Salmonella* spp. nell'80% delle diete crude casalinghe analizzate, e la sua presenza nel 30% dei campioni di feci di questi cani. Da non sottovalutare anche il rischio per la salute umana: oltre alla possibile infezione con i batteri sopracitati, che può diventare particolarmente grave se contratta da bambini, anziani, donne in gravidanza o persone immunodepresse, in base all'origine della carne questa potrebbe trasportare malattie zoonotiche come tubercolosi e tularemia (LeJeune and Hancock, 2001; Freeman and Heinze, 2012; Handl, 2014).

Attualmente in commercio, sia in Italia che in altri Paesi, è possibile reperire diete BARF confezionate per cani e gatti (Figura 1.5). Su alcuni di questi prodotti commerciali sono stati effettuati diversi studi. Weese et al. (2005) hanno riscontrato alti livelli di cariche batteriche patogene: batteri coliformi erano presenti in tutti gli alimenti analizzati, *Escherichia Coli* è stato isolato nel 64% delle diete, *Salmonella* spp. e *Clostridium perfringens* nel 20%, *Staphylococcus aureus* nel 4%. Un altro studio, effettuato da Strohmeyer et al. (2006), ha invece evidenziato la presenza di *Salmonella* nel 6% delle diete e di *Escherichia Coli* nel 53% di queste. La presenza di *Listeria monocytogenes* è stata invece riscontrata da Nemser et al. (2014), che ha confermato la positività a questo batterio nel 16% delle diete crude analizzate.

Ad oggi non vi è alcuna prova che l'alimentazione a base di carne cruda abbia un vantaggio nutrizionale rispetto ad una alimentazione con carne cotta, e visto il potenziale rischio sanitario, la FDA (Food and Drug Administration) non sostiene le diete contenenti carne cruda, pollame, o frutti di mare per gli animali domestici (Remillard, 2008).

Figura 1.5
Diete BARF commerciali per cani e gatti



1.1.2 RISCHI LEGATI AL PETFOOD

I rischi legati ai mangimi per cani e gatti sono molti e possono essere di natura biologica, microbiologica, chimica e fisica. La contaminazione può avvenire durante la produzione, la raccolta, la manipolazione, la trasformazione, lo stoccaggio, la distribuzione o la preparazione per il consumo dell'alimento. I batteri contaminanti possono trovarsi nel suolo, nell'acqua, nell'aria, nelle acque reflue o impianti per la lavorazione, in ingredienti e materiali di imballaggio. I prodotti finiti contaminati possono anche essere una fonte di contaminazione per altri prodotti (Strombeck, 2010).

Le probabilità di contaminazione sono più alte per le diete crude in quanto i processi ad alta temperatura a cui vengono sottoposti i mangimi cotti portano a ridurre le cariche microbiche. Ridurre ma non eliminare completamente: la sterilità che gli alimenti commerciali secchi acquisiscono con il trattamento termico, infatti, viene meno durante le ultime fasi del processo produttivo, quando vengono rivestiti di proteine e grasso, e durante il confezionamento (Strombeck, 2010). Lo stoccaggio rappresenta una fase altrettanto importante per garantire la salubrità del petfood. Due diversi studi hanno riscontrato la presenza di acari sulle confezioni di alimento secco per cani stoccato in condizioni di media temperatura ed alta umidità. Il primo è stato effettuato da Brazis et al. nel 2008, con una positività del 90%, mentre il secondo, svolto da Hibberson e Vogelnest nel 2014, ha trovato la presenza di acari sul 78% dei campioni analizzati.

È molto importante ridurre al minimo la carica microbica degli alimenti, sia per la salute degli animali che li assumono, sia per quella dell'uomo (principalmente bambini, anziani, donne in gravidanza e persone immunodepresse) (Remillard, 2008; Handl, 2014). Gli agenti patogeni e potenzialmente zoonotici presenti nell'alimento potrebbero trasferirsi all'uomo durante la manipolazione del cibo (soprattutto se crudo), delle ciotole e delle feci (FDA, Food Drug Administration,

2010; CDC, Centers for Disease Control and Prevention, 2013). È quindi essenziale, in particolar modo in caso di utilizzo di dieta BARF, la disinfezione quotidiana delle ciotole, la corretta gestione delle feci, l'igiene personale (soprattutto delle mani) a seguito di contatto con gli animali, con il cibo crudo o con le feci. Dal momento che molti potenziali patogeni possono proliferare nella carne cruda a temperatura ambiente, il cibo non consumato deve essere eliminato (Weese et al., 2005; FDA, Food Drug Administration, 2010; CDC, Centers for Disease Control and Prevention, 2013).

1.2 ***SHELF-LIFE***

La *shelf-life*, o vita commerciale di un prodotto alimentare, è il periodo di tempo in cui tale prodotto, tenuto in determinate condizioni di conservazione, mantiene ottimali le sue caratteristiche qualitative. La vita commerciale dell'alimento inizia nel momento in cui viene prodotto e la sua durata è influenzata da molti fattori quali gli ingredienti utilizzati, il processo di produzione, il tipo di confezionamento e le condizioni di conservazione (New Zealand Food Safety Authority, 2005; Piergiovanni e Limbo, 2010).

È responsabilità dell'azienda produttrice determinare la vita commerciale di ciascun alimento prodotto per veicolare tale importante informazione in etichetta, a garanzia della salute del consumatore (EUFIC, European Food Information Council, 2013). Secondo le indicazioni della Direttiva Europea 2000/13/EC sull'etichettatura, sulla presentazione e sulla pubblicità degli alimenti, sostituita dal Regolamento Europeo 1169/2011 sull'informazione alimentare per i consumatori, entrata in vigore nel dicembre 2014, ogni alimento deve avere la dicitura "da consumarsi entro" (data di scadenza) se si tratta di prodotti che deperiscono velocemente dal punto di vista microbiologico, rappresentando quindi un pericolo per la salute del consumatore se consumati oltre questa data. In alternativa si potrà trovare la dicitura "da consumarsi preferibilmente entro" (termine minimo di conservazione) nel caso di prodotti duraturi che tuttavia, se conservati nel modo adeguato, rimangono commestibili ed idonei al consumo anche dopo la data indicata, nonostante le caratteristiche organolettiche vadano incontro ad un lento deterioramento (Direttiva Europea 2000/13/EC; Regolamento Europeo 1169/2011; EUFIC, European Food Information Council, 2013).

1.2.1 FATTORI CHE INFLUENZANO LA *SHELF-LIFE* DEI PRODOTTI

A determinare il decadimento qualitativo degli alimenti concorrono diversi fattori, raggruppabili essenzialmente in tre categorie: fattori biologici (microrganismi, macrorganismi), fattori chimici (enzimi, contaminanti) e fattori fisici (temperatura, luce, ossigeno, umidità). La *shelf-life* viene sempre espressa in funzione delle circostanze di conservazione, ossia temperatura, umidità e luce (Torri et al., 2012). La conoscenza dei fattori più importanti che influiscono sulla *shelf-life* ci permette la loro manipolazione per estendere la durabilità dei prodotti alimentari (Ministry for Primary Industries, New Zealand, 2012).

- **Fattori biologici:** la crescita di alcuni batteri, lieviti e muffe negli alimenti può portare a deterioramento degli alimenti o ad intossicazione alimentare. Il tempo necessario per i microrganismi di alterare gli alimenti dipende dalla loro concentrazione al momento della produzione, da ogni ulteriore contaminazione che l'alimento può subire durante i successivi passaggi (manipolazione, imballaggio e immagazzinamento), nonché dalle caratteristiche dell'alimento contaminato (pH, composizione chimica, attività dell'acqua) (Kilcast and Subramaniam, 2000; Ministry for Primary Industries, New Zealand, 2012). La temperatura e il tempo di stoccaggio, così come la quantità di acqua nell'alimento, sono fattori che influenzano fortemente la crescita batterica: gli alimenti umidi di solito si deteriorano più velocemente degli alimenti secchi. Per determinare la *shelf-life* di un prodotto, solitamente ci si basa sul numero di microrganismi presenti. In altri casi, invece, il periodo di conservazione può essere determinato dal deterioramento sensoriale o biochimico (Kilcast and Subramaniam, 2000; Piergiovanni e Limbo, 2010).

- **Fattori chimico-fisici.** Non è solo la crescita microbica a causare una perdita di qualità dell'alimento, ma ci sono fattori la cui alterazione, pur non comportando una nocività del prodotto, lo rendono non più adatto a soddisfare determinati standard per il consumatore (Kilcast and Subramaniam, 2000; Ministry for Primary Industries, New Zealand, 2012). Tra questi fattori sono da ricordare:

- **Umidità:** un suo aumento o diminuzione può causare la perdita di sostanze nutritive, imbrunimento e irrancidimento del prodotto. Gli alimenti secchi possono diventare vulnerabili a deterioramento microbico se acquistano umidità (New Zealand Food Safety Authority, 2005)
- **Modificazioni chimiche:** possono portare a modificazione del gusto, cambiamenti di colore, imbrunimento e perdita di sostanze nutritive (Kilcast and Subramaniam, 2000; New Zealand Food Safety Authority, 2005)
- **Luce:** il cambiamento indotto da questo parametro può causare irrancidimento, perdita di vitamine e sbiadimento dei colori naturali (New Zealand Food Safety Authority, 2005; Piergiovanni e Limbo, 2010)
- **Temperatura:** la sua alterazione può aumentare o diminuire la velocità di altre forme di deterioramento (Piergiovanni e Limbo, 2010)
- **Danni al packaging alimentare:** possono rendere il cibo vulnerabile sia dal punto di vista microbico che non microbico. Ad esempio, fori in lattine o rottura di sacchetti di plastica consentono una modificazione dell'umidità e permettono ai microrganismi di moltiplicare nel prodotto alimentare (New Zealand Food Safety Authority, 2005).

1.2.2 METODI DI STUDIO DELLA *SHELF-LIFE*

Lo studio della *shelf-life* si articola in cinque fasi fondamentali (Torri et al., 2012).

Innanzitutto devono essere individuati gli attributi di qualità più importanti (ad esempio diminuzione del contenuto di vitamine, modificazioni del profilo aromatico, aumento della carica microbica, reazioni di ossidazione). Si deve quindi elaborare una procedura di controllo attendibile e ripetibile nel tempo; studiare un protocollo di azione semplice ed efficace; valutare il rapporto costo/beneficio; infine verificare la dipendenza delle reazioni di degradazione dal confezionamento (Torri et al., 2012).

Si parte quindi dalla scelta dell'attributo di qualità da controllare, che può ad esempio essere l'attributo che si deteriora più rapidamente o uno dettato dalla legge. Scelto l'attributo, si deve stabilire in che modo possiamo monitorarlo nel tempo (analisi strumentali, analisi sensoriali) (Piergiovanni e Limbo, 2010; Torri et al., 2012).

A questo punto si sceglie il protocollo di azione fra i quattro seguenti:

- **Approccio simulativo:** si basa sulla simulazione della *shelf-life* del prodotto reale. È l'approccio più diffusamente adottato. Consiste nel prendere il prodotto, conservarlo nelle condizioni di stoccaggio reali e monitorare nel tempo come cambia l'attributo di qualità che abbiamo prescelto. È un approccio semplice e sicuro che ci dice esattamente qual è la *shelf-life* del prodotto. Richiedendo però molto tempo è impensabile, ad esempio, fare la prova di simulazione su un prodotto con una *shelf-life* di 5 anni (Kilcast and Subramaniam, 2000; Torri et al., 2012).
- **Approccio previsionale:** si basa su modelli di previsione della *shelf-life*. È un approccio teorico basato su stime derivanti da calcoli matematici. Si studiano le caratteristiche di qualità e gli eventi primari secondo le

peculiarità del prodotto, del processo produttivo, dell'imballaggio e del ciclo distributivo, riferendosi alle conoscenze reperibili in letteratura (New Zealand Food Safety Authority, 2005; Piergiovanni e Limbo, 2010). Viene spesso scelto perché, anche se piuttosto complesso, è molto poco oneroso e abbastanza rapido. Da ricordare però che i risultati che si ottengono sono approssimativi (Torri et al., 2012).

- **Test di invecchiamento accelerato:** si effettua nel caso di prodotti con una *shelf-life* molto lunga. Questo metodo consiste nel monitorare lo scadimento qualitativo del prodotto finito in condizioni di abuso dei fattori di conservazione (temperatura, umidità) per favorire un invecchiamento più rapido. Deve poi essere individuato un fattore di accelerazione, che consente di trasformare il dato di *shelf-life* ottenuto con il test accelerato in dato di *shelf-life* che si avrebbe nelle reali condizioni di conservazione (Nicoli, 2008; Torri et al., 2012). Bisogna però tenere presente che a volte, stressando le condizioni di stoccaggio, si possono innescare reazioni secondarie di degradazione che potrebbero mascherare l'evento primario da monitorare (Torri et al., 2012).
- **Integratori tempo-temperatura:** fanno parte della famiglia degli "imballaggi intelligenti". Si presentano come etichette adesive alle confezioni dell'alimento, e consentono di evidenziare, generalmente attraverso una reazione cromatica, la perdita di freschezza del prodotto, rispondendo alle diverse condizioni di temperatura a cui è stato sottoposto l'alimento nel tempo (Piergiovanni e Limbo, 2010). In questo caso bisogna avere l'accortezza di scegliere l'integratore tempo-temperatura con la stessa cinetica dell'evento di degradazione che interessa l'attributo di qualità scelto (Torri et al., 2012).

1.2.3 METODI PER PROLUNGARE LA *SHELF-LIFE*

I metodi classici di prolungamento della *shelf-life* sono l'innalzamento o l'abbassamento della temperatura (cottura, refrigerazione, congelamento), l'aggiunta di conservanti naturali (sale, zucchero, aceto, olio) o conservanti chimici (additivi), l'affumicamento, la modifica di atmosfera o di gas che circondano il prodotto (sottovuoto, conservazione in atmosfera controllata, confezionamento in atmosfera modificata) (Cappelli e Vannucchi, 2005).

Negli ultimi anni si è cercato di andare verso delle tecnologie mild (delicate) che prolungano la *shelf-life* e consentono di ottenere alimenti sicuri dal punto di vista microbiologico, minimizzando i danni provocati dai trattamenti convenzionali. Fra le nuove tecnologie utilizzate per gli alimenti ricordiamo le alte temperature idrostatiche, la filtrazione su membrana, i campi elettrici pulsati, le radiofrequenze, le microonde, il riscaldamento ohmico, il plasma freddo e l'acqua elettrolizzata (Torri et al., 2012).

2

OBIETTIVI

La mancanza di comprensione delle etichette presenti sui petfood e la convinzione che l'alimento commerciale non sia totalmente sano e sicuro per i propri cani e gatti (presenza di ingredienti di scarsa qualità, additivi, appetizzanti di dubbia natura) porta molti proprietari a cercare un'alternativa alimentare per i propri animali, e la dieta casalinga rappresenta la scelta principale.

Questa tesi ha avuto un duplice obiettivo.

Il primo è stato quello di valutare l'atteggiamento dei proprietari di cani e gatti verso la dieta casalinga e l'impatto che avrebbe la messa in commercio di un tale alimento per cani sugli stessi proprietari.

Il secondo è stato quello di realizzare una dieta casalinga bilanciata per cani adulti in mantenimento utilizzando ingredienti ad uso alimentare umano di origine animale e vegetale, privi di additivi. La *shelf-life* dell'alimento è stata poi determinata per stabilire delle raccomandazioni sul suo uso e modalità di conservazione.

3

MATERIALI E METODI

3.1 INDAGINE ALIMENTARE E ATTEGGIAMENTO DEI PROPRIETARI VERSO LA DIETA CASALINGA

Allo scopo di valutare le abitudini alimentari e gestionali di cani e gatti di proprietà e allo stesso tempo l'atteggiamento dei proprietari verso la dieta casalinga, è stato creato e distribuito un questionario. Il questionario (Allegati 1 e 2) è stato creato online utilizzando la piattaforma Google Drive®, sia in lingua italiana che inglese, e distribuito attraverso *social network* ed email.

Nella prima parte del questionario, ai proprietari di cani e gatti sono state richieste informazioni base sul segnalamento del proprio animale domestico, per poter fare una prima categorizzazione (es. specie, sesso, età, condizione corporea, tipo di dieta somministrata). Successivamente, in base alle risposte fornite riguardo all'alimentazione attualmente utilizzata (commerciale o casalinga), le domande si concentravano sulle abitudini nutrizionali (es. tipo di alimento, chi l'aveva consigliato, criterio di selezione, comprensione dell'etichetta degli alimenti commerciali). Nella parte finale sono state infine rivolte delle domande specifiche sull'alimentazione casalinga (es. motivi per utilizzarla o non utilizzarla, ingredienti che compongono la dieta casalinga di chi la somministra abitualmente al proprio animale, principali difficoltà).

3.2 PRODUZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO

3.2.1 FORMULAZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO

Sono state formulate tre diverse diete casalinghe bilanciate per cani adulti in mantenimento. Gli ingredienti utilizzati sono stati: carne (manzo o pollo o tacchino), riso, carote e zucchine, olio di semi di girasole e sego bovino.

In una prima fase tutti gli ingredienti impiegati nelle diete sono stati inviati al Laboratorio Chimico NIRS – XRF del Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, per effettuare l'analisi tipo (sostanza secca - SS, proteina grezza - PG, estratto etereo - EE, fibra grezza - FG e ceneri).

Il contenuto di SS è stato determinato mediante essiccazione in forno a 105°C per 24 ore. Il tenore di PG è stato determinato secondo il metodo Kjeldahl (CEE/152/2009 - Allegato III Metodo C) e calcolato utilizzando un fattore di conversione di azoto di 6,25. L'analisi dell'EE è stata effettuata secondo il metodo H, procedura B riportato nell'allegato III della CEE/152/2009, per estrazione Soxhlet con etere di petrolio, mentre la quantificazione della FG è stata ottenuta mediante il metodo Weende secondo lo stesso regolamento (CEE/152/2009, Allegato III Metodo I). I campioni sgrassati sono stati trattati con soluzioni bollenti di acido solforico e di idrossido di potassio e il residuo è stato separato attraverso filtrazione su vetro sinterizzato, quindi lavato, essiccato, pesato e trattato in muffola a 475-500 °C. La perdita di peso dopo la combustione è stata espressa come FG. Il contenuto di ceneri è stato misurato gravimetricamente dopo combustione in muffola a 550 °C fino ad ottenere ceneri bianche, grigio chiare o rossastre, e successivamente raffreddate a temperatura ambiente (CEE/152/2009

- Allegato III Metodo A). Gli estrattivi inazotati (EI) sono stati calcolati per differenza da 100, utilizzando la formula seguente:

$$EI = 100 - (\% PG + \% EE + \% FG + \% \text{umidità} + \% \text{ceneri})$$

Inoltre, per ciascun ingrediente, è stata stimata l'Energia Metabolizzabile (EM), espressa in kcal/100g, mediante la formula riportata da NRC (2006) per alimenti non processati o alimenti ad uso umano.

Sulla base dei risultati ottenuti, è stato possibile formulare, mediante foglio Microsoft Excel®, 3 diete (a base di manzo e riso, pollo e riso, tacchino e riso) in grado di fornire un apporto completo e bilanciato di energia e macronutrienti adatti a soddisfare i fabbisogni di un cane adulto in mantenimento. Le composizioni chimiche ed energetiche attese delle 3 diete sono riportate in Tabella 3.1.

Tabella 3.1

Composizione chimica e contenuto energetico attesi delle 3 diete sperimentali secondo i calcoli ottenuti su foglio Microsoft Excel®

	Manzo & Riso	Pollo & Riso	Tacchino & Riso
PG, % ss	26	25	24,5
EE, % ss	13	15	8,5
FG, % ss	5	4	4
EM, kcal/100 g	118	115	98

Infine, a produzione avvenuta, è stato prelevato un campione per ogni dieta (500g) per eseguire l'analisi tipo presso il laboratorio di cui sopra. Scopo dell'analisi è stato quello di valutare le differenze tra i risultati di laboratorio e quelli calcolati sul foglio Microsoft Excel®.

Al fine di garantire le stesse caratteristiche nutrizionali in una dieta è fondamentale utilizzare sempre gli stessi ingredienti nella medesima quantità e composizione chimica. Tuttavia, gli ingredienti ad uso umano presentano una notevole variabilità di composizione e la carne rappresenta di gran lunga l'ingrediente più variabile da questo punto di vista. Per questo motivo è stato deciso di utilizzare sempre gli stessi pezzi anatomici.

Per bilanciare le diete anche nei micronutrienti è necessario aggiungere un integratore vitaminico-minerale, che sarà confezionato separatamente e venduto assieme al prodotto. Al momento della somministrazione del pasto l'integratore sarà aggiunto alla razione dal proprietario. L'integratore è attualmente in fase di sperimentazione.

3.2.2 PRODUZIONE DELL'ALIMENTO: MISCELAZIONE, COTTURA E CONFEZIONAMENTO

La fase di produzione dell'alimento consiste in miscelazione degli ingredienti, cottura e confezionamento. Queste fasi sono strettamente connesse fra loro: la miscelazione degli ingredienti poteva avvenire prima o dopo la cottura, che è stata effettuata mediante uso di forno a vapore o in autoclave. Il confezionamento invece, sempre sottovuoto, è stato eseguito a freddo o a caldo, e la cottura degli ingredienti è stata effettuata prima o dopo il confezionamento.

Le apparecchiature utilizzate per la cottura e il confezionamento sono le seguenti:

- Forno a vapore: modello SelfCookingCenter® 5 Senses, ditta produttrice Rational Italia S.r.l., temperature di cottura regolabili da 30°C a 300°C, provvisto di optional *sous-vide* per la cottura sottovuoto.
- Macchina del sottovuoto: ditta produttrice Cometec, depressurizzazione 100%, saldatura mediante barre riscaldate, tempo di saldatura 5 secondi, sacchetti utilizzati in PVC termoretraibile.
- Autoclave: autoclave verticale, modello Stematic III, ditta produttrice PBI. Massima temperatura di lavoro 134°C, massima pressione raggiungibile 2,1 atm (Figura 3.1).

Figura 3.1
Autoclave utilizzata per la cottura dell'alimento



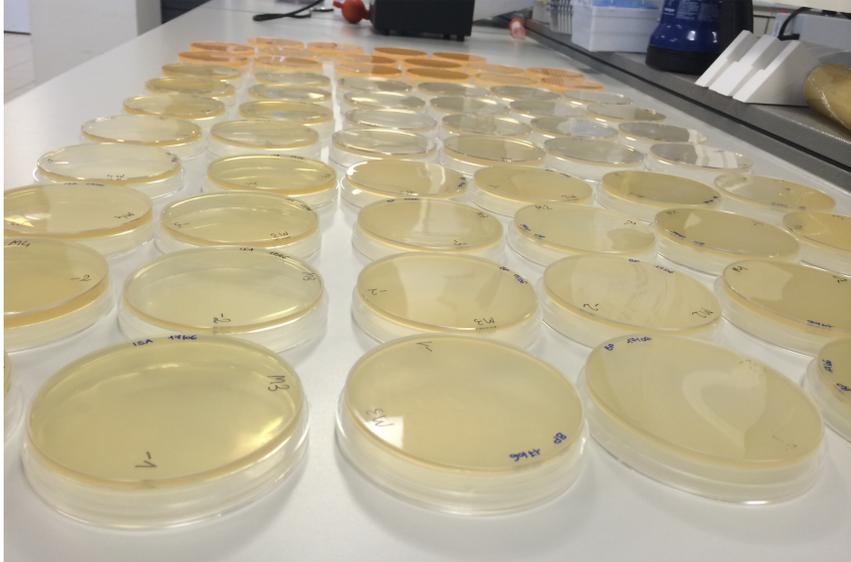
3.3 ANALISI MICROBIOLOGICHE E CHIMICHE

La dieta a base di manzo è stata scelta come prodotto pilota per verificare la procedura di produzione dal punto di vista microbiologico. La valutazione della stabilità microbiologica è stata condotta su 4 lotti differenti (prodotti a seguito di cotture indipendenti) e ciascun lotto è stato conservato a temperatura di refrigerazione (4°C) e in abuso termico a 10°C.

