Aus dem Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen

(Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Annemarie Käsbohrer)

Aspekte der hygienischen Qualität von aus Nebenprodukten der Schlachtung hergestelltem, zur Rohfütterung bestimmtem Heimtierfutter

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Würde einer

DOCTORA MEDICINAE VETERINARIAE

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

vorgelegt von

Mag. med. vet. Sarah Lindinger

Wien, im Januar 2024

Betreuer:

Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Peter Paulsen, Dipl.ECVPH

Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

Veterinärmedizinische Universität Wien

Zweitbetreuerin:

Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Friederike Hilbert, Dipl.ECVPH

Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachter:

Univ. Prof. Dr. med. vet. Ahmad Hamedy

Institut für Lebensmittelhygiene

Veterinärmedizinische Fakultät

Universität Leipzig

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung 1

1.1 Produkte der Schlachtung – Definitionen und Verwendungszweck 1

1.1.1 Schlachtkörper und Nebenprodukte der Schlachtung 1

1.1.2 Tierische Nebenprodukte 1

1.2 Vorschriften zur Verwendung von Produkten und Anforderungen an Produkte der Schlachtung zur Heimtierfuttererzeugung 2

1.2.1 Allgemeine Vorgaben 2

1.2.2 Hitzebehandelte oder anderweitig verarbeitete Erzeugnisse 3

1.2.3 Zur Rohfütterung bestimmtes Heimtierfutter 3

1.3 Fragestellung 4

2. Publikationen 5

2.1 Übersichtsarbeit 5

2.2 Originalarbeit 25

3. Zusammenfassung in deutscher und englischer Sprache 43

3.1 Zusammenfassung 43

3.2 Summary 44

4. Literaturverzeichnis 45

4.1 Internetquellen 45

4.2 Rechtsvorschriften 45

5. Danksagung 47

1. Einleitung und Fragestellung

Viele Nebenprodukte der Schlachtung werden nicht als Lebensmittel verwendet, sondern zu Futtermitteln verarbeitet und in rohem oder durcherhitztem (sterilisiertem) Zustand an den Endverbraucher abgegeben. Insbesondere die als BARF (Akronym von „Bones and Raw Food“ oder „Biologically Appropriate Raw Food“) bezeichnete Rohfütterung wird von vielen Anhängern dieser Fütterungsmethode als artgerecht und zu bevorzugen angesehen.
Die Verwendung als rohes Heimtierfutter für Hunde und Katzen ist ein möglicher Zweig der Verwertung dieser Produkte und hat damit das Potential, den Nutzungsgrad und die Wertschöpfung in der Produktionskette Fleisch zu verbessern. Diesem Potential stehen Bedenken hinsichtlich Futtermittelsicherheit und ernährungsphysiologischer Ausgewogenheit gegenüber.

1.1 Produkte der Schlachtung – Definitionen und Verwendungszweck

1.1.1 Schlachtkörper und Nebenprodukte der Schlachtung

Nach VO (EG) Nr. 853/2004 werden Tierkörper im Anschluss an die Schlachtung und Zurichtung als Schlachtkörper bezeichnet. Anderes frisches Fleisch als dieses frische Schlachtkörperfleisch sowie Eingeweide und Blut werden in der Verordnung unter dem Begriff Nebenprodukte der Schlachtung zusammengefasst und sind, im Gegensatz zu Tierischen Nebenprodukten (TNP) grundsätzlich für den menschlichen Verzehr geeignet [VO (EG) Nr. 853/2004]. Es kann aber auf Grund des Ergebnisses der Fleischuntersuchung im Einzelfall eine Genussuntauglichkeit vorliegen. Auch nach der Fleischuntersuchung erfolgte Kontaminationen können zur Genussuntauglichkeit von an sich genusstauglichen Nebenprodukten führen. Werden beispielsweise Nebenprodukte der Schlachtung oder Blut mehrerer verschiedener Tiere gesammelt in einem Behältnis gelagert und ergibt die Fleischuntersuchung die Genussuntauglichkeit der Produkte eines Tieres, so sind sämtliche Nebenprodukte in diesem Behältnis für genussuntauglich zu erklären [VO (EG) Nr. 853/2004].

1.1.2 Tierische Nebenprodukte

Unter den Begriff Tierische Nebenprodukte fallen gemäß VO (EG) Nr. 1069/2009 „ganze Tierkörper oder Teile von Tieren oder Erzeugnisse tierischen Ursprungs beziehungsweise andere von Tieren gewonnene Erzeugnisse, die nicht für den menschlichen Verzehr bestimmt sind, einschließlich Eizellen, Embryonen und Samen“ [VO (EG) Nr. 1069/2009]. Innerhalb der Tierischen Nebenprodukte erfolgt eine Kategorisierung in drei Gruppen, wobei Material der