Per poter valutare l'efficacia dei trattamenti di cottura e confezionamento sulla carica batterica presente nell'alimento e per poterne determinare la *shelf-life*, sono state eseguite analisi microbiologiche e chimiche su ciascun lotto. Le analisi microbiologiche prevedevano la ricerca ed eventuale conta di: Carica Microbica Totale (semina su terreno PCA, *Plate Count Agar*), *Bacillus spp.* (su terreno MYP, *Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar*), *Clostridium spp.* (su terreno SPS, *Sulphite Polymyxin Sulphadiazine agar*), *Staphylococcus spp.* (su terreno BP, *Baird Parker agar*), Enterobatteriacee (su terreno VRBG, *crystal Violet, neutral Red, Bile Glucose agar*), muffe e lieviti (su terreno OGYE, *Oxytetracycline Glucose Yeast Extract*) (Figura 3.2). Le analisi chimiche prevedevano le misurazioni di pH, attività dell'acqua (A_w) e ossidazione lipidica (TBARS, *ThioBarbituric Acid Reactive Substances*).

Figura 3.2

Piastre Petri contenenti i diversi terreni utilizzati per le analisi



Essendo la *shelf-life* desiderata per il nostro prodotto di 25-30 giorni conservato a temperatura di 0-4°C, le analisi microbiologiche sono state programmate per 40 giorni dal giorno di produzione: giorni T0 (giorno della cottura), T11, T20, T32 e T40 per ciascun lotto e trattamento termico. In generale, uno studio di *shelf-life* va effettuato valutando la carica microbica e i parametri chimico-fisici oltre l'intervallo di conservabilità stabilito a priori dal produttore. A livello cautelativo, l'alimento dovrebbe essere indagato per un arco temporale superiore a quello proposto (es. il 50% del tempo in più dell'intervallo stabilito) al fine di attestare il reale termine di inaccettabilità del prodotto (sia microbiologica che qualitativa). Se i criteri microbiologici stabiliti vengono superati prima della *shelf-life* desiderata il produttore deve rivedere il proprio processo produttivo o proporre una riduzione della vita commerciale del prodotto.

3.3.1 MATERIALE NECESSARIO PER LE ANALISI MICROBIOLOGICHE E CHIMICHE

Prima di effettuare le analisi laboratoristiche sono stati preparati tutti i materiali e le soluzioni necessarie per i diversi test.

I materiali e apparecchiature necessari sono stati i seguenti:

- detergenti e alcol per sanificare le superfici
- carta assorbente
- bilancia tecnica
- H₂O deionizzata
- bottiglie in vetro da 500 mL e 1000 mL
- cucchiari e barchette per terreni
- microonde
- autoclave
- bagnetto termostatico
- cilindro graduato sterile
- cappa microbiologica o bunsen
- Giara e AnaeroGen/GasPack per anaerobiosi
- forbici e pinze sterili
- sacchetti sterili per Stomacher
- Stomacher
- provette sterili da 10 mL e porta provette
- pipette sterili da 1 mL, 10 mL e 25 mL
- aspirapipette
- micropipetta e puntali sterili
- piastre Petri sterili
- spatole ad L sterili monouso
- stufe a diversa temperatura per incubazione

- contacolonie
- pennarello vetrografico
- pHmetro
- soluzioni tampone a pH 4,0 e pH 7,0
- analizzatore per l'attività dell'acqua
- soluzioni per la taratura dell'analizzatore A_w
- pallone di Kjeldhal
- becher
- reagente TBA
- matraccio con tappo
- spettrofotometro

3.3.2 PREPARAZIONE MATERIALE

Materiale per le Analisi Microbiologiche

MRD (*Maximum Recovery Diluent*)

Diluyente isotonico per il recupero ottimale dei microrganismi: non favorisce la replicazione microbica e protegge i microrganismi presenti nel campione. Per la sua preparazione si usano 8,00 g di NaCl e 1,00 g di peptone universale, diluiti in 1000 mL di H₂O deionizzata. La soluzione così ottenuta viene sterilizzata in autoclave a 121°C per 15 minuti.

Terreni di coltura

Per la ricerca dei diversi tipi di microrganismo sono stati necessari numerosi terreni di coltura, che sono stati preparati in laboratorio. Tutte le procedure sono state svolte sotto cappa microbiologica.

- **MYP** (*Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar*): si pesano 21,50 g di terreno e si disciolgono con 450 mL di H₂O deionizzata. Si aggiungono 50 mL di *Egg Yolk* e il supplemento *Polimixina B*. Si porta ad ebollizione la soluzione in microonde e successivamente si pone in autoclave a 121°C per 15 minuti. Si raffredda il terreno in bagnetto termostatico a 48-50°C e quindi si distribuiscono circa 20 mL di terreno in ogni piastra Petri. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di *Bacillus cereus*.
- **SPS** (*Sulphite Polymyxin Sulphadiazine agar*): si pesano 19,75 g di terreno e si sospendono in 500 mL di H₂O deionizzata. Si porta ad ebollizione in microonde e quindi si pone in autoclave a 118°C per 15

minuti. Si raffredda il terreno in bagnetto termostatico e quindi si piastra. 24 ore prima dell'utilizzo delle piastre si mettono le stesse in anaerobiosi. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di *Clostridi* (solfitoriduttori e *C. perfringens*).

- **VRBG** (*crystal Violet, neutral Red, Bile Glucose agar*): si pesano 20,75 g di terreno e si sospendono in 500 mL di H₂O deionizzata. Si porta la soluzione ad ebollizione in microonde e si pone in bagnetto a 48-50°C, senza autoclavare. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di *Enterobatteri*.
- **PCA** (*Plate Count Agar*): si pesano 10,25 g di terreno e si disciolgono con 500 mL di acqua deionizzata. Si porta il terreno ad ebollizione in microonde, si pone in autoclave a 121°C per 15 minuti e quindi si fa raffreddare e solidificare a temperatura ambiente. Il terreno solidificato verrà disciolto al momento dell'utilizzo. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di *mesofili, psicrofili e anaerobi* (Carica Microbica Totale, CMT).
- **OGYE** (*Oxytetracycline Glucose Yeast Extract*): si pesano 20 g di terreno e si sospendono in 550 mL di H₂O deionizzata. Si porta quindi ad ebollizione in microonde e si pone in autoclave a 121°C per 15 minuti. Si pongono in autoclave, alla medesima temperatura, anche 10 mL di H₂O deionizzata. Si fanno raffreddare entrambe le soluzioni in bagnetto termostatico a 48-50°C. Utilizzando 5 mL di acqua deionizzata sterile, si risospendono 50 mg di *Ossitetraciclina*, che saranno poi aggiunti al terreno. Dopo la miscelazione delle due soluzioni, si procede con la preparazione delle piastre Petri. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di *muffe e lieviti*.
- **BP** (*Baird Parker agar*): si pesano 30,53 g di terreno e si disciolgono in 500 mL di H₂O deionizzata. Si porta la soluzione ad ebollizione in microonde, si pone in autoclave a 121°C per 15 minuti e quindi si fa raffreddare il terreno in bagnetto termostatico a 48-50°C. Si

preriscaldano in bagnetto termostatico 25 mL di *Egg Yolk tellurite*, precedentemente conservato a temperatura di refrigerazione a 4°C. Quando entrambe le soluzioni raggiungono la medesima temperatura, si aggiunge il supplemento *Egg Yolk tellurite* al terreno e quindi si distribuisce in piastre Petri. Questo terreno viene utilizzato per la ricerca di Stafilococchi coagulasi positivi.

Diluizione madre

Lavorando sempre in condizioni di sterilità, o sotto cappa microbiologica o vicino ad un bunsen, si apre con forbici sterili la confezione sottovuoto dell'alimento e si pongono in un sacchetto anch'esso sterile 20,0 g di prodotto. Al prodotto appena pesato si aggiungono 180 mL di MRD sterile. Si chiude ermeticamente il sacchetto e si omogenizza la miscela così ottenuta per 30 secondi utilizzando uno Stomacher. Si ottiene in questo modo la diluizione di partenza (o diluizione madre), che corrisponde a 10^{-1} .

Diluizioni seriali

Una diluizione seriale è un procedimento ripetuto per ottenere diluizioni progressive della soluzione originale. Come prima cosa, si preparano provette sterili contenenti 9,0 mL di MRD sterile, che erano state precedentemente siglate fino alla diluizione desiderata (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e così via). Si preleva con una pipetta 1,0 mL di diluizione madre, si aggiunge ai 9,0 mL di MRD già presenti in provetta e si mescola la soluzione così ottenuta. Con questo passaggio si ottiene una soluzione 10 volte più diluita rispetto alla precedente. Si ripete il procedimento, in modo appunto seriale, fino alla diluizione desiderata. Il numero delle diluizioni viene deciso in base alle caratteristiche

microbiologiche della matrice di partenza. Tutto il procedimento deve essere svolto in massima sterilità, sotto cappa microbiologica.

Tecniche di semina

In base ai microrganismi ricercati e in base al terreno utilizzato si eseguono tecniche di semina differenti: inclusione o spatolamento. Nella Figura 3.7 vengono descritte le tecniche di semina e il tempo/temperatura di isolamento per ogni singolo terreno.

- **inclusione:** lavorando in condizioni di sterilità, si preleva con una micropipetta 1,00 mL della diluizione desiderata e lo si pone in una piastra Petri vuota sterile. Si aggiungono quindi circa 20 mL di terreno, precedentemente portato in bagnetto termostatico a 48-50°C, temperatura che lo mantiene liquido. Dopo aver aggiunto il terreno, si agita la piastra Petri per distribuire la soluzione all'interno del terreno e lo si lascia solidificare a temperatura ambiente sotto cappa microbiologica. Si ottiene una crescita diffusa all'interno di tutto il terreno (Figura 3.3).
- **inclusione in doppio strato:** la tecnica è analoga a quella per inclusione: ad 1,00 mL di sospensione batterica si aggiunge il terreno liquido (12-15 mL), si agita e lo si lascia solidificare. Una volta solidificato però si aggiunge un secondo strato di terreno, più sottile (circa 8 mL). Questo metodo si utilizza principalmente per microrganismi anaerobi o anaerobi facoltativi.
- **spatolamento:** si utilizzano piastre Petri precedentemente riempite con terreno, lasciato solidificare a temperatura ambiente. Sempre in condizioni di sterilità, si prelevano 0,10 mL di diluizione con una micropipetta e si pongono all'interno della piastra, sulla superficie del terreno. Lo scopo è quello di disporre omogeneamente le cellule

batteriche. Si utilizza un'apposita spatola di plastica, sagomata a 90°, la quale consente di disporre la goccia di sospensione su tutta la superficie del terreno (Figura 3.4).

Figura 3.3
Tecnica di semina per inclusione

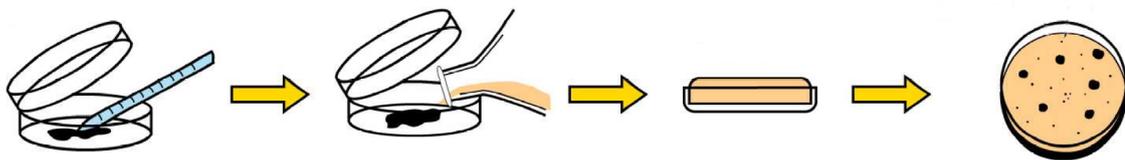
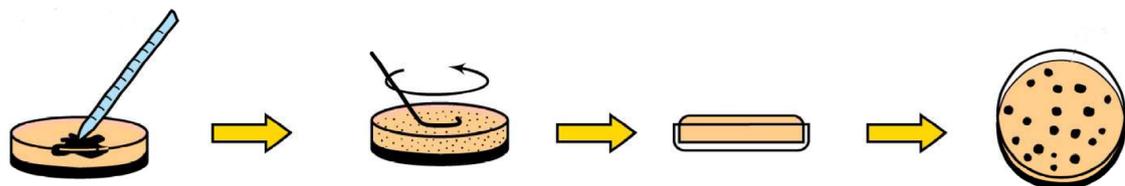


Figura 3.4
Tecnica di semina per spatolamento



Successivamente alla semina, si pongono i terreni in determinate condizioni di temperatura e per un tempo prestabilito di incubazione in modo da permettere l'ottimale crescita dei microrganismi (Tabella 3.2) (Byrne et al., 2006; US Department of Health and Human Services, 2011; Galli Volonterio, 2005; Jay et al., 2005; De Filip, 2001).

Trascorso questo tempo si può procedere alla conta microbica.

Tabella 3.2

Informazioni sui terreni utilizzati per le analisi microbiologiche

TERRENO	MICROORGANISMI RICERCATI	TECNICA di SEMINA	TEMPERATURA di INCUBAZIONE	TEMPO di INCUBAZIONE
PCA	Mesofili	Inclusione	30 °C	72 h
PCA	Mesofili anaerobi	Inclusione	30 °C	72 h in anaerobiosi
PCA	Psicrofili	Inclusione	15 °C	5-7 d
VRBG	Enterobatteriacee	Inclusione in doppio strato	37 °C	24 h
BP	Stafilococchi coagulasi positivi	Spatolamento	37 °C	24-48 h
SPS	Clostridium	Spatolamento	37 °C	24-48 h in anaerobiosi
MYP	Bacillus cereus	Spatolamento	32 °C	24-48 h
OGYE	Muffe e Lieviti	Spatolamento	25 °C	3-5 d

Conta microbica

Dopo aver seminato e incubato il campione, si procede con la conta microbica. Per questa operazione si possono utilizzare o un semplice pennarello vetrografico, o, se le colonie in questione sono poco visibili, un contacolonie che permette di avere una migliore illuminazione della piastra Petri da analizzare.

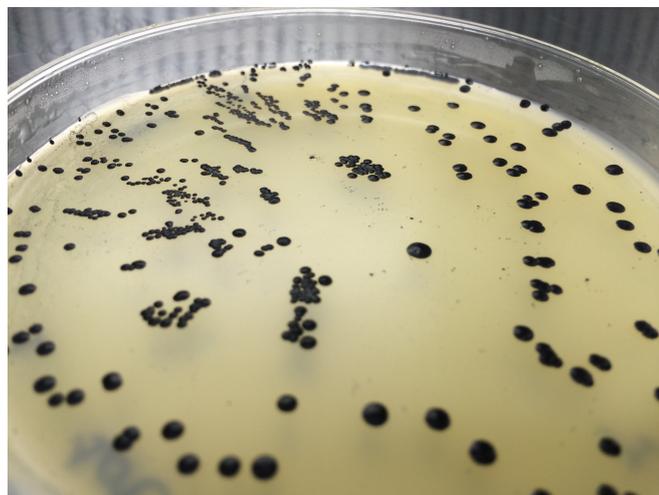
Ogni terreno e ogni microorganismo presenta una morfologia differente delle colonie che vi crescono:

- PCA – mesofili, anaerobi, psicrofili: colonie con morfologia rotonda, margini definiti, colore chiaro
- VRBG – Enterobattiacee: colonie rotonde con colore violaceo

- BP – Stafilococchi coagulasi positivi: colonie di colore nero, brillanti, convesse e circondate da aloni trasparenti di proteolisi (Figura 3.5)
- SPS – *Clostridium spp.*: colonie di colore nero
- MYP – *Bacillus spp.*: le colonie di *B. cereus* si presentano rosa con un distinto alone opaco dello stesso colore delle colonie (mannitolo negativo, lecitinasi positivo). Data la scarsa produzione di lecitinasi da parte di alcuni ceppi di *B. cereus*, queste potrebbero presentarsi anche prive di alone.
- OGYE – muffe e lieviti: riguardo muffe e lieviti è presente una grande variabilità di forme e dimensioni

Figura 3.5

Colonie di Stafilococchi coagulasi positivi su terreno Baird Parker



Successivamente, per valutare il grado di contaminazione del campione, si calcolano le UFC/g (unità formanti colonia/grammo), utilizzando la seguente formula:

$$N = \frac{\Sigma C}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

Dove:

- ΣC = somma delle colonie contate in due piastre consecutive
- V = volume dell'inoculo seminato
- n_1 = numero delle piastre considerate, per la prima diluizione
- n_2 = numero delle piastre considerate, per la seconda diluizione
- d = fattore di diluizione della prima diluizione

Materiali per le Analisi Chimiche

Determinazione pH

Il pH è una scala di misura (da 0 a 14) dell'acidità o basicità di un prodotto. Esso è definito come:

$$pH = -\log_{10}[H^+]$$

ovvero

$$pH = \log_{10} \frac{1}{[H^+]}$$

Dove:

- $[H^+]$ = concentrazione degli ioni idrogeno

Conoscere l'acidità dell'alimento è importante perché la concentrazione degli idrogenioni varia a seconda dell'attività enzimatica e alla crescita microbica durante la conservazione e il deterioramento del prodotto (Jay et al, 2005).

Se il pHmetro utilizzato non è moderno, è importante ricordare che la misurazione del pH deve essere effettuata ad una temperatura compresa fra 20 e 25 °C, ed è perciò importante accertarsi che il prodotto (conservato in refrigerazione a 4°C) raggiunga la temperatura indicata in ogni sua parte (Galli Volonterio, 2005). I pHmetri prodotti negli ultimi anni, invece, si tarano in funzione della temperatura del prodotto da analizzare, garantendo una misurazione più appropriata. Si procede quindi con la taratura dell'elettrodo del pHmetro (Figura 3.6), utilizzando le soluzioni tampone a pH 4 e pH 7. Una volta tarato lo strumento, si inserisce l'elettrodo nel campione e si attende la misurazione di temperatura e pH, che saranno indicati a display.

Figura 3.6
pHmetro per la determinazione del pH del prodotto



Determinazione attività dell'acqua (A_w)

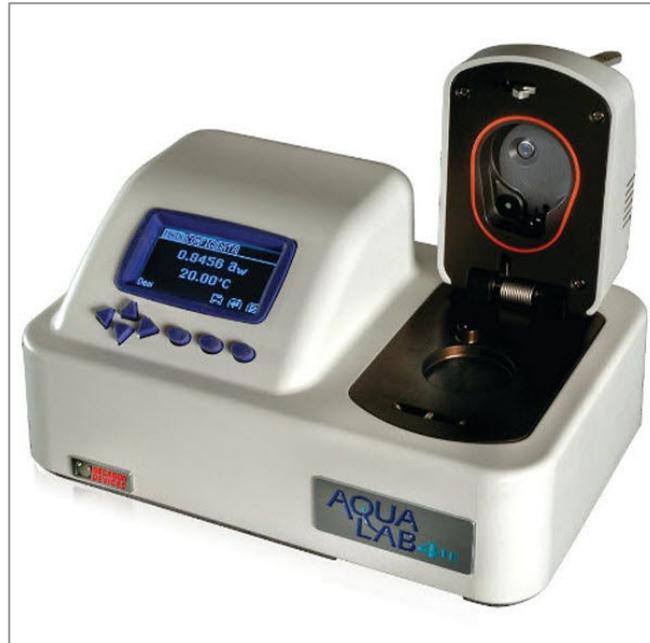
L'attività dell'acqua (*water activity*, A_w) per un alimento è il rapporto fra la pressione parziale di vapore dell'alimento (p) con quella del solvente puro (acqua) (p_0):

$$A_w = \frac{p}{p_0}$$

I microrganismi hanno bisogno di acqua disponibile per i loro processi metabolici. La misura migliore della disponibilità dell'acqua a partecipare a reazioni chimiche o a processi fisici è l'attività dell'acqua (Barbosa-Cánovas et al., 2007; Piergiovanni e Limbo, 2010). L' A_w può assumere solo valori compresi tra 1 (la pressione di vapore dell'acqua dell'alimento è uguale a quella dell'acqua pura: $p=p_0$) e 0 (in materiali molto secchi non vi sono molecole di acqua in grado di esercitare una pressione di vapore: $p=0$) (Barbosa-Cánovas et al., 2007).

La misurazione dell' A_w si effettua con l'ausilio di uno strumento chiamato analizzatore per l'attività dell'acqua (Figura 3.7). Dopo la taratura dello strumento, si pone il campione di alimento (portato ad una temperatura di 20-25°C) in un contenitore e lo si chiude per evitare lo scambio di umidità con l'ambiente. Il sensore per l'umidità mostrerà a display direttamente la *water activity* del prodotto.

Figura 3.7
Analizzatore per l'attività dell'acqua



Determinazione ossidazione lipidica (TBARS)

L'ossidazione lipidica, o lipoperossidazione, è una reazione chimica autocatalitica di ossidazione dovuta a radicali liberi contenenti ossigeno molecolare. Questa reazione porta alla formazione, nella matrice alimentare, di sostanze potenzialmente tossiche, con aromi e odori sgradevoli, e conseguente decadimento qualitativo dell'alimento stesso (processo conosciuto come "irrancidimento") (Herrick, 2014).

Per la determinazione dell'ossidazione lipidica si utilizza l'analisi della MDA (malondialdeide, la principale aldeide dalla reazione di ossidazione) tramite la reazione con il TBA (acido tiobarbiturico). Il principio di questo metodo è la reazione di una molecola di MDA con due molecole di TBA a formare un complesso colorato di rosso che è quantificabile con uno spettrofotometro (Shiue, 1974; Papastergiadis et al., 2012).

Per svolgere un doppio controllo si prelevano da ogni campione due aliquote di circa 10 g. Dopo aver aggiunto 50 mL di acqua distillata, si omogenizza la miscela per due minuti con uno Stomacher. Si trasferisce quindi l'omogenizzato in un pallone di Kjeldhal e si effettua la distillazione. Dopo qualche minuto di bollitura si raccolgono 5 mL di distillato che vengono miscelati con 5 mL di reagente TBA (TBARS – *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). La miscela appena costituita si trasferisce in un matraccio tappato che si pone in acqua bollente per 35 minuti. Si effettua lo stesso procedimento anche con una soluzione di acqua-TBARS, che sarà usata come bianco nell'analisi spettrofotometrica. Dopo raffreddamento si trasferiscono le miscele in un due cuvette e si esegue l'analisi con lo spettrofotometro, utilizzando una lunghezza d'onda di 530 nm (Shiue, 1974).

4

RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 INDAGINE ALIMENTARE E ATTEGGIAMENTO DEI PROPRIETARI VERSO LA DIETA CASALINGA

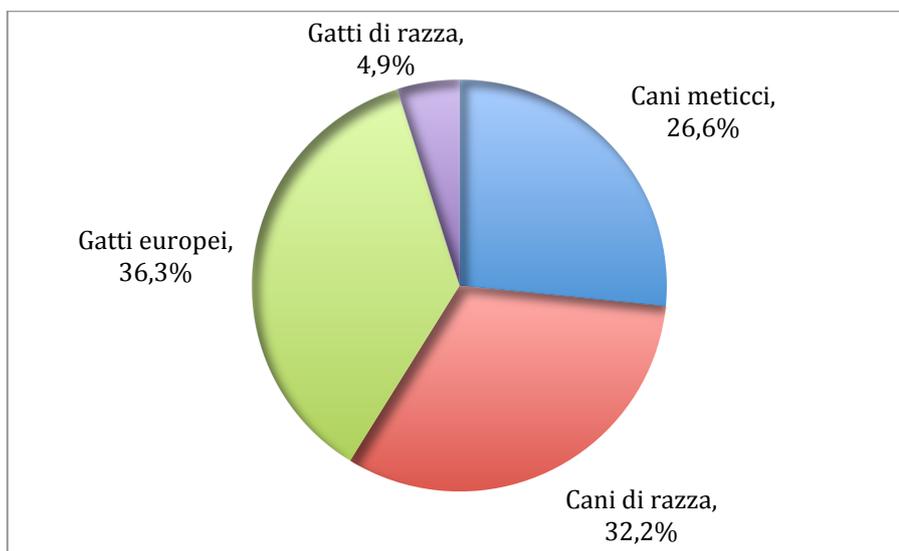
Le risposte ottenute dal questionario online sono state elaborate utilizzando Microsoft Excel®. I risultati esposti di seguito seguono lo schema del questionario stesso.

4.1.1 PARTE 1: INFORMAZIONI GENERALI

Al questionario sulle abitudini gestionali e alimentari di cani e gatti hanno risposto 515 proprietari: 303 proprietari di cani e 212 di gatti. I proprietari di cani di razza che hanno inviato le proprie risposte sono stati 166 (54,8% sul totale dei cani; 77 femmine e 89 maschi) mentre i proprietari di cani meticci sono stati 137 (45,2%; 59 femmine e 78 maschi). Per quel che riguarda i gatti, 25 erano proprietari di gatti di razza (11,8%; 12 femmine e 13 maschi) e 187 di gatti europei (88,2%; 94 femmine e 93 maschi).

Il grafico seguente (Figura 4.1) riporta la percentuale di proprietari di cani e gatti (di razza e meticci) che hanno aderito al questionario, sul totale delle risposte ricevute.

Figura 4.1
Suddivisione risposte ottenute dal questionario



L'età dei cani è stata suddivisa in 4 classi, calcolate in base alla taglia dell'animale, come indicato nella tabella seguente (Figura 4.2).

Figura 4.2
Classi d'età di cani e gatti

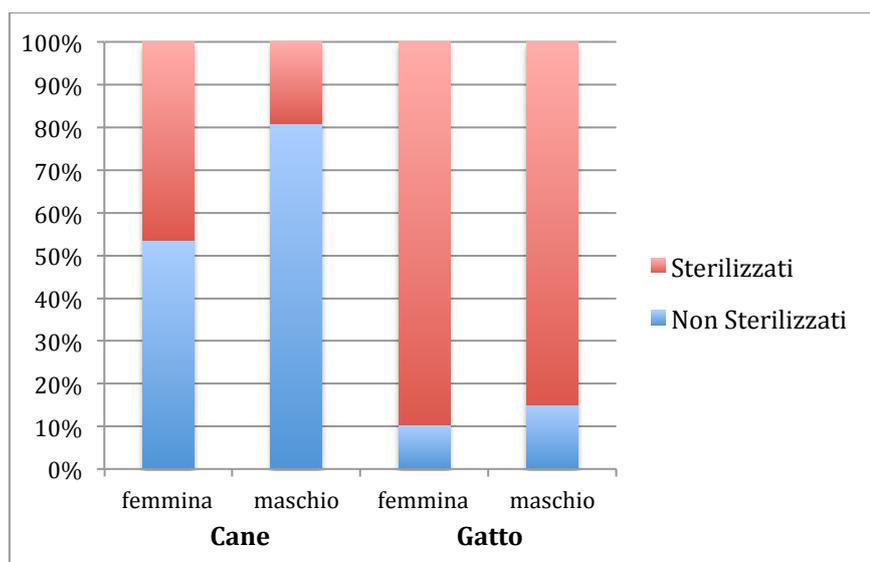
		Età (mesi)			
		In accrescimento	Adulti	Anziani	Geriatrici
CANI					
taglia	piccola	< 12 mesi	12 ≤ età ≤ 84	85 ≤ età ≤ 144	> 144
	media	< 12 mesi	12 ≤ età ≤ 84	85 ≤ età ≤ 144	> 144
	grande	< 24 mesi	24 ≤ età ≤ 60	61 ≤ età ≤ 108	> 108
	gigante	< 24 mesi	24 ≤ età ≤ 60	61 ≤ età ≤ 108	> 108
GATTI		< 12 mesi	12 ≤ età ≤ 84	85 ≤ età ≤ 144	> 144

L'età degli animali sottoposti a statistica è così suddivisa:

- Cani
 - 39 (12,9%) in accrescimento
 - 173 (57,1%) adulti
 - 62 (20,5%) anziani
 - 29 (9,6%) geriatrici
- Gatti
 - 17 (8,0%) in accrescimento
 - 135 (63,7%) adulti
 - 39 (18,4%) anziani
 - 21 (9,9%) geriatrici

Una notevole differenza fra cani e gatti si è riscontrata nel tasso di **sterilizzazione**: il 68,8% dei cani inclusi nello studio non sono sterilizzati, mentre i gatti non sterilizzati sono solo il 12,7%. Dati simili erano stati raccolti anche da uno studio condotto in Texas da Faver (2009) e da Slater et al. nel 2008 in Italia. All'interno delle singole specie, ed in particolare nel cane, le femmine tendono ad essere sterilizzate più frequentemente rispetto ai maschi (Figura 4.3). Questi dati sono in accordo con quelli rilevati da altri studi svolti in Italia (Slater et al., 2008) e in Nuova Zelanda (McKay et al., 2009).

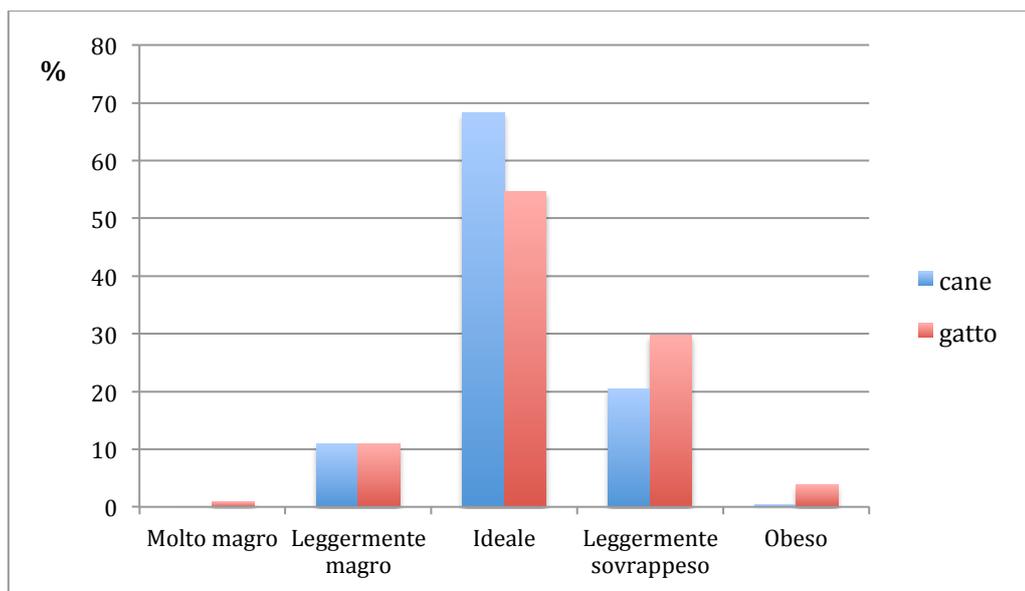
Figura 4.3
Percentuale di sterilizzazione di cani e gatti, suddivisi per genere



La maggior parte dei cani (56%) **vive** libero fra casa/appartamento e giardino. Sono molti meno quelli che vivono esclusivamente in casa/appartamento (28%) o esclusivamente fuori casa (15%). Per quel che riguarda i gatti, invece, abbiamo dei risultati simili fra chi vive sia in casa che fuori (49%) e chi vive solo in casa (47%), mentre solo il 4% vive esclusivamente all'esterno.

Una scala di 5 punti è stata usata per la valutazione del **BCS** (*Body Condition Score*) dove il punteggio 3 identifica un grado di condizione corporea ideale, il punteggio 1 cani molto magri ed il punteggio 5 cani obesi. I proprietari dovevano indicare se il proprio animale fosse molto magro, leggermente magro, con BCS ideale, leggermente sovrappeso o obeso. Questa valutazione è estremamente soggettiva, ma i risultati hanno comunque mostrato come i gatti tendono ad essere, anche agli occhi dei proprietari, più sovrappeso rispetto ai cani, che invece vengono considerati, nella maggior parte dei casi, con peso ideale (Figura 4.4).

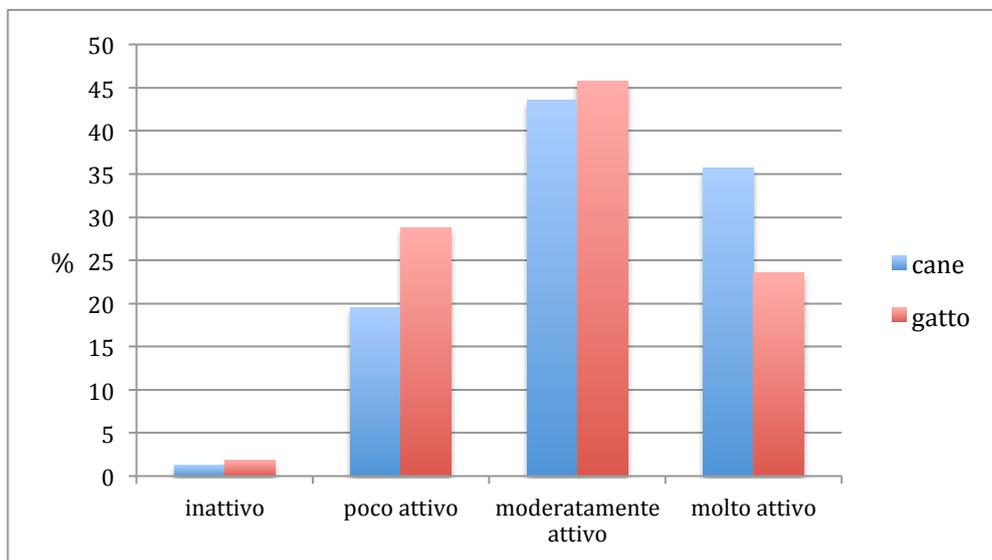
Figura 4.4
BCS di cani e gatti



Per quel che riguarda l'**attività fisica** svolta dagli animali, i risultati sono stati coerenti rispetto alle risposte ottenute riguardo la condizione corporea. Infatti, i gatti, che venivano classificati come più sovrappeso rispetto ai cani, sono anche considerati più sedentari (Figura 4.5).

Figura 4.5

Livello di attività svolta da cani e gatti, in base al giudizio del proprietario



Per quel che riguarda esclusivamente i cani, la maggior parte di questi (44%) svolge dai 30 ai 60 minuti al giorno di attività fisica assieme al proprietario. L'attività fisica quotidiana è principalmente passeggiata semplice assieme al proprietario (33%) oppure corsa libera in un parco (25%).

Il 9% dei cani sottoposti a indagine partecipa anche ad attività fisiche particolari, come agility, obedience e riporto.

4.1.2 PARTE 2: INFORMAZIONI SULLA GESTIONE DEGLI ANIMALI

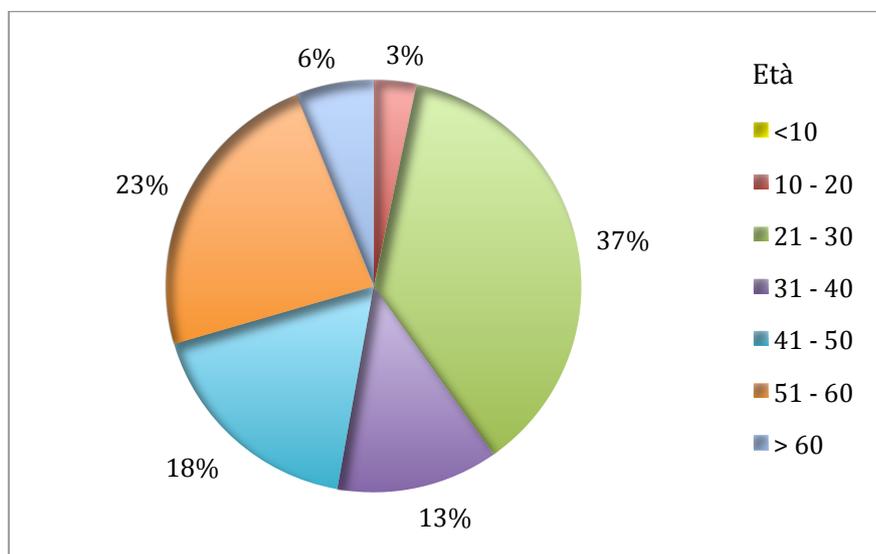
I proprietari che hanno risposto al questionario sono così suddivisi:

- 71,1% (366) privati
- 27,6% (142) studenti di Medicina Veterinaria
- 1,4% (7) allevatori

È stato chiesto ai proprietari la fascia d'**età** di chi si occupa principalmente dell'alimentazione dell'animale (Figura 4.6). Quella preponderante è la fascia dai 21 ai 30 anni, ma bisogna considerare che questo dato può essere stato falsato dal metodo di distribuzione del questionario (via *social network* ed email).

Figura 4.6

Suddivisione del totale delle risposte in base alla fascia d'età del proprietario



Per quel che riguarda l'**alimentazione** somministrata a cani e gatti, sono state considerate diverse opzioni: alimentazione esclusivamente commerciale (a sua

volta suddivisa in solo alimenti secchi, solo umidi, entrambi i tipi), alimentazione casalinga cucinata appositamente per l'animale, alimentazione mista (sia commerciale che casalinga), e infine alimentazione composta dagli avanzi del pasto dei proprietari. Le Figure 4.7 e 4.8 mostrano i risultati, rispettivamente per le risposte fornite dai proprietari di cani e di gatti. In base alle risposte date, i proprietari venivano poi indirizzati a delle specifiche domande riguardanti la dieta utilizzata.

Figura 4.7

Dieta utilizzata per l'alimentazione dei cani

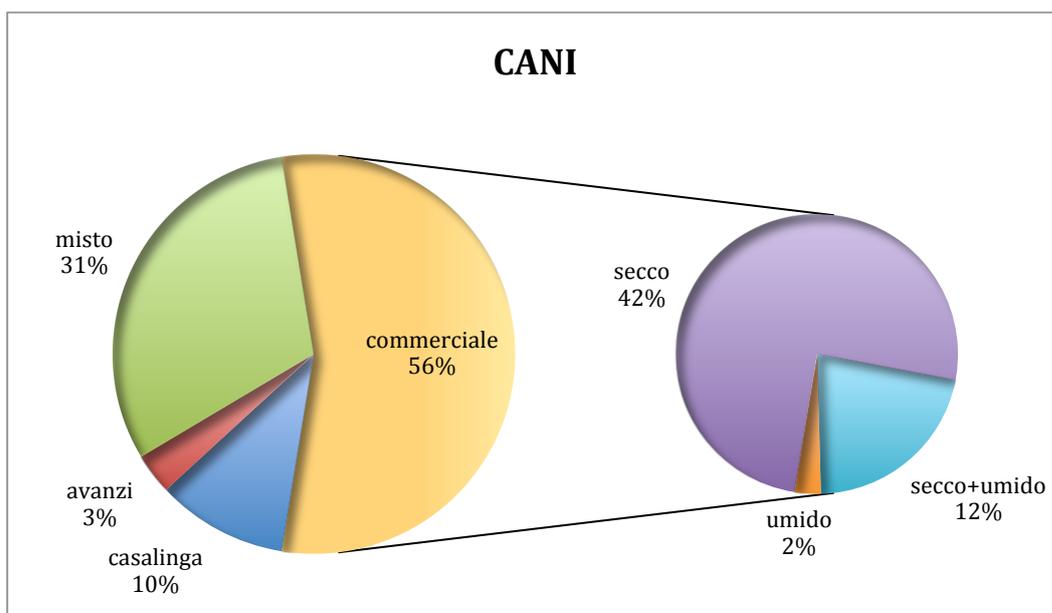
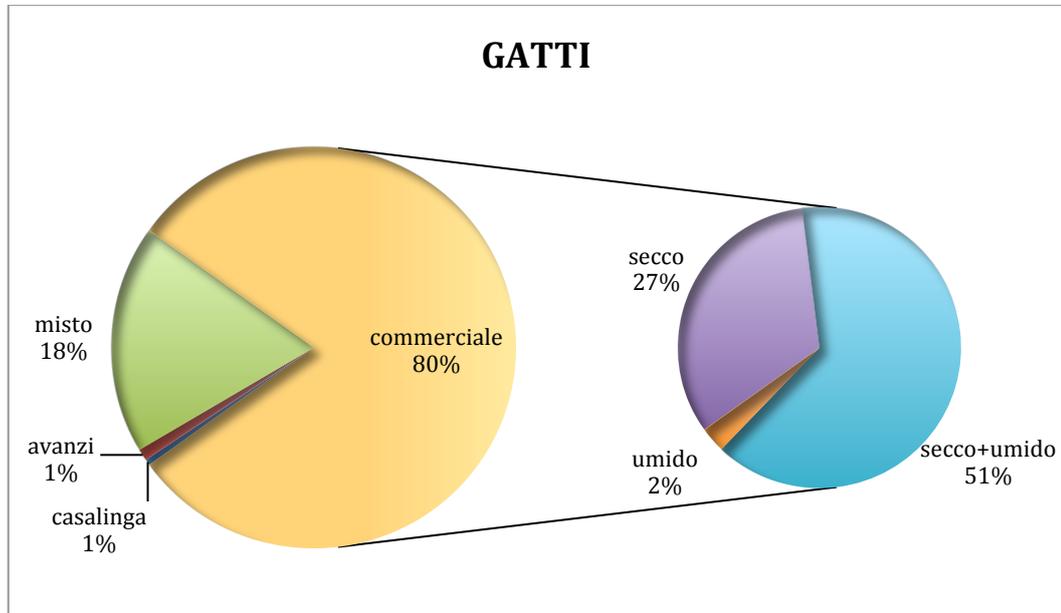


Figura 4.8
Dieta utilizzata per l'alimentazione dei gatti



L'alimento commerciale è quello prevalentemente utilizzato sia dai proprietari di cani che di gatti. In particolare, la maggior parte dei proprietari di cani utilizza esclusivamente prodotti secchi, mentre la situazione dei gatti è diversa in quanto la maggior parte dei proprietari utilizza sia alimenti secchi che umidi. Gli stessi dati erano stati raccolti anche dall'IRI e riportati sul Rapporto Assalco - Zoomark (2015).

Un altro interessante dato deriva dalla domanda che riguardava l'affidamento per la **scelta** del tipo di alimento da somministrare al proprio animale. E' confortante notare che la maggior parte dei proprietari di cani o gatti che utilizzano prodotti commerciali o diete casalinghe si affidano per la scelta al proprio Medico Veterinario (Figura 4.9 e Figura 4.10).

Nella Figura 4.10, riguardante le risposte date dai proprietari di gatti, non è stato inserito il valore della dieta casalinga perché una sola persona utilizza la dieta casalinga per il proprio gatto e quindi il dato è stato considerato poco significativo.