Kategorie 1 die größte Gefahr für die menschliche und tierische Gesundheit darstellt und unschädlich beseitigt werden muss. Hierzu zählen u.a. Tierkörper TSE-verdächtiger oder -bestätigter Tiere, spezifiziertes Risikomaterial sowie Zirkus-, Zoo- und Heimtiere.
Dasselbe gilt für Material der Kategorie 2, jedoch mit der zusätzlichen Möglichkeit der Umwandlung zu Kompost oder Biogas. In diese Kategorie fallen beispielsweise Gülle, Magen-Darm-Inhalt und Materialien, die aufgrund von Fremdkörpern als genussuntauglich beurteilt wurden.
Lediglich Material der Kategorie 3 darf unter gewissen Voraussetzungen als Heimtierfutter verwendet bzw. dazu weiterverarbeitet werden. Diese Kategorie beinhaltet u.a. Schlachtkörper und Teile von geschlachteten Tieren, die genusstauglich, jedoch aus kommerziellen Gründen nicht zur Verwendung als Lebensmittel bestimmt sind; Schlachtkörper und Teile, die von in einem Schlachthof geschlachteten Tieren stammen, wobei sich entweder erst bei der Fleischuntersuchung eine Genussuntauglichkeit ergeben hat (in diesem Fall dürfen keine Bedenken für die Gesundheit von Mensch oder Tier bestehen) oder es sich um Teile handelt, die grundsätzlich nicht genusstauglich sind, wie etwa Borsten und Klauenhorn. Ähnliche Vorgaben gelten für Wild, das gemäß den EU-Vorschriften zum menschlichen Verzehr getötet wurde, sowie für Tierische Nebenprodukte von Geflügel und Hasenartigen, die in einem landwirtschaftlichen Betrieb geschlachtet wurden („Direktvermarktung“; s.a. BGBl. II Nr. 108/2006)

1.2 Vorschriften zur Verwendung von Produkten und Anforderungen an Produkte der Schlachtung zur Heimtierfuttererzeugung

1.2.1 Allgemeine Vorgaben

Die VO (EG) Nr. 178/2002 gibt eine Definition des Begriffs „Futtermittel“ und definiert „Futtermittelunternehmen“ / „Futtermittelunternehmer“. Nur sichere Futtermittel dürfen in Verkehr gebracht werden und die Betriebe treffen gewisse Sorgfaltspflichten. Diese Vorgaben sind analog zu jenen für Lebensmittel formuliert. Dabei ist zu beachten, dass diese Verpflichtungen für Betriebe gelten, die Futter für lebensmittelliefernde Tiere herstellen [Kapitel II der VO (EG) Nr. 178/2002]. Die VO (EG) Nr. 1069/2009 mit Hygienevorschriften für nicht als Lebensmittel bestimmte tierische Nebenprodukte (TNP) umfasst auch die Verfütterung an nicht lebensmittelliefernde Tiere bzw. Heimtiere. Betriebe, die für die Herstellung von Heimtierfutter Tierische Nebenprodukte verwenden, müssen von der zuständigen Veterinärbehörde als TNP-Betrieb zugelassen werden und unterliegen gewissen Vorschriften,

etwa bzgl. der korrekten Behandlung, Lagerung und Entsorgung dieser TNP [Anhang XIII, VO (EG) Nr. 1069/2009, VO (EU) Nr. 142/2011]. Zu erwähnen sind unter anderem, dass TNP der Kategorie 3, die zu rohem Heimtierfutter verarbeitet werden sollen, bei max. +7 °C transportiert werden dürfen [VO (EU) Nr. 142/2011] und dass entweder die Verpackung oder der Behälter, in dem die TNP transportiert bzw. gelagert werden, den Hinweis „Nur zur Herstellung von Heimtierfutter“ tragen muss. In Österreich können sich Betriebe als Unterstützung bei der Umsetzung der gesetzlichen Anforderungen einer Leitlinie bedienen (Anonym 2023). Hinsichtlich der Art der Produkte kann vereinfacht zwischen hitzebehandelten oder anderweitig behandelten Erzeugnissen und rohem Heimtierfutter unterschieden werden, wobei sich diese Arbeit mit letzterer Kategorie befasst.

1.2.2 Hitzebehandelte oder anderweitig verarbeitete Erzeugnisse

Bei Dosenfutter muss der F_c-Wert bei der Erhitzung mindestens 3 betragen, bei anderweitig verarbeitetem Futter muss das Futter bei der Hitzebehandlung eine Kerntemperatur von mind. 90 °C erreichen [VO (EU) Nr. 142/2011]; andere Behandlungsarten sind nach Genehmigung durch die Behörde möglich. Für Kauspielzeug sind eine Behandlung zur Abtötung von Krankheitserregern sowie der Schutz vor Kontamination vorgeschrieben.

1.2.3 Zur Rohfütterung bestimmtes Heimtierfutter

Hersteller von zur Rohfütterung bestimmtem Heimtierfutter unterliegen der VO (EG) Nr. 1069/2009 sowie VO (EU) Nr. 142/2011. Rohes Heimtierfutter darf lediglich aus TNP der Kategorie 3 hergestellt werden. Dabei ist zu beachten, dass auch als Lebensmittel bezogenes tierisches Material beim Tierfutterhersteller nicht mehr als Lebensmittel, sondern, auf Grund des Verwendungszwecks, als TNP gilt.