Figura 4.9
Affidamento scelta alimentazione - proprietari di cani

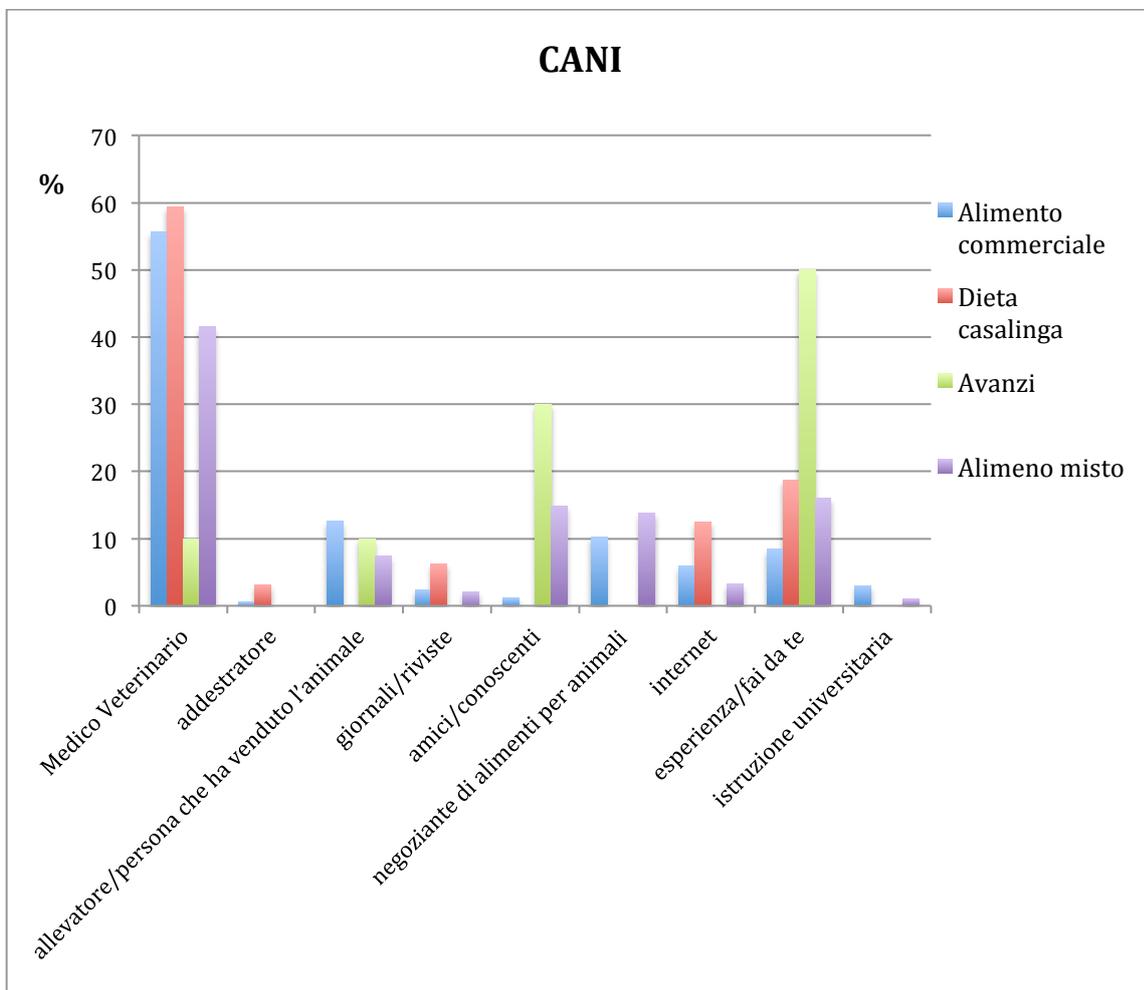
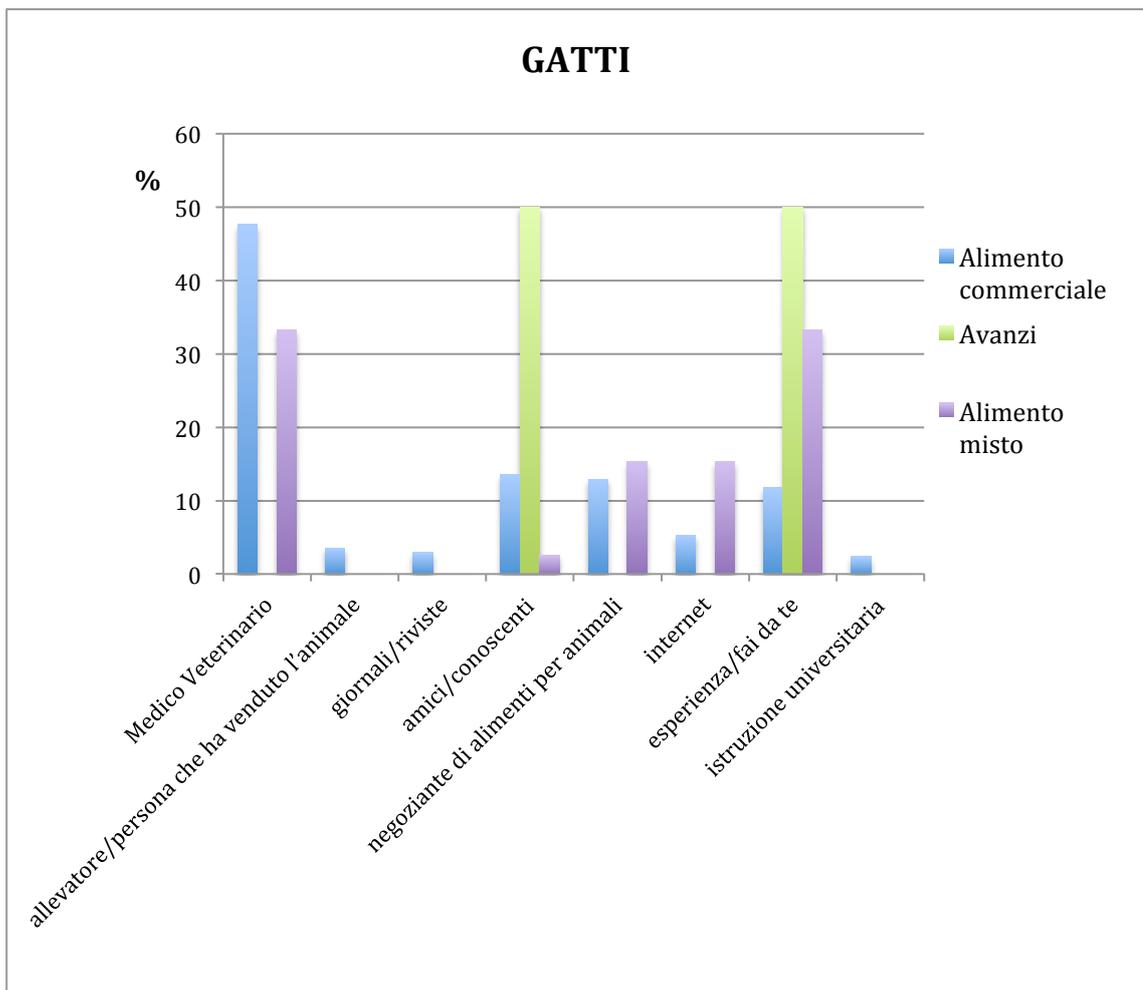


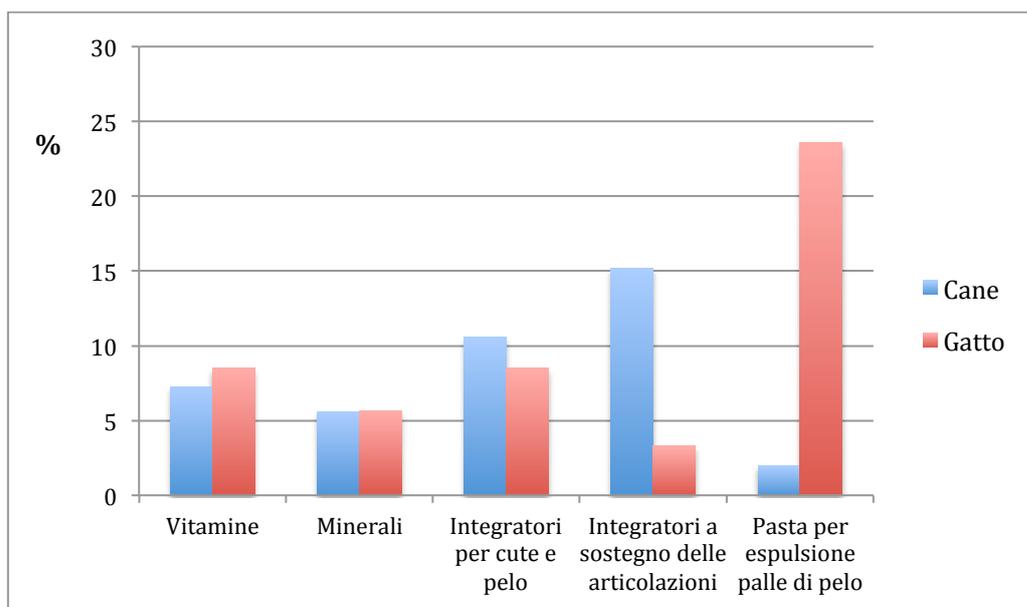
Figura 4.10
Affidamento scelta alimentazione - proprietari di gatti



La maggior parte dei proprietari di gatti (61%) non utilizza prodotti per **ricompensare** il proprio animale. L'83% dei proprietari di cani, invece, utilizza ricompense: la maggior parte di questi utilizza esclusivamente prodotti commerciali (58%), meno invece chi fornisce esclusivamente prodotti ad uso umano (26%) o un misto di entrambi i tipi di ricompense (16%).

Il 22% dei proprietari sottoposti ad indagine fornisce **integratori** ai propri cani e gatti. I diversi tipi di integratori utilizzati e le differenze fra cani e gatti sono ben visibili nella Figura 4.11.

Figura 4.11
Tipi di integratori utilizzati in cani e gatti



4.1.3 PARTE 3/a: ALIMENTAZIONE COMMERCIALE

Gli animali sottoposti ad indagine che ricevono un'alimentazione esclusivamente commerciale sono stati 337 su 515 (65%), di cui 167 cani e 170 gatti.

Il tipo di alimento commerciale che i cani e gatti ricevono è diverso in base alla specie:

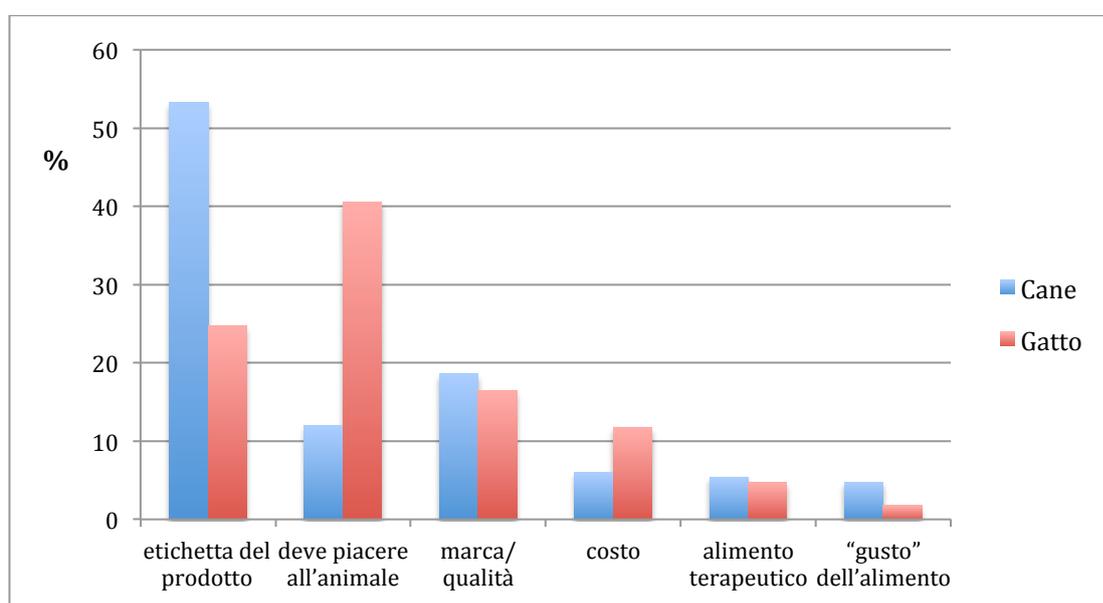
- Cani
 - 126 (75,4%) solo alimento secco
 - 36 (21,6%) sia alimento secco che umido
 - 5 (3,0%) solo alimento umido
- Gatti
 - 56 (32,9%) solo alimento secco
 - 109 (64,1%) sia alimento secco che umido
 - 5 (2,9%) solo alimento umido

Più del 50% dei proprietari di cani e gatti si è affidato al Medico Veterinario per la **scelta** del tipo di mangime da acquistare.

I principali **motivi** che spingono molti proprietari a scegliere la dieta commerciale per il proprio animale sono la comodità, praticità e velocità nel somministrare la dieta (50%) e la sicurezza di dare al proprio cane o gatto una dieta bilanciata, equilibrata e sana (48%).

Il **criterio** con cui i proprietari selezionano l'alimento da acquistare è diverso fra proprietari di cani o di gatti. I proprietari di cani sono, infatti, più attenti alle caratteristiche dell'alimento e leggono l'etichetta del prodotto, mentre quelli di gatti si basano sulle preferenze dell'animale (Figura 4.12).

Figura 4.12
Criterio di selezione dell'alimento commerciale

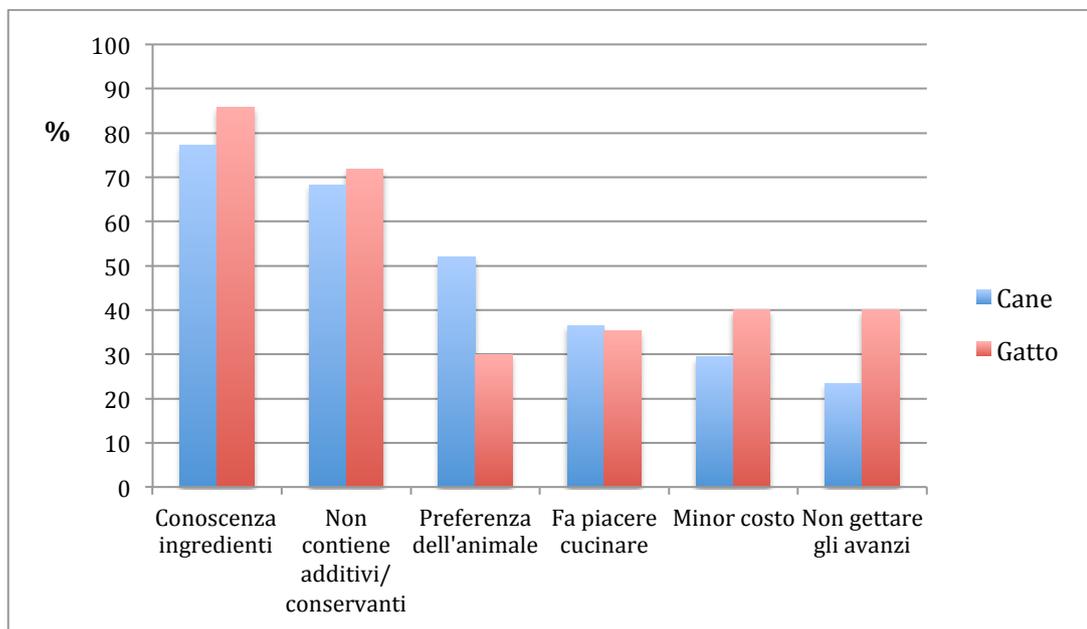


Il 37% dei proprietari di gatti dichiara di non leggere mai l'**etichetta** del prodotto che acquista. I proprietari di cani invece controllano l'etichetta del mangime per acquistare prodotti che non contengano OGM, additivi o sottoprodotti (28%), o che abbiano la carne al primo posto nella lista degli ingredienti (25%).

Gli **svantaggi** principali che i proprietari di cani e gatti riscontrano nella dieta commerciale sono la scarsa qualità e conoscenza degli ingredienti contenuti nell'alimento (36%) e la loro dubbia origine (22%).

Dati coerenti con quanto appena affermato sono stati raccolti quando è stato chiesto ai proprietari per quali motivi utilizzerebbero la **dieta casalinga** anziché quella commerciale. I motivi principali sono la conoscenza degli ingredienti e la mancanza di additivi e conservanti (Figura 4.13).

Figura 4.13
Motivi per cui i proprietari utilizzerebbero la dieta casalinga

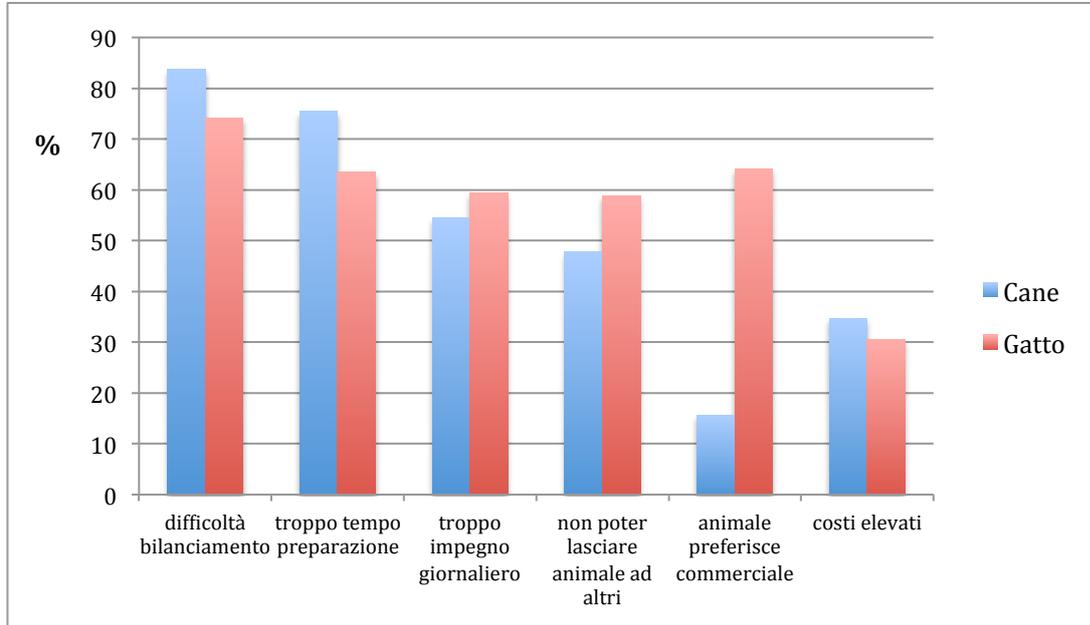


Comunque, il 56% dei proprietari di cani e il 65% dei proprietari di gatti non ha mai pensato di modificare il tipo di dieta che somministra al proprio animale per passare ad una dieta casalinga.

Nella Figura 4.14 si possono vedere i principali motivi che spingono i proprietari di cani e gatti a non utilizzare la dieta casalinga.

Figura 4.14

Motivi per cui i proprietari non utilizzerebbero la dieta casalinga



4.1.4 PARTE 3/b: ALIMENTAZIONE CASALINGA

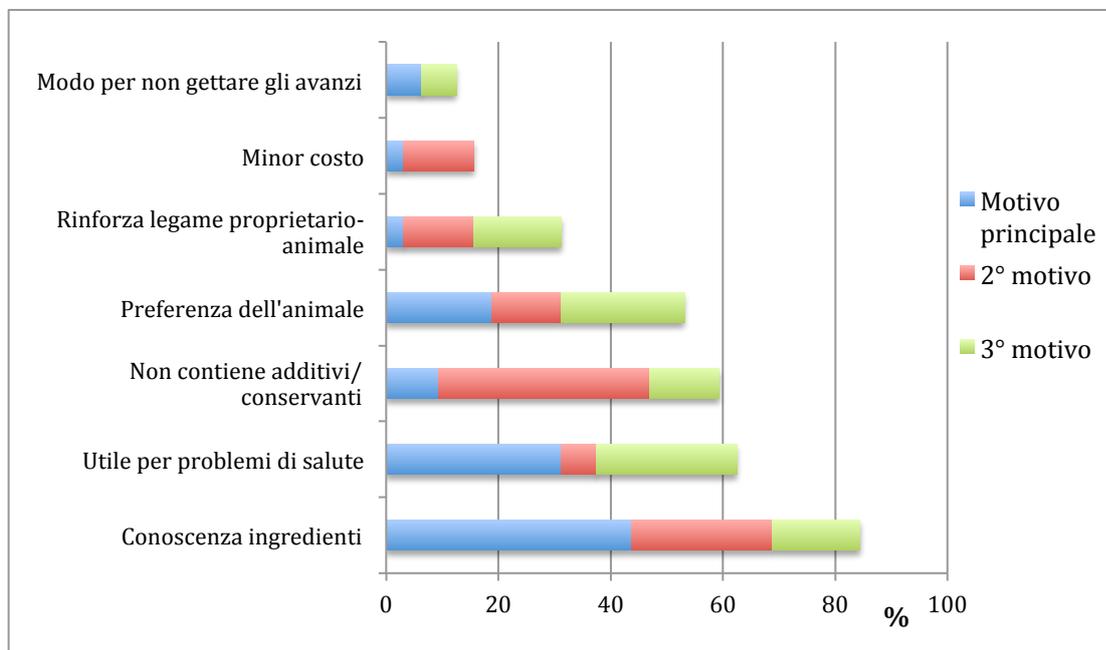
Fra i proprietari che hanno risposto al questionario, 33 (6,5%) forniscono ai propri animali una dieta casalinga cucinata appositamente per loro (32 cani e 1 gatto). Avendo ricevuto un solo questionario da parte di un proprietario di gatti, questo è da considerarsi poco significativo, quindi i risultati discussi in questa sezione si riferiranno esclusivamente alle risposte ottenute dai proprietari di cani.

La maggior parte dei proprietari di cani (59%) si è affidato al Medico Veterinario per la **scelta** del tipo di dieta. Il Medico Veterinario nella quasi totalità dei casi (56%) ha anche consigliato gli ingredienti da utilizzare per la composizione della dieta casalinga, ma non tutti hanno fornito anche le informazioni per un corretto bilanciamento della stessa (47%). Lo studio condotto da Stockman et al. (2013) su 200 diete casalinghe ha rilevato che il 92% di queste diete contenevano istruzioni vaghe o incomplete sugli ingredienti, la preparazione o il tipo di supplementi da utilizzare, anche se 129 (64,5%) erano state scritte da Medici Veterinari. Anche dallo studio di Heinze et al. del 2012 è emerso che nessuna delle diete analizzate (37% delle quali formulate da Medici Veterinari) soddisfaceva i requisiti essenziali di nutrienti per cani adulti in mantenimento, determinato sulla base dei profili AAFCO o NRC. Quindi, anche se la maggior parte dei proprietari che ha risposto al questionario si è rivolto ad un Medico Veterinario per la formulazione della dieta casalinga, non possiamo essere sicuri che questa sia stata correttamente bilanciata.

Ai proprietari è stato chiesto di indicare perché **consiglierebbero** ad altri di utilizzare la dieta casalinga per alimentare il proprio animale. Essi dovevano indicare i tre motivi principali. La conoscenza degli ingredienti contenuti nella dieta è stata, anche in questo caso, la motivazione principale (Figura 4.15).

Figura 4.15

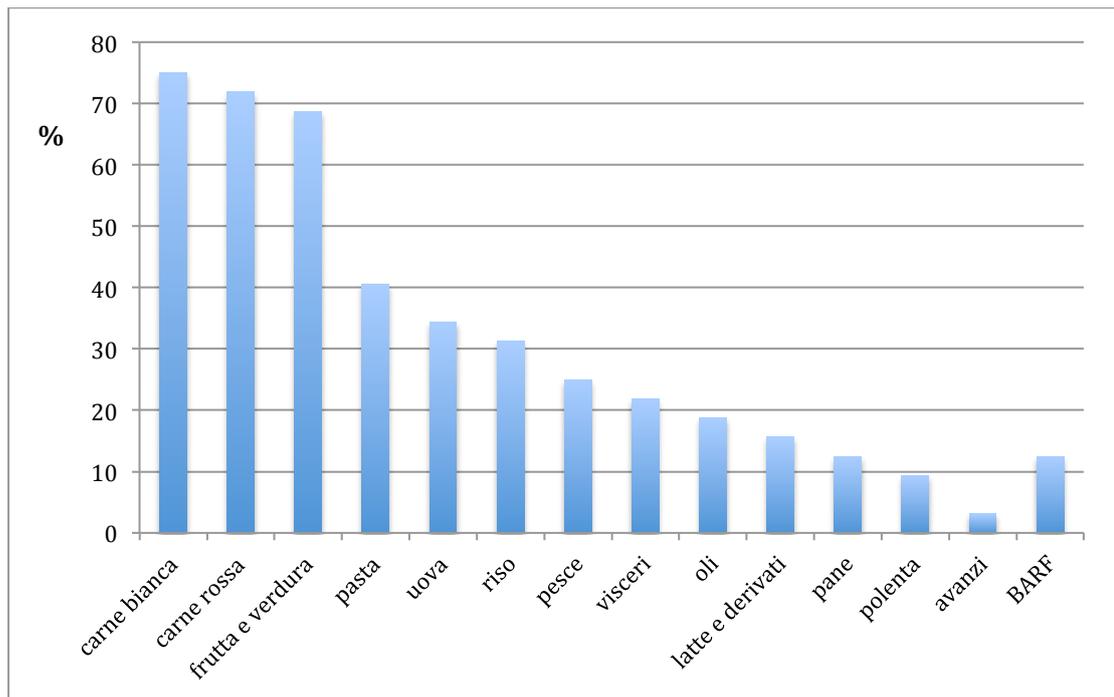
Motivi per cui i proprietari consiglierebbero la dieta casalinga



La maggior parte dei proprietari (47%) non trova nessun **punto critico** nell'utilizzo della dieta casalinga. Fra chi riscontra, invece, qualche difficoltà, quelle principali sono l'impegno in termini di tempo per la preparazione del pasto (25%) e la mancanza di certezze sul bilanciamento della dieta composta (16%).

Gli **ingredienti** utilizzati dai proprietari che hanno risposto al questionario per la composizione della dieta casalinga sono riportati nella Figura 4.16.