Festgelegt ist zudem die Untersuchung von Zufallsstichproben [VO (EU) Nr. 142/2011]. Es sind jeweils fünf Stichproben zu ziehen, wobei Salmonellen in keiner dieser Proben in je 25 g nachgewiesen werden dürfen. Bei Enterobacteriaceen ist ein Dreiklassenplan anzuwenden.

Bei zur Rohfütterung bestimmtem Heimtierfutter muss während des Transports und der Lagerung der Hinweis „Nur als Heimtierfutter. Von Lebensmitteln fernhalten. Hände und Werkzeuge, Utensilien und Oberflächen nach der Handhabung dieses Produkts waschen“ enthalten sein [VO (EU) Nr. 142/2011].

1.3 Fragestellung

Ziel der im Rahmen dieser Dissertation angefertigten Originalarbeit war, die mikrobiologische Qualität und Sicherheit von in Wien erhältlichem rohem Heimtierfutter (BARF, „Bones and raw feeding“; RMBD, „Raw meat-based Diets“) für Hunde, sowie chemische Indikatoren für Frische und Zersetzung zu bestimmen (Lindinger et al 2023). Der Schwerpunkt lag dabei auf aus Innereien hergestelltem BARF-Material und auf BARF aus Wild(-fleisch). Damit stellte die Arbeit einer Ergänzung zur Studie von Koch et al. (2020) dar, in der BARF aus oder mit überwiegendem Anteil an Muskulatur untersucht worden war. Dieser Originalarbeit wird als Einführung in die Thematik eine zur Veröffentlichung in der Wiener Tierärztlichen Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria angenommene Übersichtsarbeit vorangestellt.

2. Publikationen

2.1 Übersichtsarbeit

Futtermittelsicherheit und -qualität von rohem Heimtierfutter für Hunde (BARF), sowie ernährungsphysiologische Aspekte. Wien Tierarztl Monat – Vet Med Austria. 2024;111:Doc2
DOI:10.5680/wtm000029

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen[1], Zentrum für Tierernährung und Tierschutzwissenschaften[2], Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen, Veterinärmedizinische Universität Wien; Futterambulanz Dr. Handl[3], Wien

Futtermittelsicherheit und -qualität von rohem Heimtierfutter für Hunde (BARF), sowie ernährungsphysiologische Aspekte

S. Lindinger[1]*, G. Flekna[1], C. Iben[2], S. Handl[3] und P. Paulsen[1a]

ORCID:
a) 0000-0003-0163-2176

Eingelangt am 3. November 2023
Angenommen am 23. Jänner 2024
Veröffentlicht am 28. Februar 2024

Schlüsselwörter: Tierische Nebenprodukte, Fütterung, Risiken, Zoonosen, biogene Amine.

Keywords: Animal by-products, feeding, risks, zoonoses, biogenic amines.

Zusammenfassung

Die Fütterung von Hunden und Katzen mit rohem Material tierischer Herkunft („Bones and Raw Food" = BARF, „Raw meat-based Diet" = RMBD) wird verschiedentlich als artgerechte Art der Fütterung angesehen und stellt eine von mehreren Möglichkeiten der Verwertung von tierischem Material dar, das nicht als Lebensmittel genutzt wird.

In dieser Übersichtsarbeit werden das allgemeine hygienische Profil von BARF sowie die „Sicherheit" von Rohfutter in Bezug auf zoonotische Bakterien und Parasiten thematisiert und Fragen der Bedarfsdeckung und Rationsberechnung ergänzend angeführt. Die Gewährleistung der Futtermittelsicherheit ist durch das Auftreten zoonotischer Bakterien, insbes. Salmonellen, aus mikrobiologisch-hygienischer Sicht kritisch zu beurteilen. Die Möglichkeit der Exposition des Menschen ist sowohl durch Ausscheidungen kolonisierter Hunde als auch durch den Umgang mit den Futtermitteln gegeben. Dies und die Notwendigkeit, bei dieser Fütterungsmethode eine adäquate Supplementierung zur Sicherstellung einer bedarfsgerechten Versorgung der Tiere durchzuführen, sind nachteilig.

Summary

Feed safety, -quality and nutritional physiology aspects of pet food intended for raw-feeding of dogs (BARF)

Feeding pets, dogs and cats with raw material of animal origin ("Bones and Raw Food" = BARF, "Raw meat-based Diet" = RMBD) is sometimes regarded as a "biologically appropriate", and thus suitable approach to feeding and represents one of several ways to use animal tissue that is not destined for human nutrition.

This review considers the "safety" of raw feed with regard to zoonotic bacteria and parasites and the general hygienic profile of BARF products. In addition, nutritional adequacy and ration calculation issues are discussed. The presence of zoonotic bacteria, especially Salmonella, is critical for reasons of microbiology and hygiene. Human exposure to such bacteria through excreta from colonized dogs is as likely as exposure through handling the feed. This, and the need to add supplements to BARF to fulfil nutritional requirements, represent disadvantages of feeding with BARF.