Figura 4.16
Ingredienti che compongono la dieta casalinga

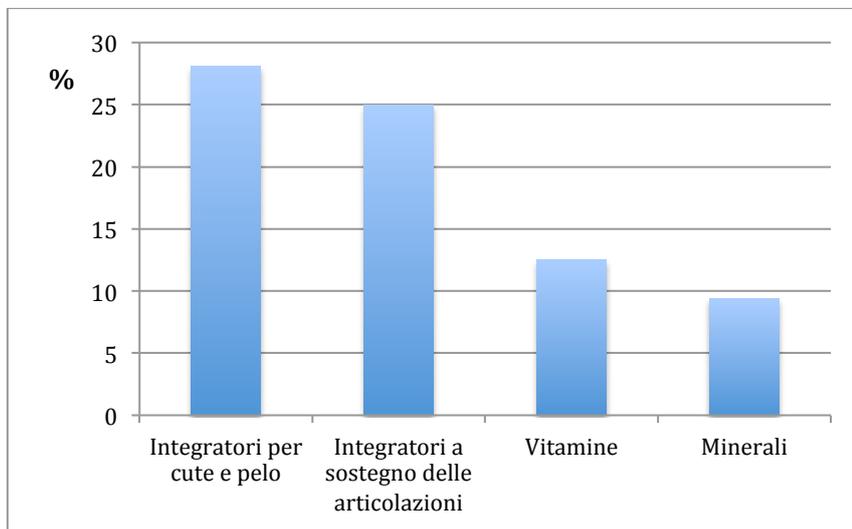


La maggior parte dei proprietari cucina la **carne** prima di darla al proprio cane (63%) e fornisce anche **ossa** con la dieta (56%).

Rispetto ai risultati totali (solo il 22% dei proprietari forniva integratori assieme alla dieta ai propri animali) si riscontra un incremento di questa percentuale se ci si riferisce solo a chi somministra dieta casalinga. Infatti, il 40% di questi aggiunge **integratori** alla dieta, l'83% dei quali giornalmente o a giorni alterni. Tuttavia, come è possibile notare dalla Figura 4.17, gli integratori principalmente utilizzati sono quelli per la cura di cute e pelo e quelli a sostegno delle articolazioni. Nessuno dei due rappresenta una valida integrazione per bilanciare una dieta casalinga.

Questo vuol dire che le diete casalinghe somministrate ai cani sono tendenzialmente sbilanciate per vitamine e minerali. Questi risultati sono in accordo con dati già pubblicati su numerosi articoli che evidenziano carenze vitaminiche e minerali nelle diete casalinghe (Streiff et al., 2002; Heinze et al., 2012; Larsen et al., 2012; Stockman et al., 2013).

Figura 4.17
Tipi di integratori utilizzati assieme alla dieta casalinga



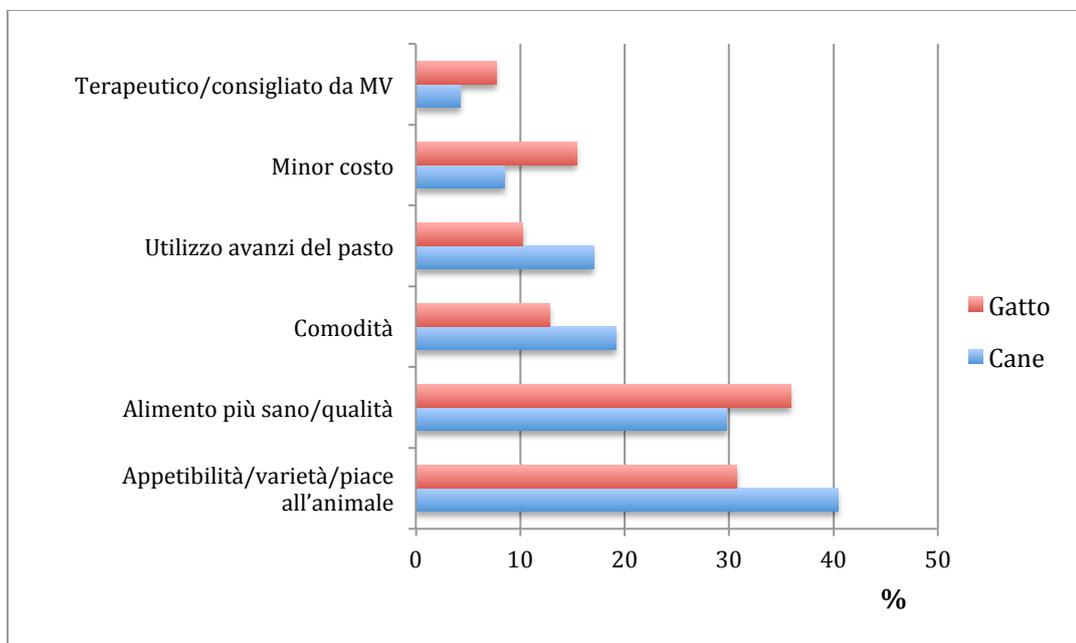
4.1.5 PARTE 3/c: ALIMENTAZIONE MISTA

I proprietari di cani e gatti che forniscono ai propri animali un'alimentazione mista, composta sia da alimento commerciale che da dieta casalinga, sono 133 (94 cani e 39 gatti), pari al 26% della popolazione considerata.

La maggior parte dei proprietari di cani per la **scelta** della dieta si è affidato al Medico Veterinario (42%), mentre i proprietari di gatti si affidano in percentuali uguali o al Medico Veterinario o alla propria esperienza (33%).

Nella Figura 4.18 vengono mostrati quali sono i principali **vantaggi** riscontrati dai proprietari riguardo alla dieta mista.

Figura 4.18
Vantaggi della dieta mista



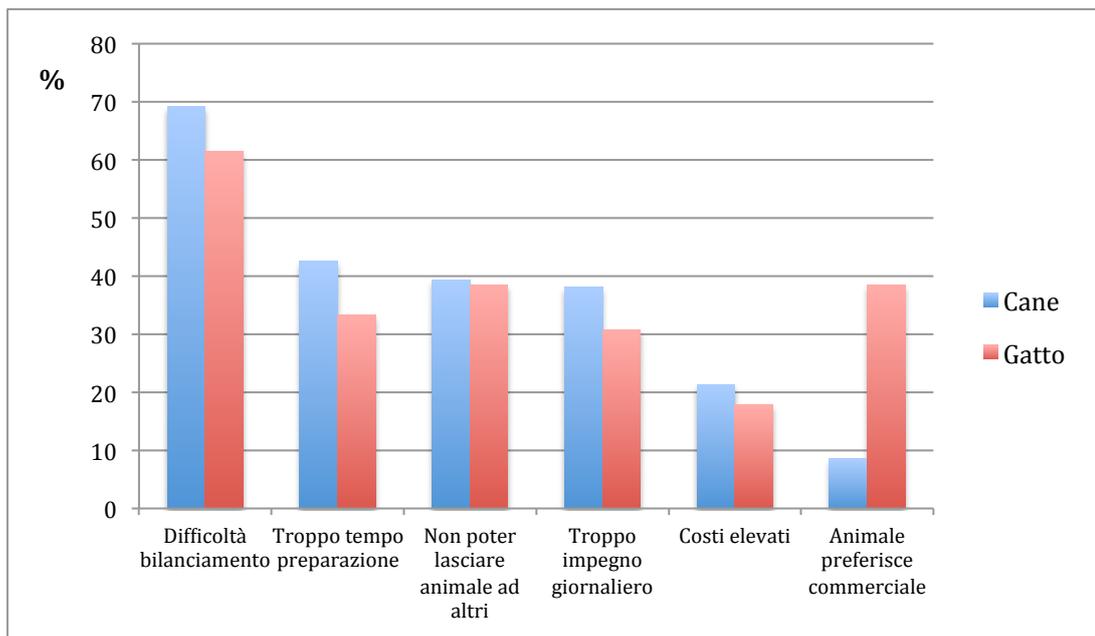
Le risposte ottenute riguardo alla componente commerciale della dieta mista rispecchiano le risposte date dai proprietari che forniscono esclusivamente dieta commerciale. I **criteri** di scelta dell'alimento sono anche in questo caso legati all'etichetta del prodotto e alle preferenze dell'animale (rispettivamente, 42% e 29%). Anche ciò che viene ricercato sull'**etichetta** corrisponde a quanto indicato dai proprietari che somministrano dieta commerciale, e cioè l'assenza di OGM, additivi o sottoprodotti (35%) e la carne al primo posto nella lista degli ingredienti (26%). La stessa cosa vale per gli **svantaggi** della dieta commerciale, che sono principalmente la scarsa qualità degli ingredienti, e la loro dubbia conoscenza e origine (41%).

Il 44% dei proprietari di cani intervistati ha ancora pensato di modificare la dieta che somministra al proprio animale per passare ad una dieta esclusivamente **casalinga**. I proprietari di gatti che hanno preso in considerazione questa possibilità sono in numero maggiore, e cioè il 62%.

I principali motivi che spingerebbero questi proprietari a passare ad una dieta casalinga sono la totale conoscenza degli ingredienti e l'assenza di additivi e conservanti.

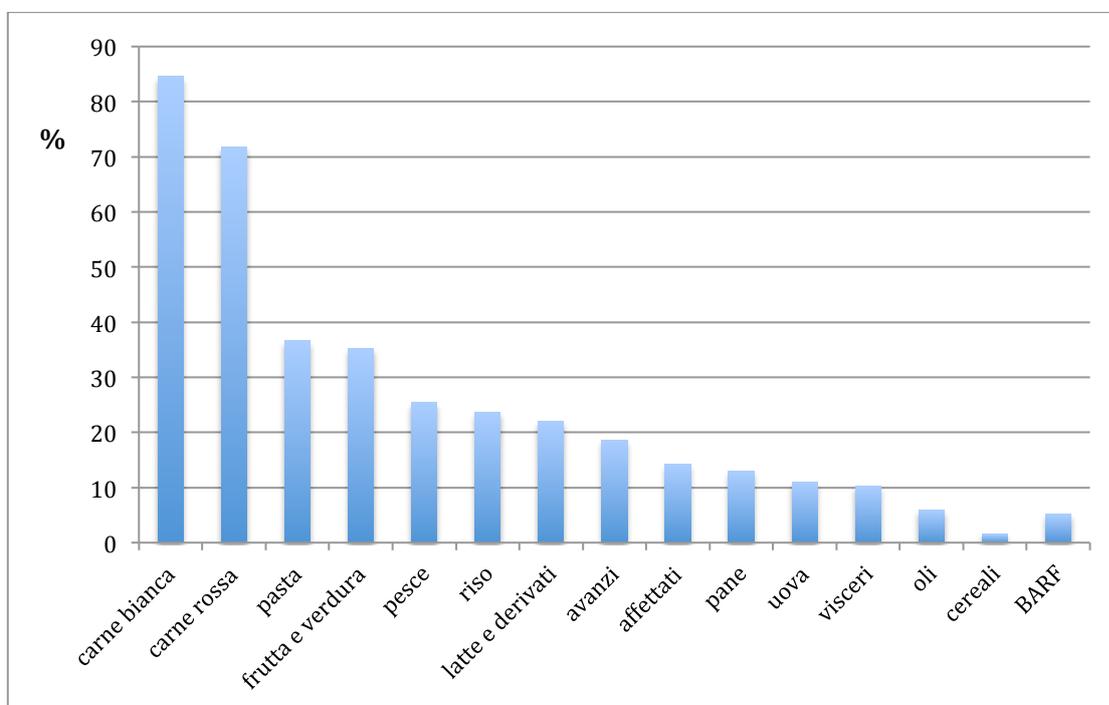
I motivi invece per i quali non utilizzerebbero esclusivamente una dieta casalinga sono mostrati in Figura 4.19.

Figura 4.19
 Principali motivi per cui i proprietario non utilizzerebbero solo dieta casalinga



Riguardo alla componente casalinga della dieta mista, i principali **ingredienti** che vengono utilizzati sono mostrati nella Figura 4.20. Le percentuali sono molto simili a quelle riferite dai proprietari che somministrano esclusivamente dieta casalinga, eccetto frutta e verdura, che vengono inserite con minor frequenza nella dieta mista (35% contro il 69% dei proprietari che forniscono solo dieta casalinga).

Figura 4.20
Ingredienti della componente casalinga della dieta mista



Per quel che riguarda la **carne**, i proprietari che scelgono di cucinarla prima di inserirla nel pasto del proprio animale sono in percentuale maggiore rispetto a quelli che forniscono esclusivamente dieta casalinga. Infatti, ben l'89% dei proprietari di cani e il 62% dei proprietari di gatti sceglie di cuocerla.

Sempre in confronto con chi somministra la dieta casalinga, sono invece meno i proprietari di cani e gatti che nella dieta mista inseriscono anche **ossa** (38% contro il 56% di chi somministra dieta casalinga).

4.2 PRODUZIONE DELL'ALIMENTO CASALINGO E ANALISI MICROBIOLOGICHE E CHIMICHE

I risultati provenienti dalle analisi microbiologiche hanno portato, in fase di studio, ad una graduale ma costante modifica del processo di produzione dell'alimento. Si è reso necessario, infatti, utilizzare tre diversi metodi di cottura e due diversi tipi di confezionamento del prodotto finito prima di raggiungere dei risultati di *shelf-life* accettabili dal punto di vista commerciale.

Per maggiore chiarezza, di seguito sono state riportate 3 prove. Queste riassumono le principali modifiche apportate al protocollo di produzione dell'alimento casalingo e l'ultima prova identifica il protocollo di produzione definitivo.

L'alimento finito viene mostrato in Figura 4.21.

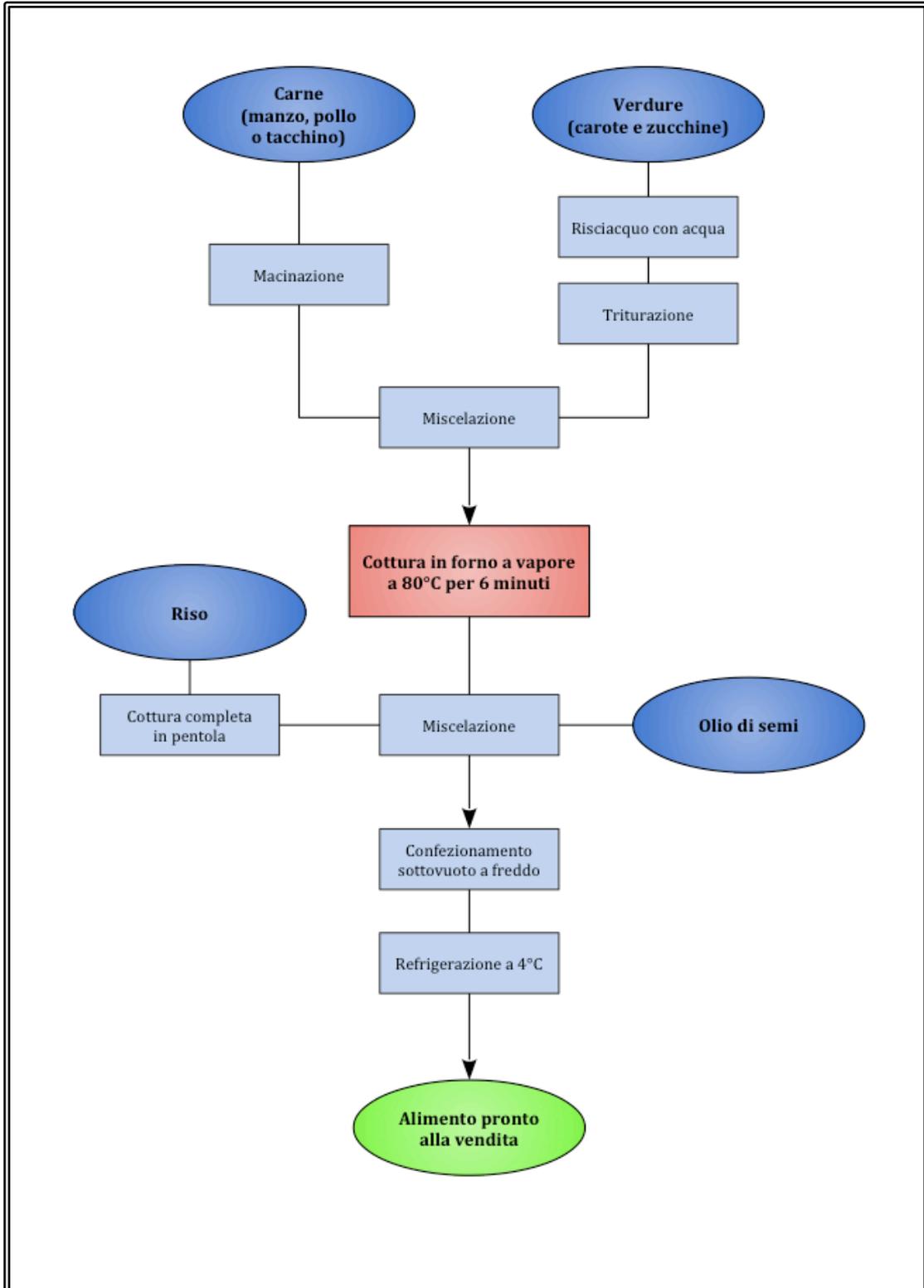
Figura 4.21
Nuovo alimento per cani, nelle tre diverse composizioni
(tacchino e riso, pollo e riso, manzo e riso)



4.2.1 PROVA 1

Il primo metodo di preparazione dell'alimento (Figura 4.22) prevedeva inizialmente il lavaggio con acqua e taglio delle verdure (carote e zucchine), la macinazione della carne (acquistata in pezzo intero) e la cottura completa del riso in pentola. Successivamente alla preparazione degli ingredienti, carne e verdure sono state miscelate e quindi cotte in forno a vapore a **80°C per 6 minuti**. Dopo la cottura, gli altri ingredienti (riso cotto e olio di semi) sono stati aggiunti e miscelati omogeneamente. La miscela è stata poi raffreddata a temperatura ambiente e il confezionamento è avvenuto in vaschette di polipropilene sigillate sottovuoto con un film di polipropilene. Il processo di produzione è terminato con la refrigerazione a 4°C.

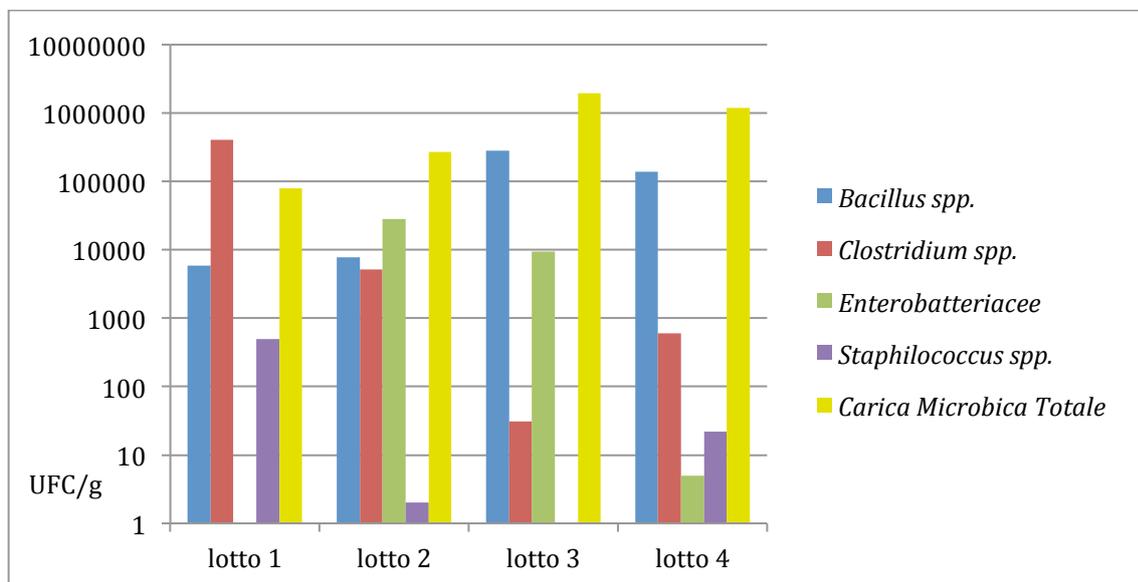
Figura 4.22
 Diagramma di flusso Prova 1



I target batterici ricercati nella Prova 1 sono stati: Carica Microbica Totale, *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *Staphilococcus spp.*, Enterobatteriacee, muffe e lieviti.

La Figura 4.23 mostra le cariche microbiche provenienti dai 4 lotti della dieta a base di riso e manzo nel giorno T0 della Prova 1. Appare evidente come tutti e 4 i campioni presentassero già una notevole contaminazione batterica (tra 2 e 6 log) al momento della preparazione. Muffe e lieviti, invece, non si sono sviluppati.

Figura 4.23
Conte microbiche a T0 – Prova 1



Considerando che per ottenere un prodotto microbiologicamente stabile è necessario mantenere una carica microbica inferiore ai 4 log per tutta la vita commerciale (valore di sicurezza per il consumatore) (New Zealand Food Safety Authority, 2005), è risultato inutile proseguire con le analisi (previste inizialmente a T11, T20, T32 e T40) poiché il progredire del tempo di conservazione avrebbe aumentato ulteriormente la contaminazione.

Queste prime analisi hanno comunque evidenziato la presenza di alcuni descrittori che possono essere usati come indicatori della qualità dell'alimento. In particolare, da affiancare allo studio della Carica Microbica Totale, risulta importante valutare gli Sporigeni quali *Bacillus spp.*

Inoltre, a conferma della elevata contaminazione batterica iniziale, dopo soli 3 giorni di conservazione a 10°C, le confezioni hanno assunto un aspetto bombato a causa della produzione di gas da parte dei microrganismi in proliferazione (Figura 4.24). In particolare questa alterazione è da imputarsi alle Enterobatteriacee e ad altri elementi della flora studiata, quali *Clostridium spp.* e *Bacillus spp.*

Figura 4.24

Bombaggio delle confezioni conservate a 10°C – Prova 1



Questi risultati negativi sono stati probabilmente causati da alcune procedure errate durante la preparazione del prodotto. I fattori che vengono normalmente utilizzati per contrastare la crescita microbica negli alimenti sono il pH, l'attività dell'acqua (A_w), l'aggiunta di conservanti e la temperatura di cottura degli ingredienti (Auricchio, 2009). In questo caso, l'unico fattore su cui si è potuto agire

senza modificare la composizione del prodotto è stata la combinazione tempo-temperatura, soprattutto perché molti batteri rilevati dalle analisi microbiologiche erano sporigeni e per tanto richiedono delle temperature di inattivazione più elevate. Ad esempio, per ridurre di un solo log la carica di *Clostridium botulinum* è necessaria la cottura a 121°C per 12 secondi per i ceppi proteolitici, mentre sono necessari 90°C per 1,1 minuti per quelli non proteolitici (New Zealand Food Safety Authority, 2005; Stringer et al., 2011). Il D-value (tempo necessario, ad una data temperatura, per abbattere il 90% degli organismi oggetto di studio) per *Bacillus cereus* è di 60°C per 1 minuto per le cellule vegetative e di 95°C per 2 minuti per le spore (Byrne et al., 2006). Per quel che riguarda invece le Enterobatteriacee, il D-value per *E. Coli O157:H7* è di 28 minuti a 55°C (Osaili et al., 2006).

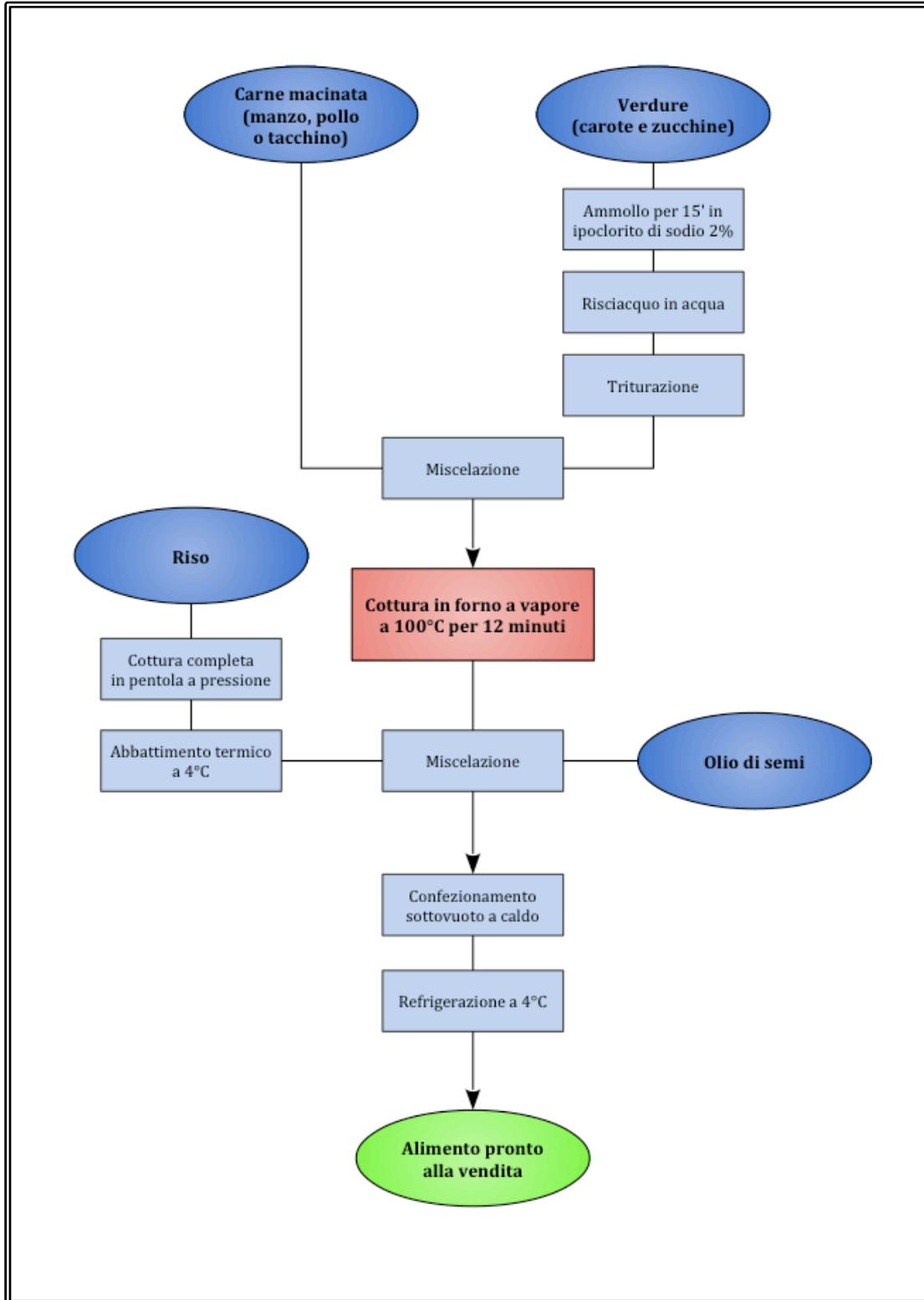
Avendo utilizzato per la cottura di carne e verdure una temperatura di 80°C per 6 minuti, abbiamo ipotizzato che la temperatura raggiunta a cuore dal nostro prodotto sia stata inferiore rispetto a quelle suggerite dalla letteratura per contrastare la crescita dei batteri sopra citati. E' stato quindi deciso di condurre una seconda prova, modificando la temperatura e il tempo di cottura, utilizzando come metodo di cottura sempre il forno a vapore ma valutando il raggiungimento di almeno 80°C a cuore del prodotto.

Inoltre, si è cercato di ridurre al minimo la contaminazione proveniente dai diversi ingredienti. Le possibili fonti di contaminazione possono, infatti, essere state: le verdure che sono state solo sciacquate, la carne che è stata macinata appena prima della cottura, il riso che è stato cotto e successivamente non abbattuto termicamente ma lasciato raffreddare a temperatura ambiente. Inoltre, lo stesso confezionamento sottovuoto è avvenuto a freddo, senza abbattimento termico ma dopo raffreddamento lento, procedimento che può aver favorito la germinazione dei microrganismi.

4.2.2 PROVA 2

Per diminuire la carica batterica sono state apportate delle modifiche rispetto al primo metodo di preparazione: le verdure sono state lasciate in ammollo per 15 minuti in ipoclorito di sodio al 2% e poi sciacquate con acqua e tagliate, il riso è stato cotto separatamente in pentola a pressione a 118°C per 10 minuti e abbattuto termicamente a 4°C, la carne è stata acquistata già macinata. La carne e le verdure sono quindi state miscelate e cotte in forno a vapore a **100°C per 12 minuti**, in modo da raggiungere una temperatura a cuore (misurata mediante termometro ad infissione) di 80°C per 8 minuti. Tutti gli ingredienti, ancora caldi, sono stati miscelati, è stato aggiunto olio di semi, e sono stati confezionati sottovuoto a caldo nelle medesime vaschette di polipropilene utilizzate nel primo metodo di preparazione. È seguito quindi un abbattimento termico a 4°C (Figura 4.25).

Figura 4.25
Diagramma di flusso Prova 2

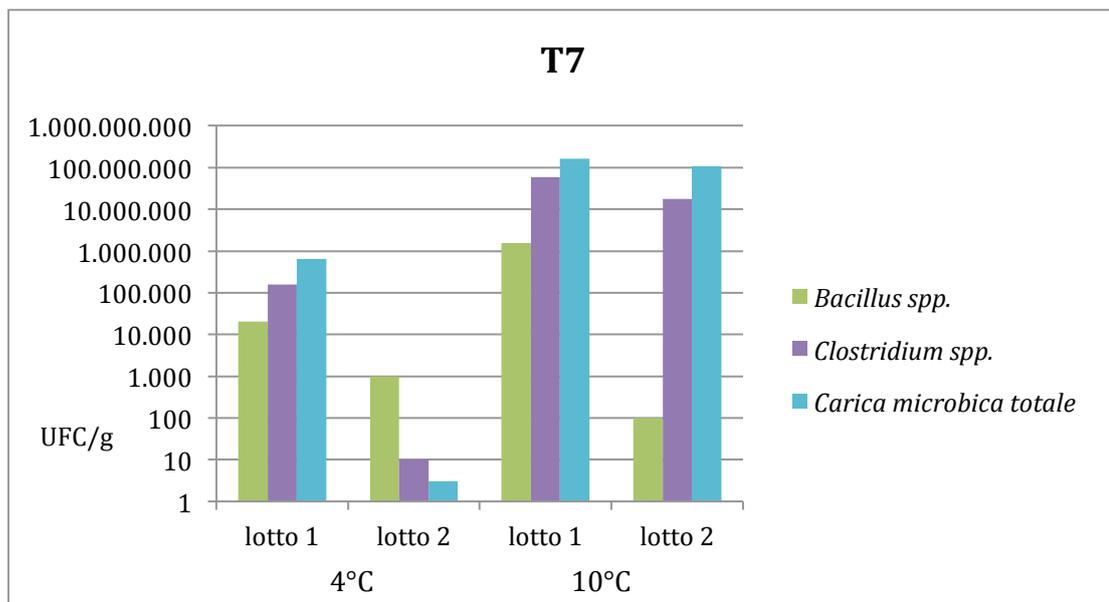


Le analisi microbiologiche di questa seconda prova sono state eseguite su 2 lotti della dieta a base di riso e manzo, a T0, T7 e T14. A seguito dei risultati della prima prova, la *shelf-life* attesa del prodotto è stata ridotta a 10 giorni e quindi le analisi eseguite fino al 14° giorno di conservazione. I due lotti sono stati conservati sia a 4°C che a 10°C. I target ricercati sono stati Carica Microbica Totale, *Bacillus spp.* e *Clostridium spp.*

A T0 la Carica Microbica Totale è risultata molto bassa in entrambi i lotti, con valori di 1 log nel lotto 1 e di 2 log nel lotto 2. *Bacillus spp.* e *Clostridium spp.*, invece, non si sono sviluppati al tempo T0.

Dopo soli 7 giorni però, come si può vedere nella Figura 4.26, le cariche microbiche sono notevolmente aumentate, con valori attorno ai 2-4 log per i prodotti conservati a 4°C e fino a 7-8 log per quelli conservati a 10°C.

Figura 4.26
Conte microbiche a T7 – Prova 2



Il forte sviluppo della carica microbica presente nel prodotto conservato a 10°C si è potuta notare anche dal bombaggio delle confezioni, che è iniziato dopo 7 giorni di conservazione.

Come ci si poteva aspettare, a T14 tutti i terreni sono risultati molto contaminati, con cariche attorno ai 7-8 log, sia a 4°C che a 10°C (Figura 4.27 e 4.28).

Figura 4.27
Conte microbiche a T14 – Prova 2

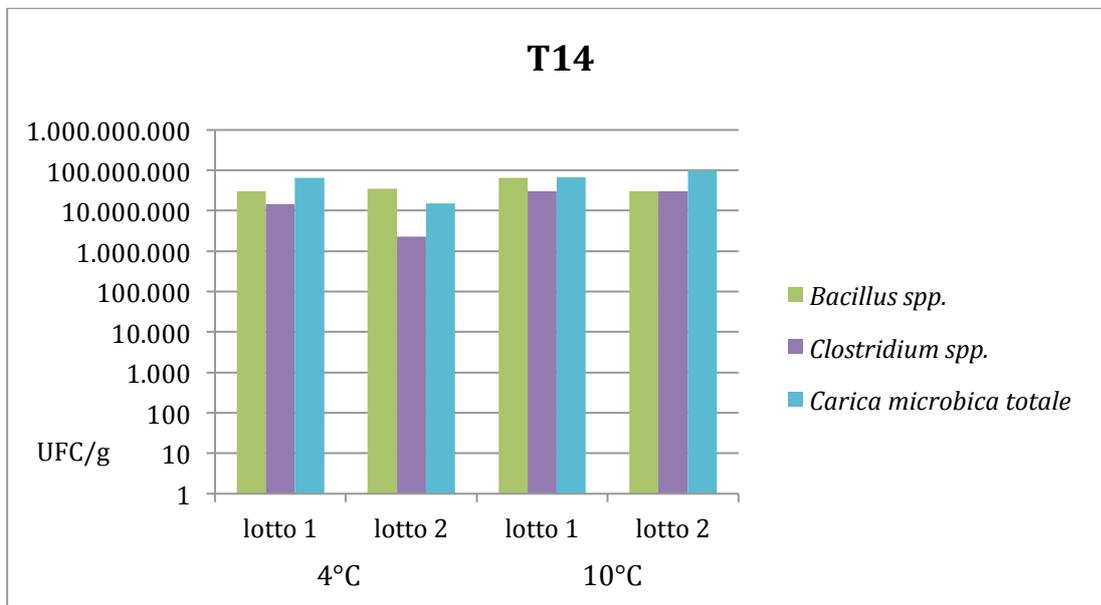
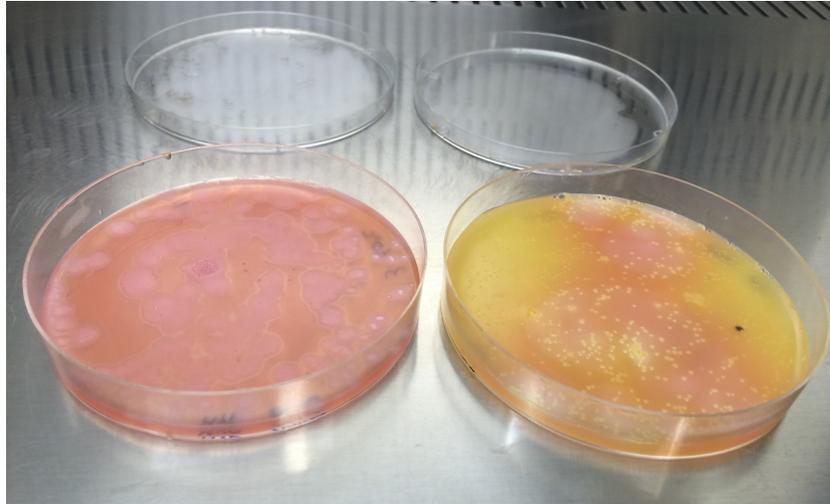


Figura 4.28
Colonie cresciute su terreni MYP a T14 - Prova 2



Questa seconda prova ha mostrato come il trattamento termico effettuato sul campione sia risultato sufficiente solo per eliminare la carica batterica iniziale (flora vegetativa), data appunto dalle forme vegetative. La notevole crescita riscontrata a T7 e a T14 è quindi dovuta alla presenza di batteri sporigeni, le cui spore riescono a sopravvivere al trattamento termico di cottura.

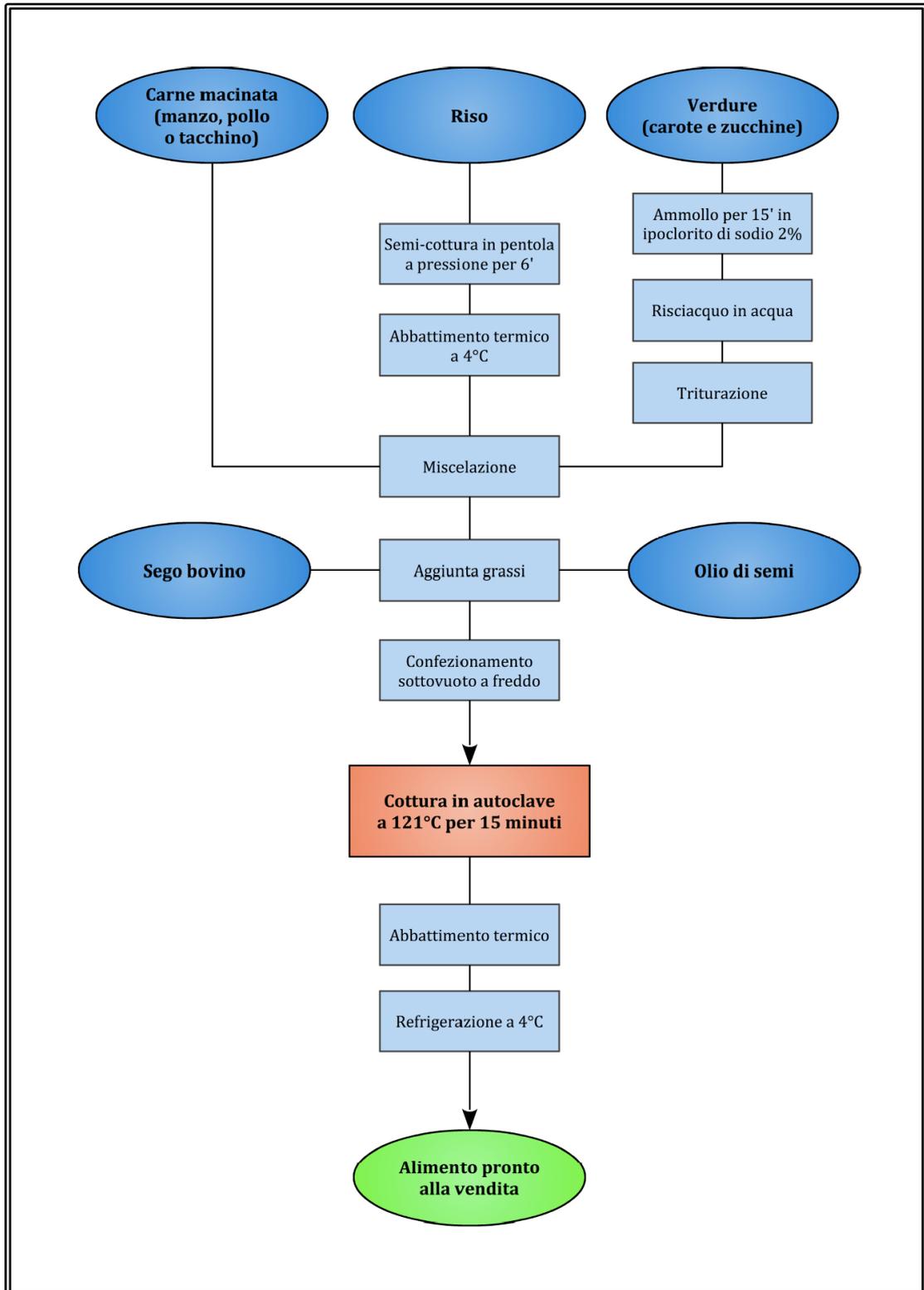
La cottura in forno a vapore è risultata quindi essere insufficiente per ottenere una efficace riduzione della contaminazione del prodotto. Si è quindi deciso di effettuare una terza prova utilizzando temperature e tempi di cottura molto superiori a quelli adottati nella Prova 2, raggiungibili grazie alla cottura in autoclave e a particolari sacchetti termoresistenti.

4.2.3 PROVA 3

Prima di eseguire la terza prova sono state effettuate delle prove preliminari per valutare la fattibilità della cottura in autoclave a 121°C per 15 minuti. Il rischio, infatti, era che il materiale di confezionamento non sopportasse le alte temperature andando incontro a rottura e che gli ingredienti non mantenessero un aspetto gradevole agli occhi dell'acquirente. A seguito di queste prove, si è deciso di sostituire le vaschette di polipropilene con delle confezioni più resistenti alle alte temperature (sacchetti di poliammide/polietilene), di utilizzare riso semicotto per ottenere la corretta cottura del cereale (esso completerà la cottura in autoclave, sfruttando l'acqua rilasciata dalle verdure) e di sostituire il 90% dell'olio con sego bovino, per evitare un eccesso di liquidi nella confezione.

Il primo step di preparazione del prodotto consiste nella disinfezione delle verdure in ipoclorito di sodio al 2% (ammollo per 15 minuti), risciacquo con acqua e triturazione. Il riso, invece di essere cotto completamente, è stato cotto solo parzialmente in pentola a pressione per 6-7 minuti. A questo punto la carne, già macinata, è stata miscelata con le verdure, il riso, l'olio di semi e il sego di bovino. L'alimento così composto è stato quindi confezionato sottovuoto in sacchetti di poliammide/polietilene e cotto in autoclave a **121°C per 15 minuti**. Dopo la cottura, l'alimento è stato abbattuto termicamente a 4°C. (Figura 4.29)

Figura 4.29
 Diagramma di flusso Prova 3



Le analisi microbiologiche sono state eseguite su 4 lotti differenti, corrispondenti a 4 cotture indipendenti. Il prodotto è stato conservato a 4°C e a 10°C. Delle specie batteriche ricercate, la Carica Microbica Totale (su terreno PCA), *Bacillus spp.* (su terreno selettivo MYP) e *Clostridium spp.* (su terreno selettivo ISA) sono stati analizzati a T0, T3, T7, T10 e T14 mentre Enterobatteriacee (su terreno VRBG) e Stafilococchi (su terreno BP) sono stati ricercati solo a T14. Questi target microbici, infatti, sono esclusivamente dati dalle forme vegetative che in caso di stress termico necessitano di un tempo di adattamento. Per tale motivo è stato utile verificare l'assenza di questi potenziali agenti contaminanti solo alla fine dell'esperimento di *shelf-life*. Per avere un'idea più completa della deperibilità del prodotto sono state eseguite anche le misure di pH, A_w e ossidazione lipidica a T0.

Durante le analisi è emerso un problema di funzionamento di una delle autoclavi, che non ha abbattuto correttamente la carica batterica del lotto 1. Il lotto 1 è quindi stato escluso dai risultati. I lotti 2, 3 e 4 sono invece stati cotti con autoclavi funzionanti, ma nonostante questo il lotto 2 è risultato più contaminato rispetto agli altri. Questi risultati possono derivare dall'utilizzo di ingredienti provenienti da lotti diversi per la produzione della dieta casalinga, ma comunque mettono in luce una criticità di fondo del prodotto, la sua deperibilità, che necessiterà quindi di una vita commerciale più breve rispetto alle aspettative del produttore.

Al tempo T0 e T3 non è stata riscontrata alcuna crescita microbica sui terreni PCA, MYP e ISA, in nessuno dei 3 lotti. Le analisi chimiche hanno rilevato dei valori medi di pH pari a 6,16, attività dell'acqua 0,9964 e TBARS 0,58. Questi dati indicano che il prodotto è deperibile e non contrasta la crescita microbica, ma vi è un minimo livello di ossidazione. Per impedire la proliferazione della maggior parte dei microrganismi, sono infatti necessari valori di pH più acidi e una A_w inferiore a 0,92. Il valore di ossidazione lipidica invece è relativamente basso in quanto il prodotto è confezionato sottovuoto (Galli Volonterio, 2005; Jay et al., 2005).

A T7, i lotti 3 e 4 non hanno mostrato crescita microbica, né a 4°C né a 10°C. Stessi risultati si sono ottenuti anche per il lotto 2 conservato a 4°C, mentre in quello

conservato a 10°C si è raggiunta una carica di *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.* e Carica Microbica Totale di 8 log.

Le conte a T10 dei campioni conservati a 10°C sono state di 5 log per i lotti 2 e 3, mentre il lotto 4 ha mantenuto una carica di 1 log. Tutti i lotti conservati a 4°C hanno mostrato una carica di 1 log.

A T14 il lotto 2 ha raggiunto una Carica Microbica Totale di 6 log nel campione a 10°C. Negli altri lotti e a 4°C, le cariche si sono mantenute basse, attorno a 1-2 log. A T14 in nessun lotto si sono sviluppati Enterobatteriacee nè Stafilococchi.

L'andamento della Carica Microbica Totale della dieta a base di riso e manzo della Prova 3 a 4°C e 10° C viene descritta nelle Figure 4.30 e 4.31.