Abkürzungen: AMR = Antimikrobielle Resistenz / Antibiotikaresistenz; BA = Biogene Amine; BARF = Biologisch Artgerechte Rohfütterung, bones and raw food, biologically appropriate raw food; *C. jejuni = Campylobacter jejuni; Camp. = Campylobacter; Clostr. diff. = Clostridioides difficile; Clostr. perfr. = Clostridium perfringens; E. coli = Escherichia coli;* EB = Enterobacteriaceen; ESBL = Extended-Spectrum-Betalaktamasen; HACCP = Hazard Analysis and Critical Control Points; IE = Internationale Einheit(en); KbE = koloniebildende Einheiten; *L.m. = Listeria monocytogenes;* PFMA = Pet Food Manufacturers' Association; RMBD = raw meat-based diet; *S. = Sarcocystis; Salm. = Salmonella;* STEC = Shiga-Toxin produzierende *E. coli;* SJVFS = Statens jordbruksverks författningssamling; *T. gondii = Toxoplasma gondii;* TNP = Tierische Nebenprodukte; TVB-N = total volatile basic nitrogen; WHO = World Health Organization

***E-Mail:** sarah.lindinger@vetmeduni.ac.at

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Einleitung

Die Haltung von Heimtieren, insbesondere die Hundehaltung, ist weit verbreitet. So wurden etwa in Österreich im Erhebungszeitraum 2019/2020 rund 620.000 Hunde gehalten, wobei für jedes Tier durchschnittlich 31,8 € pro Monat für Futter ausgegeben wurden (Statistik Austria 2020). Das benötigte Futtervolumen ist aus wirtschaftlicher Sicht von Bedeutung und die Hundefuttererzeugung stellt einen bedeutenden Abnehmer für Schlachtprodukte dar.

Neben der Verfütterung von handelsüblichem Fertigfutter als Alleinfuttermittel hat auch die Zusammenstellung von Rationen durch die Tierhalterinnen und Tierhalter Bedeutung (Michel 2006). Diese Rationen können zum Teil oder zur Gänze aus rohem tierischem Material bestehen.

Der Trend zur Fütterung von Hunden und Katzen mit rohem Futter, meist bezeichnet als „BARF" (Biologisch Artgerechte Rohfütterung, übersetzt von *bones and raw food* oder auch *biologically appropriate raw food*) hat in den letzten 15 Jahren kontinuierlich zugenommen (Radicke & Wolf 2016; Dodd et al. 2018; Opsomer et al. 2020). Dabei werden, angelehnt an "die natürliche Beute des Wolfes", rohes Muskelfleisch, Innereien und Knochen gefüttert, ergänzt mit Obst und Gemüse. Als wesentlicher Verfechter der BARF-Methode gilt der australische Tierarzt Dr. Ian Billinghurst. Dieser hatte sich Anfang 1990 einer Gruppe von Tierärztinnen und Tierärzten angeschlossen, die vehement gegen die Fütterung von Fertigfutter auftraten. Die Philosophie dahinter ist, dass sich der vom Wolf abstammende Hund im Laufe seiner Entwicklung an die natürliche rohe Nahrung angepasst hat und dies daher die ideale Nahrung darstellt, wohingegen dies bei verarbeitetem Futter nicht der Fall sei (Billinghurst 1993).

Allgemeine Einwände von BARF-Befürworterinnen und Befürwortern gegen kommerzielle Futtermittel bestehen darin, dass durch die Hitze während der Verarbeitung Nährstoffe zerstört werden und Ergänzungen durch Zusatzstoffe einen verringerten Nährwert haben. Dass erstere Aussage richtig ist, haben Morris et al. (2004) bestätigt. Die Auswirkung der Verarbeitung von Nahrungsmitteln ist vielfältig und der Verlust wertvoller Nährstoffe (v.a. Vitamine) nachgewiesen. Hitzelabile Vitamine sind z.B. Vitamin A, Vitamin D, Thiamin und Folat (Morris et al. 2004). Auch die ileale Verdaulichkeit der meisten Aminosäuren wird durch die Hitzebehandlung verringert (Hendriks et al. 1999). Allerdings ist in kommerziellen Hundefuttermitteln ausreichend Eiweiß vorhanden, sodass die schlechtere ileale Verdaulichkeit keine negativen Auswirkungen zeigt. Was den Verlust an Nährstoffen durch die Verarbeitung anbelangt, wird dieser durch ernährungsphysiologische Zusatzstoffe ergänzt. Ein verringerter Nährwert derartiger Zusatzstoffe ist nicht bewiesen. Weiters wird der hohe Stärkegehalt besonders der kommerziellen Trockenfutter als ungeeignet für Hunde angesehen, da die natürliche Nahrung kaum Stärke enthält. Axelsson et al. (2013) aber haben mit ihren Genomanalysen von Hund und Wolf gezeigt, dass sich der Hund an die stärkereiche Nahrung adaptiert hat. Insgesamt konnten in 36 Genregionen Unterschiede festgestellt werden, 19 davon enthalten Gene, die für die Gehirnfunktion eine Rolle spielen. Zehn Gene mit Schlüsselrollen bei der Stärkeverdauung und im Fettstoffwechsel zeigen die Anpassung an die durch die Domestikation unterschiedliche Ernährung des Hundes. Die mit Beginn der Agrarrevolution zunehmend stärkereiche Ernährung führte bei Hunden und Menschen zu ähnlichen Anpassungsreaktionen (Axelsson et al. 2013).