Figura 4.30
Andamento Carica Microbica Totale a 4°C - Prova 3

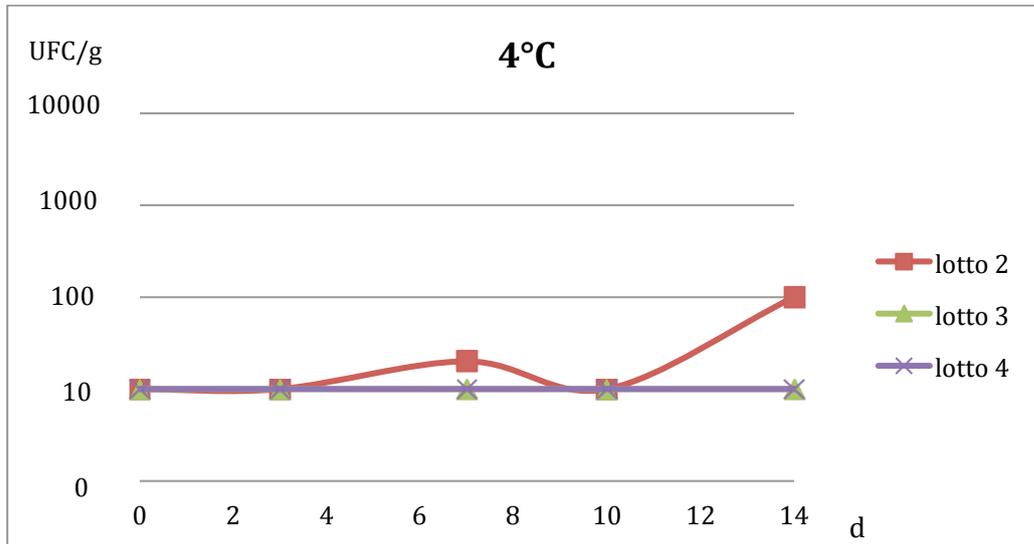
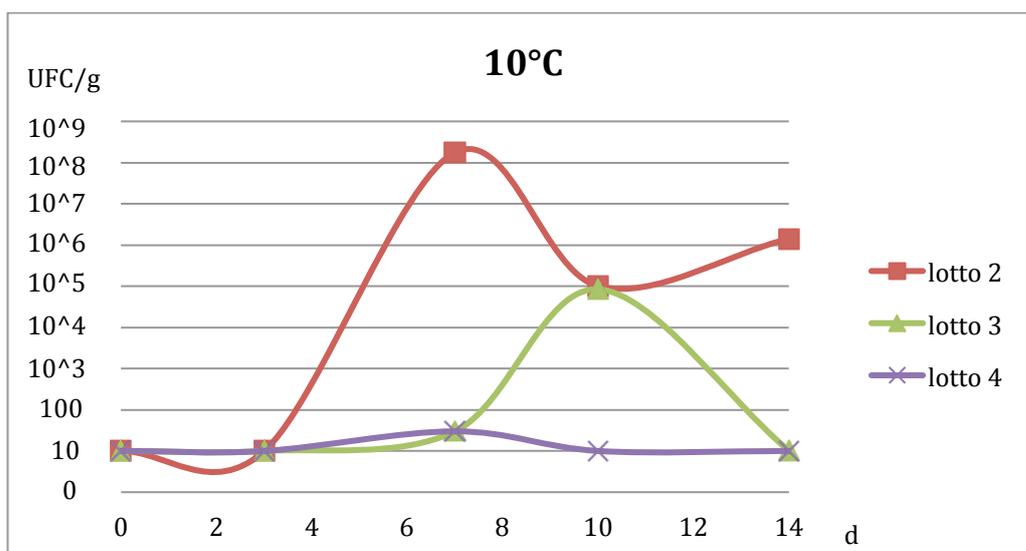


Figura 4.31
Andamento Carica Microbica Totale a 10°C - Prova 3



Per poter determinare la *shelf-life* di un prodotto, è necessario creare dei modelli predittivi di crescita microbica, utilizzando i dati sperimentali ottenuti dalle analisi laboratoristiche. Le Figure 4.32 e 4.33 mostrano la curva di crescita della Carica Microbica Totale, determinata utilizzando i dati della dieta a base di riso e manzo ottenuti nella Prova 3 rispettivamente a 4°C e a 10°C.

Figura 4.32
Curva di crescita della Carica Microbica Totale a 4°C - Prova 3

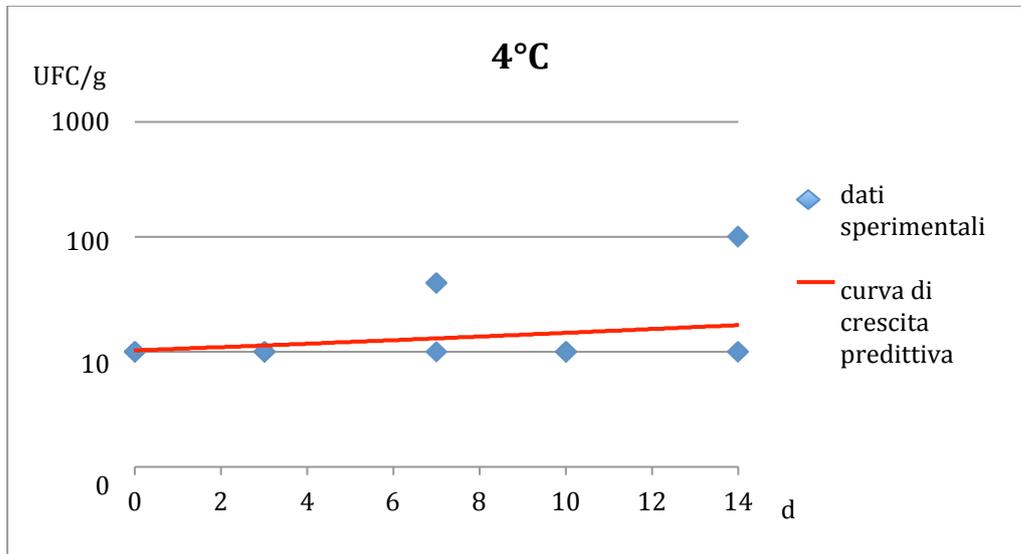
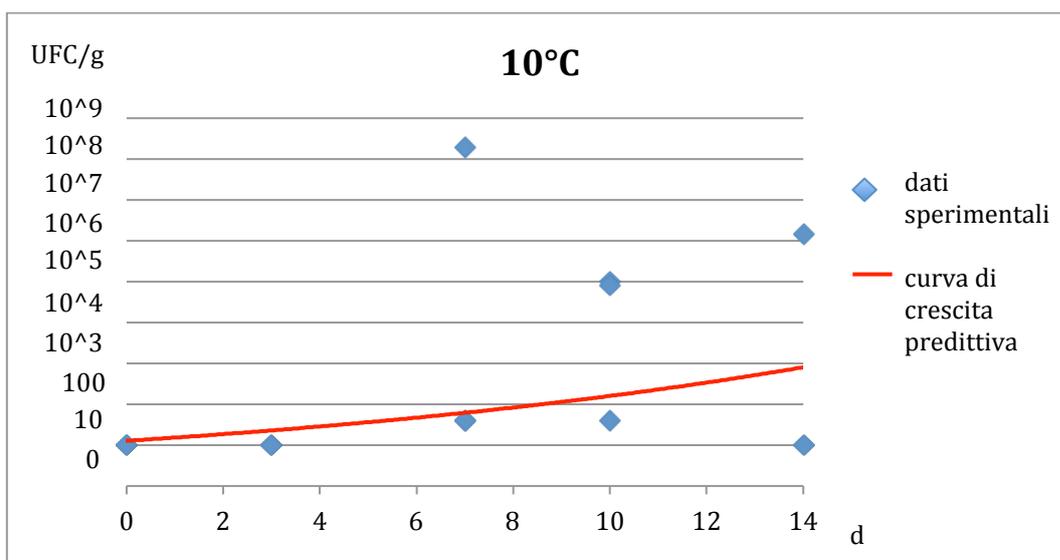


Figura 4.33
Curva di crescita della Carica Microbica Totale a 10°C - Prova 3



Dalle curve di crescita microbica si può notare che il valore soglia di 4 log non viene mai raggiunto dai campioni conservati a 4°C, né dalla curva predittiva né dai dati sperimentali. Per quel che riguarda, invece, il prodotto conservato in abuso termico a 10°C, l'ampia eterogeneità dei lotti studiati porta ad una curva predittiva di crescita microbica che non raggiunge i 4 log all'interno dei 14 giorni, ma valutando i dati sperimentali si ha il superamento di questo limite dopo 7 giorni di conservazione. Risulta quindi molto importante indicare sulla confezione del prodotto che questo deve essere mantenuto in condizioni di stretta refrigerazione a 0-4°C durante il periodo di conservazione.

5

CONCLUSIONI

Dai dati raccolti attraverso il questionario online sulle abitudini alimentari e gestionali di cani e gatti è emerso che la maggior parte dei proprietari cerca un alimento per il proprio pet che sia bilanciato, equilibrato e sano e che, allo stesso tempo, sia comodo, pratico e veloce da somministrare.

Da un lato, il prodotto commerciale soddisfa le richieste di praticità e bilanciamento dell'alimento, dall'altro la dieta casalinga permette ai proprietari di conoscere esattamente gli ingredienti presenti nell'alimento, con la certezza di non somministrare ai propri cani e gatti additivi e conservanti.

L'alimento da noi prodotto fonde i punti di forza di entrambe le diete: si tratta, infatti, di una dieta che contiene esclusivamente alimenti ad uso umano, priva di additivi, bilanciata e pronta per essere somministrata.

La soddisfazione delle richieste espresse dai proprietari ci porta a pensare che il prodotto possa riscontrare un feedback positivo quando sarà immesso sul mercato. E' possibile ipotizzare che il principale acquirente sarà il proprietario di cani di piccola/media taglia, perché il costo si aggirerà attorno ai 6-7€/kg (prezzo paragonabile a quello di alimenti commerciali umidi di alta qualità) ed essendo un alimento umido, le quantità di alimento da somministrare sono decisamente superiori a quelle di un alimento secco.

La ricerca del processo produttivo più opportuno per ottenere un'adeguata *shelf-life* del prodotto ha permesso di mettere in evidenza i suoi punti deboli che dovranno quindi essere controllati in fase di produzione: le materie prime dovranno essere di ottima qualità e scarsa carica microbica iniziale, le manipolazioni degli ingredienti dovranno avvenire nel modo più accurato possibile, gli utensili e le superfici di lavoro dovranno essere sanificate regolarmente, la catena del freddo (4°C) dovrà essere mantenuta sia per le materie prime che per il prodotto finito.

Come si è potuto osservare dai risultati finali, l'attuazione degli accorgimenti sopra riportati e la cottura in autoclave a 121°C per 15 minuti ha permesso di ottenere una *shelf-life* di 10 giorni in condizioni di stretta refrigerazione (0-4°C). Si può però ipotizzare che la sua conservabilità possa essere anche superiore, se si considera che il valore di sicurezza per il consumatore (carica microbica inferiore ai 4 log) non è mai stato raggiunto durante lo studio. Per poter dare al prodotto una vita commerciale più ampia, risulterà quindi necessario svolgere ulteriori analisi prolungandole oltre i 14 giorni.

6

ALLEGATI

ALIMENTAZIONE CASALINGA E COMMERCIALE: INDAGINE SULLE ABITUDINI ALIMENTARI E GESTIONALI DI CANI E GATTI

I dati che verranno ricavati dalla compilazione di questo questionario saranno oggetto di una tesi di laurea in Medicina Veterinaria.
La ringrazio per la preziosa collaborazione!

***Campo obbligatorio**

PARTE 1: Informazioni sull'animale

1. Specie: *
(una sola risposta)
 - cane
 - gatto

2. Razza: *
(una sola risposta)
 - Meticcio (cane)
 - Europeo (gatto)
 - Altro: _____

3. Taglia (per i proprietari di cani):
(una sola risposta)
 - piccola
 - media
 - grande
 - gigante

4. Sesso: *
(una sola risposta)
 - Maschio
 - Femmina

5. Età: *
(in mesi)

6. Peso: *
(in kg)

7. L'animale è sterilizzato/castrato? *
(una sola risposta)

- Sì
- No

8. Come valuta la condizione corporea del suo cane/gatto? *
(una sola risposta)

- Molto magro
- Leggermente magro
- Ideale
- Leggermente sovrappeso
- Obeso

9. Quanto giudica attivo il suo animale? *
(una sola risposta)

- Inattivo
- Poco attivo
- Moderatamente attivo
- Molto attivo

10. Dove vive il cane/gatto? *
(una sola risposta)

- In casa/appartamento
- Libero tra casa/appartamento e giardino
- E' sempre fuori casa (giardino/terrazzo)
- Altro: _____

11. L'ultima volta che si è recato dal Veterinario è stato per: *
(una sola risposta)

- Controllo sullo stato di salute generale dell'animale
- Vaccinazione
- Visita specialistica
- Intervento chirurgico

12. Se è stato dal Veterinario per una visita specialistica/intervento chirurgico indichi il problema/malattia dell'animale:

PARTE 1 bis:

Informazioni sull'animale per proprietari di cani

(i proprietari di gatti passano alla Parte 2)

13. Indicare il tipo di attività fisica svolta quotidianamente fuori casa con il proprietario o un altro accompagnatore: *
- (una sola risposta)
- Nessuna perché è in giardino tutto il giorno
 - Passeggiata semplice (al passo normale)
 - Passeggiata rapida (passo sostenuto)
 - Corsa
 - Andiamo in un parco e lì viene liberato per esplorare l'ambiente in libertà
14. Tempo dedicato all'attività fisica con proprietario o altro accompagnatore in un giorno:
- (in minuti)
- _____
15. Svolge attività sportiva particolare (agility, obedience, riporto, ecc)? *
- (una sola risposta)
- Sì
 - No
16. Se SÌ, quale?
- _____
17. Se SÌ, quante volte alla settimana?
- _____
18. Se SÌ, quante ore per settimana?
- _____
19. Il cane viene utilizzato per la caccia? *
- (una sola risposta)
- Sì
 - No
20. Se SÌ, per quanti mesi all'anno?
- _____

PARTE 2:
Informazioni sulla gestione dell'animale

21. Il proprietario dell'animale è un: *
- (una sola risposta)
- Allevatore
 - Privato
 - Studente di Medicina Veterinaria
22. Provincia di residenza: *
- _____
23. Che animali ha in casa? *
- (possibile più di una risposta)
- Cane
 - Gatto
 - Criceto
 - Coniglio
 - Furetto
 - Altro: _____
24. Chi si occupa PRINCIPALMENTE dell'alimentazione dell'animale in casa? *
- (una sola risposta)
- Il/La sottoscritto/a
 - Mia madre/mio padre
 - Mio figlio/figlia
 - Il mio partner
 - Altro: _____
25. In che fascia d'età rientra la persona che si occupa più frequentemente dell'alimentazione dell'animale? *
- (una sola risposta)
- < 10
 - 10 - 20
 - 21 - 30
 - 31 - 40
 - 41 - 50
 - 51 - 60
 - > 60

26. Che tipo di dieta fornisce al suo animale? *

(una sola risposta)

- Alimento commerciale secco (crocchette)
- Alimento commerciale umido (scatolette)
- Alimento commerciale secco + umido
- Dieta casalinga cucinata appositamente per l'animale
- Misto: alimento commerciale + dieta casalinga
- L'animale mangia quello che mangiamo noi (avanzi)

27. Principalmente a chi si è affidato per la scelta dell'alimentazione? *

(una sola risposta)

- Medico Veterinario
- Addestratore
- Allevatore/persona che le ha venduto l'animale
- Giornali/riviste
- Amici/conoscenti
- Negoziante di alimenti per animali
- Internet
- Altro: _____

28. Quali prodotti utilizza per ricompensare il suo animale durante la giornata?

*

(una sola risposta)

- Nulla
- Biscotti/crocchette premio per cani (o gatti)
- Prodotti masticabili per denti
- Alimenti ad uso umano (es. pezzi di prosciutto/salumi, pezzi di formaggio, frutta, verdura)
- Altro: _____

29. Se usa prodotti per ricompensare l'animale, indichi la quantità fornita giornalmente al cane/gatto:

(in grammi)

30. Utilizza degli integratori alimentari? *
(una sola risposta per riga)

	Si	No
Vitamine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minerali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Integratori per cute e pelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Integratori a sostegno delle articolazioni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pasta per espulsione palle di pelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

31. Con quale frequenza fornisce gli integratori?
(es. 2 volte al giorno; 1 volta a settimana, ecc.)

32. Numero di pasti giornalieri: *
(una sola risposta)

- 1
- 2
- 3
- 4
- > 4

PARTE 3/a

Informazioni sull'alimentazione

per i proprietari che forniscono **esclusivamente alimento commerciale**

33. Se lo ricorda, indichi la marca e il nome dell'alimento commerciale che utilizza:

34. Qual è il vantaggio PRINCIPALE che la spinge ad alimentare il suo cane/gatto con una dieta commerciale?

35. Qual è il PRINCIPALE criterio di selezione dell'alimento commerciale per il suo animale? *

(una sola risposta)

- Costo
- Marca
- Leggo l'etichetta del prodotto
- Deve piacere all'animale
- "Gusto" dell'alimento (es. all'agnello, al pollo)
- Altro: _____

36. Cosa valuta come PRINCIPALE criterio di selezione quando legge l'etichetta dell'alimento? *

(una sola risposta)

- Non leggo mai l'etichetta perché mi fido del prodotto che acquisto
- Non leggo mai l'etichetta perché non so interpretarla
- Carne al primo posto nella lista degli ingredienti
- NO cereali/basso contenuto di cereali
- NO soia
- NO prodotti OGM
- Ingredienti "human grade" (idonei al consumo umano)
- NO additivi (conservanti, coloranti, antiossidanti sintetici, ...)
- NO sottoprodotti
- Deve essere un prodotto BIO
- Altro: _____

37. Ha mai pensato di utilizzare una dieta casalinga per il suo animale? *
(una sola risposta)

- Sì
 No

38. Utilizzerei la dieta casalinga per le seguenti ragioni: *
(indichi se si trova d'accordo o meno con le seguenti affermazioni)
(una sola risposta per riga)

	Sono d'accordo	Non sono d'accordo
Conoscenza degli ingredienti contenuti nella dieta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Non contiene additivi/conservanti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minor costo rispetto alle diete commerciali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Il cane/gatto preferisce la dieta casalinga rispetto all'alimento commerciale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mi fa piacere cucinare per il mio cane/gatto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
È un modo per non gettare gli avanzi del pasto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

39. NON utilizzerei la dieta casalinga per le seguenti ragioni: *
(indichi se si trova d'accordo o meno con le seguenti affermazioni)
(una sola risposta per riga)

	Sono d'accordo	Non sono d'accordo
Richiede molto tempo di preparazione	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Richiede troppo impegno giornaliero	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Impossibilità di lasciare il cane/gatto ad altri (es. se si va in vacanza)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Costi più elevati rispetto alle diete commerciali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Difficoltà di bilanciamento della dieta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Il cane/gatto preferisce l'alimento commerciale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

40. Qual è lo svantaggio PRINCIPALE di un'alimentazione commerciale? *

PARTE 3/b

Informazioni sull'alimentazione

per i proprietari che forniscono **dieta casalinga cucinata appositamente per l'animale**

41. La dieta casalinga che fornisce al suo animale le è stata consigliata da un Medico Veterinario? *

(una sola risposta)

- Sì
- No

42. Gli ingredienti che compongono la dieta casalinga per il suo cane/gatto le sono stati indicati dal Veterinario? *

(una sola risposta)

- Sì
- No

43. La quantità degli ingredienti che compongono la dieta casalinga per il suo cane/gatto le sono stati indicati dal Veterinario? *

(una sola risposta)

- Sì
- No

44. Se la dieta contiene carne, cucina la carne prima di darla all'animale? *

(una sola risposta)

- Sì
- No

45. Il suo cane/gatto mangia ossa con la dieta casalinga? *

(una sola risposta)

- Sì
- No

46. Indichi quali ingredienti utilizza per la dieta: *

47. Qual è stato il motivo PRINCIPALE che l'ha spinto ad alimentare il suo animale con una dieta casalinga? *

48. Quali sono i 3 motivi PRINCIPALI per cui lei consiglierebbe un'alimentazione casalinga per il proprio cane/gatto? *
 (indichi 1 per la motivazione più importante, 2 per la seconda scelta, 3 per la terza scelta. Indichi NO per i motivi meno importanti)
 (una sola risposta per riga)

	1°	2°	3°	NO
Conoscenza degli ingredienti contenuti nella dieta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Non contiene additivi/conservanti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minor costo rispetto alle diete commerciali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
L'animale la preferisce di gran lunga rispetto all'alimento commerciale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cucinare per il proprio cane/gatto rinforza la relazione con il proprietario	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
È molto utile nel caso di problemi di salute del cane/gatto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
È un modo per non gettare gli avanzi del pasto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

49. Qual è la maggiore difficoltà incontrata nell'alimentazione casalinga del suo cane/gatto? *

PARTE 3/c

Informazioni sull'alimentazione

per i proprietari che forniscono **dieta mista (commerciale + casalinga)**

50. Se lo ricorda, indichi la marca e il nome dell'alimento commerciale che utilizza:

51. Qual è il vantaggio PRINCIPALE che la spinge ad alimentare il suo cane/gatto con una dieta mista? *

52. Qual è il PRINCIPALE criterio di selezione dell'alimento commerciale per il suo animale? *

(una sola risposta)

- Costo
- Marca
- Leggo l'etichetta del prodotto
- Deve piacere all'animale
- "Gusto" dell'alimento (es. all'agnello, al pollo)
- Altro: _____

53. Cosa valuta come PRINCIPALE criterio di selezione quando legge l'etichetta dell'alimento? *

(una sola risposta)

- Non leggo mai l'etichetta perché mi fido del prodotto che acquisto
- Non leggo mai l'etichetta perché non so interpretarla
- Carne al primo posto nella lista degli ingredienti
- NO cereali/basso contenuto di cereali
- NO soia
- NO prodotti OGM
- Ingredienti "human grade" (idonei al consumo umano)
- NO additivi (conservanti, coloranti, antiossidanti sintetici, ...)
- NO sottoprodotti
- Deve essere un prodotto BIO
- Altro: _____

54. Ha mai pensato di utilizzare SOLO una dieta casalinga per il suo animale? *
(una sola risposta)

- Sì
 No

55. Utilizzerei solo la dieta casalinga per le seguenti ragioni: *
(indichi se si trova d'accordo o meno con le seguenti affermazioni)
(una sola risposta per riga)

	Si	No
Conoscenza degli ingredienti contenuti nella dieta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Non contiene additivi/conservanti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minor costo rispetto alle diete commerciali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Il cane/gatto preferisce la dieta casalinga rispetto all'alimento commerciale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mi fa piacere cucinare per il mio cane/gatto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
È un modo per non gettare gli avanzi del pasto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

56. NON utilizzerei solo la dieta casalinga per le seguenti ragioni: *
(indichi se si trova d'accordo o meno con le seguenti affermazioni)
(una sola risposta per riga)

	Si	No
Richiede molto tempo di preparazione	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Richiede troppo impegno giornaliero	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Impossibilità di lasciare il cane/gatto ad altri (es. se si va in vacanza)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Costi più elevati rispetto alle diete commerciali	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Difficoltà di bilanciamento della dieta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Il cane/gatto preferisce l'alimento commerciale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

57. Qual è lo svantaggio PRINCIPALE di un'alimentazione commerciale? *

58. La componente casalinga che fornisce al suo animale le è stata consigliata da un Medico Veterinario? *

(una sola risposta)

- Sì
 No

59. Se la dieta contiene carne, cucina la carne prima di darla all'animale? *
(una sola risposta)

- Sì
- No

60. Il suo cane/gatto mangia ossa con la dieta casalinga? *
(una sola risposta)

- Sì
- No

61. Indichi quali ingredienti utilizza per la dieta casalinga: *

HOME-MADE AND COMMERCIAL FOOD: SURVEY ON THE EATING AND MANAGEMENT HABITS OF DOGS AND CATS

The data that will be obtained by filling out this questionnaire will be the subject of a thesis in Veterinary Medicine.
Thank you for your invaluable help!