Die Motivation von Hundebesitzerinnen und Hundebesitzern, zu BARF zu wechseln, ist unterschiedlich. Neben dem Wunsch nach einer „natürlichen" Ernährungsweise ist auch die Suche nach Heilung chronischer Krankheiten ein wesentlicher Beweggrund (Handl et al. 2012; Corbee et al. 2013; Ricci et al. 2016; Loescher et al. 2017; Vinassa & Nery 2019). Laut einer Studie von Handl et al. (2012) wechselten 47,6 % der Personen, die an der Umfrage teilnahmen, zur Rohfütterung, weil sie ihr Tier gesund ernähren wollten und 36,2 % gaben gesundheitliche Probleme (hauptsächlich gastrointestinale Symptome, Hauterkrankungen und Futtermittelallergien) als Ursache an. Becker et al. (2012) fanden in einer in Deutschland durchgeführten Untersuchung, dass in 55 % der Fälle der mit Rohfutter gefütterten Hunde gesundheitliche Ursachen für den Wechsel zu Rohfutter verantwortlich waren. Vor allem Blähungen und eine vermutete Futtermittelallergie waren Hauptgründe für die Umstellung auf Rohfütterung (Becker et al. 2012).

Tierhalterinnen und Tierhalter beziehen ihre fütterungsbezogenen Informationen hauptsächlich aus dem Internet und der populärwissenschaftlichen Literatur (Handl et al. 2012; Ricci et al. 2016; Loescher et al. 2017; Morgan et al. 2017), wo Veröffentlichungen keiner Kontrolle unterliegen und daher oft einseitig oder falsch sind. Dort wird etwa argumentiert, dass BARF „von Natur aus richtig" sei, da es der Physiologie des Hundes als Fleischfresser angepasst sei, dass Rohfutter für bessere Gesundheit und Wohlbefinden sorge, dass es chronische Krankheiten und Beschwerden beseitige, und dass kommerzielles Fertigfutter minderwertig oder gar schädlich sei (Billinghurst 1993; Simon 2012; Wolf 2021).

Mit der zunehmenden Beliebtheit von BARF geht ein immer größeres Angebot an „BARF-Fleisch" und „BARF-Zubehör" im Internet, in Zoohandlungen und in Geschäften, die sich auf BARF spezialisiert haben, einher. Diese Einrichtungen bieten oft auch „Ernährungsberatung" (durch medizinische Laien) an (Rössler 2023; Wadehn 2023).

Ziel dieser Arbeit ist es, eine umfassende Übersicht zu BARF beim Hund zu geben, mit den Schwerpunkten Futtermittelsicherheit und Ernährungsphysiologie – erstere in Bezug auf handelsübliches Futter, speziell jenes, das vorverpackt und tiefgekühlt angeboten wird.

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Material und Methoden

Für diese Übersichtsarbeit wurde eine nicht-systematische Literaturübersicht mit den Suchbegriffen „Rohfütterung", „BARF", „raw-feeding", „RMBD", „raw meat based diet" für den Zeitraum 2000–2022 in SCOPUS durchgeführt und in den erhaltenen Artikeln nach zitierter, weiterführender Literatur gesucht. Weitere Literatur wurde den Archiven der Autorinnen und Autoren entnommen.

Ergebnisse

Rohstoffe, die in rohem Heimtierfutter verwendet werden

In handelsüblichem Rohfutter für Hunde werden Gewebe verschiedener Schlachttier- und Wildarten verwendet, die zum Teil mit Komponenten nicht-tierischer Herkunft, wie beispielsweise Gemüse und Öle, ergänzt werden. Die Komponenten tierischer Herkunft sind „Tierische Nebenprodukte" (TNP), für die besondere gesetzliche Vorgaben gelten.

Vorschriften für Tierische Nebenprodukte und Futtermittelrecht

Das Lebensmittelhygienerecht der Europäischen Union hat mehrere wesentliche Berührungspunkte mit dem Futtermittelrecht. Einerseits können für landwirtschaftliche (lebensmittelliefernde) Nutztiere verwendete Futtermittel indirekt Einfluss auf die Lebensmittelsicherheit haben [VO (EG) Nr. 178/2002, Erwägungsgründe], andererseits können bestimmte Rohstoffe entweder zu Lebens- oder Futtermitteln verarbeitet werden. Schließlich fallen in der Lebensmittelkette Materialien an, die zwar keinesfalls als Lebensmittel, aber unter bestimmten Bedingungen als Futtermittel verwendet oder in Futtermitteln verarbeitet werden können.

Tierische Materialien, die nicht für den menschlichen Verzehr bestimmt sind, werden als „Tierische Nebenprodukte" bezeichnet [VO (EG) Nr. 1069/2009, Art. 3]. Solche Materialien können z.B. bei der Schlachtung, der Fleischzerlegung, aber auch bei der Verarbeitung, der Lagerung und dem Anbieten von Lebensmitteln anfallen. Es erfolgt dabei eine Einstufung in drei Kategorien (1–3), über die auch mögliche Verwertungsarten festgelegt werden. Die Verwendung als oder die Verarbeitung zu Tierfutter stellt eine mögliche Verwertungsart dar, wobei in Bezug auf Heimtierfutter hier vier Möglichkeiten (und damit assoziierte Betriebsarten) unterschieden werden können: rohes Heimtierfutter; Kauspielzeug (getrocknete Häute u.a.); verarbeitetes Heimtierfutter in Dosen (d.h. sterilisierte Erzeugnisse) sowie anderes verarbeitetes Heimtierfutter wie beispielsweise Trockenfutter (Hitzebehandlung bei mind. 90 °C oder nach Genehmigung auch andere Verfahren).

Tierische Nebenprodukte der Kategorie 3 bergen die geringsten gesundheitlichen Risiken für Mensch und Tier und können zu Heimtierfutter verarbeitet werden. Für die Verwertung als rohes Heimtierfutter erfolgt eine weitere Einschränkung: Das Material muss von geschlachteten und untersuchten Tieren stammen und ist entweder aus kommerziellen Gründen oder auf Grund von Veränderungen, die allerdings weder für Menschen noch Tiere eine gesundheitliche Gefahr darstellen dürfen, nicht als Lebensmittel geeignet. Für rohes Heimtierfutter gelten Temperaturvorschriften zur Lagerung (gekühlt oder tiefgefroren).

Unter „Heimtiere" werden dabei Tiere einer Art verstanden, die von Menschen nicht zu landwirtschaftlichen Nutzzwecken gefüttert und gehalten und nicht verzehrt werden. Es handelt sich bei der Herstellung von rohem Heimtierfutter grundsätzlich um eine zulassungspflichtige Tätigkeit bzw. Betriebsart, mit weiter unten angeführten Ausnahmen.

Anders als z.B. bei Heimtierfutter in Dosen bleibt rohes Heimtierfutter bis inkl. Abgabe an die Endverbraucherin oder den Endverbraucher ein TNP im Sinn der VO (EG) 1069/2009, unterliegt damit nicht dem Futtermittelrecht und ist entsprechend zu kennzeichnen. Während der Beförderung und Lagerung ist folgende Information zum sicheren Umgang mit dem Futter vorgeschrieben: „Nur als Heimtierfutter. Von Lebensmitteln fernhalten. Hände und Werkzeuge, Utensilien und Oberflächen nach der Handhabung dieses Produkts waschen" [VO (EU) Nr. 142/2011; Anh. VIII, Kap. II, 2b, vii]. Ausnahmen bestehen für rohes Heimtierfutter, das aus Einzelhandelsgeschäften stammt, in denen Fleisch ausschließlich zur unmittelbaren Abgabe an den Verbraucher an Ort und Stelle zerlegt und gelagert wird und für rohes Heimtierfutter, das von Tieren gewonnen wurde, die im Herkunftsbetrieb für den Verzehr im Haushalt des Landwirts oder der Landwirtin geschlachtet wurden [VO (EG) 1069/2009]. Auch die private häusliche Herstellung zum häuslichen Gebrauch ist ausgenommen.

Es gelten Anforderungen an Sicherheit und Rückverfolgbarkeit. Für die hygienische Bewertung sind Vorschriften zum Kontaminationsschutz und zur Einhaltung geeigneter Lagerungstemperaturen von Bedeutung. Für rohes Heimtierfutter bedeutet dies, dass die Lagerungstemperatur 7 °C nicht überschreiten darf, sofern sich nicht aus der Art der Rohstoffe niedrigere Maximaltemperaturen ergeben (Anonym 2020). Weiters sind mikrobiologische Anforderungen einzuhalten [VO (EU) Nr. 142/2011]. In fünf Zufallsstichproben (während der Herstellung oder Lagerung, aber jedenfalls vor dem Versand) darf in jeweils 25 g *Salmonella* nicht nachweisbar sein. Es gilt auch ein Kriterium für die Zahl der Enterobacteriaceen. Dieses ist als Dreiklassenplan ausgelegt, wobei das Ergebnis „zufriedenstellend" ist, wenn in jeder der 5 Proben max.

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

500 Enterobacteriaceen/g nachgewiesen werden; wenn max. 2 der 5 Proben Enterobacteriaceengehalte über 500, aber unter 5000 KbE/g aufweisen, gilt dies als „zulässig". In allen anderen Fällen ist das Ergebnis „nicht zufriedenstellend". Sofern nicht fünf, sondern nur eine Stichprobe vorliegt, besteht nur die Möglichkeit, Enterobacteriaceengehalte ≥ 5000 KbE/g zu bewerten („nicht zufriedenstellend"). In der österr. Leitlinie (Anonym 2020) wird angemerkt, dass dieses Enterobacteriaceenkriterium nicht für alle Rohstoffe geeignet ist, insbes. nicht für ungeputzten („grünen") Pansen.