***Required**

PART 1: Information on the pet

1. Species: *

(only one response)

dog

cat

62. Breed: *

(only one response)

Half-breed (dog)

European/Half-breed (cat)

Other: _____

63. Size (for the dog owners):

(only one response)

small

medium

large

giant

64. Gender: *

(only one response)

Male

Female

65. Age: *

(months)

66. Weight: *
(kg)

67. Is the pet sterilized/castrated? *
(only one response)

- Yes
- No

68. How would you describe the physical condition of your dog/cat? *
(only one response)

- Very lean
- Slightly lean
- Ideal
- Slightly overweight
- Obese

69. How active do you consider your pet? *
(only one response)

- Inactive
- Not much active
- Moderately active
- Very active

70. Where does the cat/dog live? *
(only one response)

- Indoors
- Free inside the house/apartment and garden
- Always outside the house (garden/terrace)
- Other: _____

71. Reason of your last visit to your Vet: *
(only one response)

- Check on the general health status of the pet
- Vaccination
- Specialist visit
- Surgery

72. If you answered specialist/surgery to the previous question, please indicate the problem/disease affecting the pet:

PART 1 bis:

Information on the pet for the dog owners

(the cat owners pass to Part 2)

73. Indicate the type of physical activity performed daily by the animal out of the house with the owner or other persons: *

(only one response)

- None because it spends all day in the garden
- Easy walk (at normal pace)
- Quick walk (fast pace)
- Running
- We go to a park and there it is freed to explore the environment in freedom

74. Time spent daily on physical activities with the owner or other persons: (minutes)

75. Does the pet perform any particular sport activity (agility, obedience, retrieving, etc)? *

(only one response)

- Yes
- No

76. If YES, which one?

77. If YES, how many times a week?

78. If YES, how many hours a week?

79. Is the dog used for hunting? *

(only one response)

- Yes
- No

80. If YES, how many months a year?

PART 2:

Information on the management of the pet

81. The owner of the pet is a: *

(only one response)

- Breeder
- Private
- Student of Veterinary Medicine

82. State and City of residence: *

83. What animals do you have at home? *

(can more than one response)

- Dog
- Cat
- Hamster
- Rabbit
- Ferret
- Other: _____

84. Who takes care of feeding the pet MAINLY in the house? *

(only one response)

- Myself
- My parents
- My children
- My partner
- Other: _____

85. In which age group is the person who takes care of the pet nutrition more frequently? *

(only one response)

- < 10
- 10 - 20
- 21 - 30
- 31 - 40
- 41 - 50
- 51 - 60
- > 60

86. What kind of diet does your pet follow? *

(only one response)

- Commercial dry food (kibble)
- Commercial wet food (in gravy)
- Commercial dry + wet food
- Home-made food cooked specially for the pet
- Mixed: commercial food + home-cooked food
- The pet eats what we eat (leftovers)

87. Who did you consult mainly to choose your pet's diet? *

(only one response)

- Veterinary Doctor
- Trainer
- Breeder/Person who sold you the pet
- Magazines
- Friends/Acquaintances
- Retailer of the pet food
- Internet
- Other: _____

88. What products do you use to reward your dog/cat during the day? *

(only one response)

- Nothing
- Biscuits/kibble for dogs (or cats)
- Chewable products for teeth
- Food for human use (e.g. pieces of ham/sausage, pieces of cheese, fruit, vegetables)
- Other: _____

89. If you are using products to reward the animal, indicate an approximate amount provided daily to the dog/cat:

(grams)

90. Do you give dietary supplements to your cat/dog? *
(only one response per row)

	Yes	No
Vitamins	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Minerals	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Supplements for skin and coat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Supplements in support of joints	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cream for expulsion of hairballs	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

91. How often do you provide supplements?
(e.g. twice a day, 1 time per week etc.)

92. Number of daily meats: *
(only one response)

- 1
- 2
- 3
- 4
- > 4

PART 3/a

Information on nutrition

for the owners who provide **exclusively commercial food**

93. If you can recall it, please indicate the brand name of the commercial food used by your pet:

94. What is the MAIN advantage that convinced you to feed your dog/cat with a commercial diet?

95. What is the MAIN selection criterion of the commercial food for your pet? *
(only one response)

- Cost
- Brand
- I read the product label
- The pet must like it
- "Taste" of the food (e.g. lamb, chicken)
- Other: _____

96. What do you consider as PRIMARY selection criterion when you read the food label? *

(only one response)

- I never read the label because I trust the product that I purchase
- I never read the label because I don't know how to interpret it
- Meat in first place in the list of ingredients
- NO grain/cereal (or low content)
- NO soy
- NO GMO products
- "Human grade" ingredients (fit for human consumption)
- NO additives (preservatives, dyes, synthetic antioxidants, ...)
- NO by-products
- It must be an organic product
- Other: _____

97. Have you ever thought of using a home-made diet for your pet? *
(only one response)

- Yes
- No

98. I would use the home-made diet for the following reasons: *
(indicate whether you agree or disagree with the following statements)
(only one response per row)

	Yes	No
Knowledge of the ingredients contained in the diet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It contains no additive/preservatives	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lower cost compared to commercial diets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
The dog/cat prefers the home-made diet compared with the commercial	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I enjoy to cooking for my dog/cat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It avoids throwing food leftovers	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

99. I would NOT use the home-made diets for the following reasons: *
(indicate whether you agree or disagree with the following statements)
(only one response per row)

	Yes	No
It requires a long preparation time	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It requires too much daily commitment	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It would make impossible to leave the dog/cat with someone else (e.g. if you go on vacation)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Higher costs than the commercial diets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Difficulty of balancing the diet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
The dog/cat prefers the commercial food	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

100. What is the MAIN disadvantage in using a commercial food? *

PART 3/b

Information on nutrition

for the owners who provide **home-made food cooked specially for the pet**

101. Was the home-made diet you provide to your pet been advised by a Vet? *

(only one response)

Yes

No

102. Were the ingredients that make up the home-made diet for your dog/cat indicated by a Vet? *

(only one response)

Yes

No

103. Were the quantities of ingredients that make up the home-made diet for your dog/cat indicated by a Vet? *

(only one response)

Yes

No

104. If the diet contains meat, do you cook the meat before giving it to the pet? *

(only one response)

Yes

No

105. Does your dog/cat eat bones with the home-made diet? *

(only one response)

Yes

No

106. Please indicate what ingredients you use for the diet: *

107. What was the MAIN reason that prompted you to feed your pet with a home-made diet? *

108. What are the 3 MAIN reasons you would recommend home-made diet for your dog/cat? *
 (indicate 1 for the most important reason, 2 for the second choice, 3 for the third choice. Indicate NO for the reasons you consider less important)
 (only one response per row)

	1°	2°	3°	NO
Knowledge of the ingredients contained in the diet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It contains no additives/preservatives	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lower cost compared to commercial diets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
The animal prefers it compared with the commercial food	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cooking for your dog/cat strengthens the relationship with the owner	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It is very useful in case of health problems dog/cat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It avoid throwing food leftovers	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

109. What is the biggest complication of feeding your dog/cat with a home-made diet? *

PART 3/c**Information on nutrition**

for the owners who provide **mixed diet (commercial food + home-made food)**

110. If you can recall it, please indicate the brand name of the commercial food you use:

111. What is the MAIN advantage that prompts you to feed your pet with a mixed diet? *

112. What s the MAIN selection criterion of the commercial food for your pet? *

(only one response)

- Cost
- Brand
- I read the product label
- The pet must like it
- "Taste" of the food (e.g. lamb, chicken)
- Other: _____

113. What do you consider as PRIMARY selection criterion when you read the food label? *

(only one response)

- I never read the label because I trust the product that I purchase
- I never read the label because I don't know how to interpret it
- Meat in first place in the list of ingredients
- NO grain/cereal (or low content)
- NO soy
- NO GMO products
- "Human grade" ingredients (fit for human consumption)
- NO additives (preservatives, dyes, synthetic antioxidants, ...)
- NO by-products
- It must be an organic product

Other: _____

114. Have you ever thought of using ONLY a home-made diet for your pet? *
 (only one response)
 Yes
 No

115. I would use only the home-made diet for the following reasons: *
 (indicate whether you agree or disagree with the following statements)
 (only one response per row)

	Yes	No
Knowledge of the ingredients contained in the diet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It contains no additives/preservatives	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lower cost compared to commercial diets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
The dog/cat prefers the home-made diet compared with the commercial	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
I enjoy cooking for my dog/cat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It avoids throwing food leftovers	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

116. I would NOT use only the home-made diet for the following reasons: *
 (indicate whether you agree or disagree with the following statements)
 (only one response per row)

	Yes	No
It requires a long preparation time	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It requires too much daily commitment	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
It would make impossible to leave the dog/cat with someone else (e.g. if you go on vacation)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Higher costs than the commercial diets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Difficulty of balancing the diet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
The dog/cat prefers the commercial food	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

117. What is the MAIN disadvantage in using a commercial food? *

118. Was the home-made part of the diet you provide to your pet been advised by a Vet? *

(only one response)

Yes

No

119. If the diet contains meat, do you cook the meat before giving it to the pet? *

(only one response)

Yes

No

120. Does your dog/cat eat bones with the home-made diet? *

(only one response)

Yes

No

121. Indicate what ingredients you use for the diet: *

7

BIBLIOGRAFIA

1. **Assalco - Zoomark**, 2015. Alimentazione e cura degli animali da compagnia.
2. **Auricchio B.**, 2009. Clostridi patogeni degli alimenti. Istituto Superiore di Sanità, Centro nazionale di riferimento per il botulismo.
3. **Barbosa-Cánovas G. V., Fontana Jr. A. J., Schmidt S. J., Labuza T. P.**, 2007. Water activity in Foods: Fundamentals and Applications. Wiley-Blackwell. Oxford, UK.
4. **Bone D. P., Shannon E. L.**, 1977. Process for making a dry pet food having a hard component and a soft component. Brevetto n. US4006266 A.
5. **Brazis P., Serra M., Sellés A., Dethioux F., Biourge V., Puigdemont A.**, 2008. Evaluation of storage mite contamination of commercial dry dog food - Abstract. *Veterinary Dermatology*; Volume 19, n.4: 209-214.
6. **Buckley C., Colyer A., Skrzywanek M., Jodkowska K., Kurski G., Gawor J., Ceregrzyn M.**, 2011. The impact of home-prepared diets and home oral hygiene on oral health in cats and dogs. *British Journal of Nutrition*; Volume 106: S124-S127.
7. **Burns P.**, 2008. A brief history of dog food. [online] <http://terriermandotcom.blogspot.it/2004/09/history-of-dog-food.html>
8. **Byrne B, Dunne G, Bolton D. J.**, 2006. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food microbiology*; Volume 23, n.8: 803-808.

9. **Cappelli P., Vannucchi V.**, 2005. Chimica degli alimenti. Conservazione e trasformazioni. Terza edizione. Casa editrice Zanichelli.
10. **Case L. P., Carey D. P., Hirakawa D. A., Daristotle L.**, 2000. Canine and feline nutrition. Mosby Publishing.
11. **CDC**, Centers for Disease Control and Prevention, 2013. Pet food can make pets and people sick. Pet Food and Treats: Tips for Keeping People and Pets Healthy and Safe from Salmonella. [online] <http://www.cdc.gov/features/salmonelladrypetfood/>
12. **Cellania M.**, 2013. Kibble me this: the history of dog food. [online] <http://www.neatorama.com/2013/05/20/Kibble-Me-This-The-History-of-Dog-Food/>
13. **Circolare del Ministero della Salute**, 27/09/2012. Circolare esplicativa in merito all'etichettatura dei mangimi con particolare riferimento all'etichettatura facoltativa.
14. **De Filip G.**, 2001. Recenti sviluppi di igiene e microbiologia degli alimenti. Casa editrice Tecniche Nuove.
15. **Dillitzer N., Becker N., Kienzle E.**, 2011. Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. British Journal of Nutrition; Volume 106: S53-S56.
16. **Direttiva 2000/13/CE** del Parlamento Europeo e del Consiglio del 20 marzo 2000 relativa al ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri concernenti l'etichettatura e la presentazione die prodotti alimentari, nonché la relativa pubblicità.
17. **EUFIC**, European Food Information Council, 2013. La vita commerciale degli alimenti e la sua importanza per i consumatori. Alimentazione Oggi.
18. **Faver C. A.**, 2009. Sterilization of companion animals/exploring the attitudes and behaviors of Latino students in south Texas. Journal of Applied Animal Welfare Science; Volume 12, n.4: 314-330.

19. **FDA**, Food and Drug Administration, 2010. Safe handling tips for pet foods and treats. FDA Consumer Health Information.
20. **FEDIAF**, 2011. Code of good labelling practice for pet food.
21. **FEDIAF**, 2013. Nutritional Guidelines for complete and complementary petfood for cats and dogs.
22. **Freeman L. M., Heinze C. R.**, 2012. Raw meat diets, are they worth the risk? [online]
http://sequoiavet.com/library/Deciphering_Fact_From_Fiction_-_RawMeat.pdf
23. **Galli Volonterio A.**, 2005. Microbiologia degli alimenti. Prima edizione. Casa editrice Ambrosiana.
24. **Handl S.**, 2014. The BARF trend: advantages, drawbacks and risks. Royal Canin Veterinary Focus; Volume 24, n.3: 16-23.
25. **Heinze C., Gomez F. C., Freeman L. M.**, 2012. Assessment of commercial diets and recipes for home-prepared diets recommended for dogs with cancer. Vet Med Today: Timely Topics in Nutrition. Journal of the American Veterinary Medical Association; Volume 241, n. 11: 1453-1460.
26. **Herrick R. T.**, 2014, Evaluating lipid oxidation and sensory characteristics in bacon from immunologically castrated barrows. Tesi di laurea, College of the University of Illinois at Urbana-Champaign.
27. **Hibberson C. E., Vogelnest L. J.**, 2014. Storage mite contamination of commercial dry dog food in south-eastern Australia. Australian Veterinary Journal; Volume 92, n.6: 219-224.
28. **Jay J. M., Tedesco A., Falcone P. M., Gala E., Loessner M. J., Licciardello F., Golden D. A.**, 2005. Microbiologia degli alimenti. Casa editrice Springer.

29. **Joffe D. J., Schlesinger D. P.**, 2002. Preliminary assessment of the risk of Salmonella infection in dogs fed raw chicken diets. *Canadian Veterinary Journal*, 2002; Volume 43, n.6: 441-442.
30. **Kilcast D., Subramaniam P.**, 2000. *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing.
31. **Köhler B., Stengel C., Neiger R.**, 2012. Dietary hyperthyroidism in dogs. *Journal of Small Animal Practice*; Volume 53, n.3: 182-184.
32. **Larsen J. A., Parks E. M., Heinze C. R., Fascetti A. J.**, 2012. Evaluation of recipes for homemade diets for dogs and cats with chronic kidney disease. *Vet Med Today: Timely Topics in Nutrition. Journal of the American Veterinary Medical Association*; Volume 240, n.5: 532-538.
33. **LeJeune J. T., Hancock D. D.**, 2001. Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; Volume 219, n.9: 1222-1225.
34. **McKay S. A., Farnworth M. J., Waran N. K.**, 2009. Current attitudes toward, and incidence of, sterilization of cats and dogs by caregivers (owners) in Auckland, New Zealand. *Journal of Applied Animal Welfare Science*; Volume 12, n.4: 331-344.
35. **Michel K. E.**, 2006. Unconventional diets for dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*; Volume 36, n.6: 1269-1281.
36. **Ministry for Primary Industries, New Zealand**, 2012. *How to determine the Shelf-life and Data marking of food*. New Zealand Government, Growing and Protecting New Zealand.
37. **Moss**. Home Prepared Diets for dogs and cats. All the best pet care. [online] <http://www.allthebestpetcare.com/home-prepared-diets-for-dogs-and-cats/>
38. **Nemser S. M., Doran T., Grabenstein M., McConnell T., McGrath T., Pamboukian R., Smith A. C., Achen M., Danzeisen G., Kim S., Liu Y., Robeson S., Rosario G., McWilliams Wilson K., Reimschuessel R.**

2014. Investigation of Listeria, Salmonella, and Toxigenic E.Coli in Various PetFoods. *Foodborne Pathogens and Disease*; Volume 11, n.9: 706-709.
39. **New Zealand Food Safety Authority**, 2005. A guide to calculating the Shelf Life of foods. Wellington.
 40. **Nicoli M. C.**, 2008. Metodologie di Previsione per la Shelf-Life degli Alimenti. Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Scienze degli Alimenti.
 41. **NRC**, National Research Council, 2006. Nutrient requirements of dogs and cats. The National Academy Press, Washington, D.C.
 42. **Osaili T., Griffis C. L., Martin E. M., Beard B. L., Keener A., Marcy J. A.**, 2006. Thermal inactivation studies of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Listeria monocytogenes in ready-to-eat chicken-fried beef patties. *Journal of Food Protection*; Volume 69, n.5: 1080-1086.
 43. **Papastergiadis A., Mubiru E., Van Langenhove H., De Meulenaer B.**, 2012. Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; Volume 60, n.38: 9589-9594.
 44. **Parr J. M., Remillard R. L.**, 2014. Handling alternative dietary requests from pet owners. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*; Volume 44, n.4: 667-688.
 45. **Piergiovanni L., Limbo S.**, 2010. Food Packaging: Materiali, tecnologie e soluzioni. Springer-Verlag Mailand.
 46. **Regolamento (CE) 767/2009** del Parlamento Europeo e del Consiglio del 13/07/2009 sull'immissione sul mercato e sull'uso dei mangimi, che modifica il regolamento (CE) n. 1831/2003 e che abroga le direttive 79/373/CEE del Consiglio, 80/511/CEE della Commissione, 82/471/CEE del Consiglio, 83/228/CEE del Consiglio, 93/74/CEE del

- Consiglio, 93/113/CE del Consiglio e 96/25/CE del Consiglio e la decisione 2004/217/CE della Commissione.
47. **Regolamento (CE) n. 152/2009** della Commissione del 27 gennaio 2009 che fissa i metodi di campionamento e d'analisi per i controlli ufficiali degli alimenti per gli animali.
 48. **Regolamento (UE) n. 1169/2011** del Parlamento Europeo e del Consiglio del 25 ottobre 2011 relativo alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori, che modifica i regolamenti (CE) n. 1924/2006 e (CE) n. 1925/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio e abroga la direttiva 87/250/CEE della Commissione, la direttiva 90/496/CEE del Consiglio, la direttiva 1999/10/CE della Commissione, la direttiva 2000/13/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 2002/67/CE e 2008/5/CE della Commissione e il regolamento (CE) n. 608/2004 della Commissione.
 49. **Remillard R. L.**, 2008. Homemade diets, attributes, pitfalls and a call for action. *Topics in Companion Animal Medicine*; Volume 23, n.3: 137-142.
 50. **Schenck P.**, 2010. Home-prepared dog and cat diets. Seconda edizione. Wiley Blackwell.
 51. **Shiue L. H. P.**, 1974; Determination of antioxidant properties of cottonseed flour and soy concentrate in pork sausage. Tesi di laurea, Faculty of Texas Tech University.
 52. **Slater M. R., Di Nardo A., Pediconi O., Villa P. D., Candeloro L., Alessandrini B., Del Papa S.**, 2008. Cat and dog ownership and management patterns in central Italy. *Preventive Veterinary Medicine Journal*; Volume 85, n.3-4: 267-294.
 53. **Stockman J., Fascetti A., Kass P. H., Larsen J. A.**, 2013. Evaluation of recipes of home-prepared maintenance diets for dogs. *Vet Med Today: Timely Topics in Nutrition. Journal of the American Veterinary Medical Association*, Volume 242, n.11: 1500-1505.

54. **Streiff E. L., Zwischenberger B., Butterwick R. F., Wagner E., Iben C., Bauer J. E.**, 2002. A Comparison of the Nutritional Adequacy of Home-Prepared and Commercial Diets for Dogs. *The Journal of Nutrition*; Volume 132: 1698S–1700S.
55. **Stringer S. C., Aldus C. F., Peck M. W.**, 2011. Demonstration of the safe shelf-life of fresh meat with respect to non-proteolytic *Clostridium botulinum*. Institute of Food Research. United Kindom.
56. **Strohmeier R. A., Morley P. S., Hyatt D. R., Dargatz D. A., Scorza A. V., Lappin M. R.**, 2006. Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; Volume 228, n.4: 537-542.
57. **Strombeck D. R.**, 2010. Commercial Pet Food Contamination. [online] http://dogcathomeprepareddiet.com/commercial_pet_food_contamination.html
58. **Torri L., Brutti A., Massini R., Romani M., D'Alessandro A., Abbà S.**, 2012. Soluzioni innovative per il prolungamento della shelf-life. *Food&Tec*; Anno 1, n.2.
59. **Tran Q. D., Hendrinks W. H., Van der Poel A. F. B.**, 2008. Effects of extrusion processing on nutrients in dry petfood. *Journal of Science of Food and Agriculture*; Volume 88, n.9: 1487-1493.
60. **US Department of Health and Human Services** - Food and Drug Administration, 2011. Fish and Fishery Products - Hazards and Controls Guidance. Quarta edizione. Gainesville: IFAS.
61. **Weese J. S., Rousseau J., Arroyo L.**, 2005. Bacteriological evaluation of commercial canine and cat feline raw diets. *The Canadian Veterinary Journal*; Volume 46: 513–516.

62. **Weeth L. P.**, 2013. Focus on nutrition: Home-prepared diets for dogs and cats. Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian; Volume 35, n.3: E3.
63. **Wortinger A.**, 2007. Nutrition for Veterinary Technicians and Nurses. Blackwell Publishing.
64. www.barf.it [online]
65. www.barfworld.com [online]

RINGRAZIAMENTI

Grazie a chi mi ha sostenuta, a chi mi ha finanziata, a chi mi è stato accanto e anche a chi non lo ha fatto. Grazie a chi ho deluso e ha cercato di nascondere, a chi ha sempre creduto in me, a chi imparerà a farlo. Grazie a chi mi ha voluto bene, a chi mi ha amata, a chi mi ha fatta soffrire. Grazie a chi ha riso con me, a chi ha pianto con me, a chi semplicemente c'è e ci sarà sempre. Grazie a chi ha odiato assieme a me, a chi ha amato assieme a me, a chi avrà sempre la porta aperta per me. Grazie a chi mi è stato vicino e grazie anche a chi mi è stato lontano. Grazie a chi ha cercato di non farmi studiare Medicina Veterinaria, a chi come una pazza mi ha fatta guardare il soffitto, a chi porta sfiga a tutti tranne che a me, a chi ha le mie stesse manie, a chi ha trascorso con me lunghe ore in macchina, a chi ha cercato di diventare puntuale per me. Grazie agli amici di sempre, a quelli persi per strada, a quelli raccolti lungo il viaggio. Grazie agli amici nuovi, a quelli vecchi, a quelli che verranno.

Grazie a tutti voi, che con ogni piccolo gesto mi avete permesso di diventare quella che sono.