Nährstoffgehalte und Bedarfsdeckung

Grundsätzlich gibt es verschiedene Empfehlungen zur Rohfütterung, die aber gemeinsam haben, dass sie sich an der „natürlichen Ernährung des Wolfes" („Beutetierschema") orientieren. Als Beispiel sei das in Deutschland und Österreich beliebte „BARF nach Swanie Simon" (Simon 2012; Wolf 2021) genannt. Simon (2012) schlägt folgende Futterpläne vor: die Menge des Futters soll 2–4 % des Körpergewichtes betragen. Davon sollen 75–90 % tierische Erzeugnisse (Fleisch, Innereien, Knochen, Milchprodukte) und 10–25 % pflanzliche Erzeugnisse (Obst, Gemüse) sein. Von den tierischen Erzeugnissen sei die Hälfte Muskelfleisch durchwachsen, 20 % Pansen oder Blättermagen, 15 % Innereien und 15 % sogenannte „Rohe Fleischige Knochen" (Knochen mit anhaftender Skelettmuskulatur), wie Hühnerhälse, -flügel oder -rücken, Ochsenschwanz, Kalbsbrustbein, oder ganze Karkassen von Huhn oder Kaninchen. Damit werde der Hund mit allen Nährstoffen versorgt, weitere Zusätze seien nicht nötig.

Dass dies nicht stimmt, ist in Tabelle 1 dargestellt. Die Nährstoffzufuhr für einen 20 kg schweren, aktiven Hund, berechnet nach „BARF nach Swanie Simon" (Futtermenge = 3 % vom Körpergewicht, davon 20 % Pflanzliches und 80 % Tierisches, davon 50 % Rindfleisch mit 15 % Fett, 20 % Pansen, 15 % Organe, 15 % fleischige Knochen) wurde mit dem Rationsberechnungsprogramm DietCheck Munich© Version 3.0 überprüft. Darin sind die Bedarfswerte nach wissenschaftlichen Erkenntnissen hinterlegt (z.B. National Research Council 2006).

So sind in den empfohlenen Zutaten – und damit auch in der BARF-Ration – Jod und Vitamin D fast gar nicht enthalten, Kupfer, Zink, Mangan, Vitamin E und Linolsäure liegen unterhalb der Empfehlungen.

Tab. 1: Tagesbedarf eines Hundes mit 20 kg Körpermasse (National Research Council 2006) im Vergleich zur Zufuhr durch „BARF nach Swanie Simon" / Daily required nutrients (National Research Council 2006) for a dog with 20 kg body mass compared to the supply via „BARF according to Swanie Simon"

	Energie, kcal	Protein, g	Ca, mg	P, mg	Na, mg	K, mg	Mg, mg	Cl, mg	Fe, mg	Cu, mg	Zn, mg	Mn, mg	J, µg
Nährstoffbedarf nach National Research Council (2006)	898	52	1230	950	248	1324	165	378	9,5	1,9	18,9	1,5	280
Nährstoffzufuhr über BARF nach Simon (2012)	846	92	1837	1621	511	1667	186	278	20,5	0,8	12,5	0,7	13
Abweichung (%)	-5,8	+77	+49	+71	+106	+26	+1,3	-26	+116	-58	-34	-53	-95

	Vit A, IE	Vit D, IE	Vit E, mg	Vit B1, mg	Vit B2, mg	Vit B6, mg	Vit B12, µg	Biotin, mg	Niacin, mg	Pantothen, mg	Linolsäure, mg
Nährstoffbedarf nach National Research Council (2006)	1577	170	9,5	0,7	1,62	0,46	11	10	5,4	4,6	3400
Nährstoffzufuhr über BARF nach Simon (2012)	3434	19	3,7	1,0	1,60	1,5	28	32	31	5,2	2660
Abweichung (%)	+118	-89	-61	+43	-1,2	+226	+155	+220	+474	+13	+22

Die Vorzeichen „+" und „-" bei den Abweichungen bedeuten eine Über- oder Unterversorgung durch die BARF-Ration. / The „+" and „-" signs indicate that the supply via the BARF-ration is over or under the recommended dietary intake.

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2 PUBLISSO

Je nach Autor und „Schule" werden auch andere Zusammensetzungen und Ergänzungen empfohlen, wie Eierschalen und andere Kalziumquellen (zusätzlich zu oder anstatt von Knochen), Öle, Hefe, Kräuter, Nüsse, Algen, u. a. m.

Wie zahlreiche Publikationen mittlerweile zeigen, sind BARF-Pläne in der Praxis zum Großteil fehlerhaft, wobei es vor allem in der Zuteilung von Kalzium, Phosphor, Spurenelementen und fettlöslichen Vitaminen zu Fehlern kommt (Dillitzer et al. 2011; Handl et al. 2012, 2013; Gerstner & Liesegang 2014; Loescher et al. 2017; Siess et al. 2021). Dies kann gravierende Auswirkungen haben, vor allem im Wachstum, wie aktuelle Fallberichte zeigen (Lenox et al. 2015; Mack & Kienzle 2016; Tal et al. 2018; Dodd et al. 2019; Hall et al. 2020; Moscoso & Liesegang 2023). Hinsichtlich der Folgen der Nährstoffmängel sei auf die Fachliteratur verwiesen (z.B. Zentek 2022).

Diese Diskrepanz zwischen BARF-Plänen und Empfehlungen zur Nährstoffversorgung in der Fachliteratur (National Research Council 2006; FEDIAF 2021; Zentek 2022) wird als „normal" bzw. sogar gewollt dargestellt, mit den Argumenten, dass die Empfehlungen zur optimalen Nährstoffzufuhr mittels Fertigfutter ermittelt worden seien an Hunden, die unter „unnatürlichen Bedingungen" gehalten worden wären, und daher für BARF nicht gelten (Simon 2012; Wolf 2021). Es ist richtig, dass die Verdaulichkeit von rohen Zutaten und die Verwertbarkeit von Nährstoffen daraus höher oder niedriger als bei Fertigfutter sein können. Solche Schwankungen sind jedoch in die Bedarfsempfehlungen eingearbeitet. Außerdem beruhen diese nicht nur auf Fütterungsversuchen, sondern auch auf anderen Methoden, wie faktoriellen Berechnungen (National Research Council 2006). Solange keine anderen Empfehlungen für Rohfütterung publiziert werden, kann nur mit den bisher bewährten Bedarfsempfehlungen gearbeitet werden.

Es sei an dieser Stelle betont, dass die Versorgung mit Nährstoffen am Tier selbst nur sehr unzureichend überprüft werden kann. Auch das oft empfohlene „BARF-Profil" (Messung der Nährstoffe und Mineralstoffe im Blut) liefert keine verlässlichen Aussagen (Hajek et al. 2022). Bei erwachsenen Tieren kann eine Unterversorgung oder eine marginale Versorgung mitunter monatelang unentdeckt bleiben, beispielsweise bei Kalziummangel (Schmitt et al. 2018), bis dieser Mangel klinische Symptome hervorruft, Aussagekräftige Informationen liefert nur eine Rationsüberprüfung (Hajek et al. 2022).

Mikrobiologische Hygieneindikatoren

Neben den im Abschnitt „Vorschriften für Tierische Nebenprodukte und Futtermittelrecht" angeführten Grenzwerten und Regelungen für Enterobacteriaceen und *Salmonella* sind in einigen Ländern (Schweden) zudem Richtwerte für weitere Indikatoren, beispielsweise die aerobe mesophile Keimzahl angeführt. Hierbei handelt es sich jedoch lediglich um rechtlich nicht bindende Leitlinien. Des Weiteren beziehen sich die Autorinnen und Autoren einiger Studien mitunter auf für Lebensmittel festgelegte Grenzwerte (Bottari et al. 2020; van Bree et al. 2018), konkret auf die Grenzwerte für Faschiertes (VO (EG) Nr. 2073/2005). Auch die Ergebnisse früherer Arbeiten werden von manchen Autorinnen und Autoren in die Beurteilung miteinbezogen und als Richtwerte verwendet (Bottari et al. 2020; Solís et al. 2022). In Tabelle 2 sind die Ergebnisse dieser Studien zusammengefasst. Untersucht wurden in den meisten Fällen die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl sowie Enterobacteriaceen. Weiters wurden der Gehalt an *Escherichia (E.) coli* (Weese et al. 2005; Nilsson 2015; van Bree et al. 2018; Koch et al. 2020) und seltener auch der an Coliformen (Weese et al. 2005; Bottari et al. 2020) als mikrobiologische Hygieneindikatoren herangezogen.

Bei den in Tabelle 3 angeführten Studien wurden bei der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl Werte von $7{,}9\times10^{2}$ KbE/g (van Bree et al. 2018) bis zu $2{,}9\times10^{9}$ KbE/g (Koch et al. 2020) festgestellt. Dabei ist zu beachten, dass rohes Fleisch ab etwa 10^{7} KbE/g oder cm^{2} grobsinnlich nachteilig verändert ist (Weber 2008), und – sofern als Lebensmittel verwendet – als verdorben einzustufen wäre.

Ähnlich große Unterschiede gab es bei den Untersuchungsergebnissen für Enterobacteriaceen; hier reichten die Ergebnisse von 4×10^{1} KbE/g (Hellgren et al. 2019) bis zu $4{,}4\times10^{7}$ KbE/g (Vecchiato et al. 2022). Der Anteil an Proben mit Enterobacteriaceengehalten oberhalb des oberen Grenzwertes „M" der VO (EU) Nr. 142/2011 war zwischen 51,6 % (Hellgren et al. 2019) und 97,3 % (Vecchiato et al. 2022) (Tab. 3).

Bei Produkten mit hohen Keimzahlen kann schon der initiale Keimgehalt des Rohstoffes hoch gewesen sein (z.B. bei Pansen; Anonym 2020), während bei anderen Rohstoffen Dauer und Temperatur der Kühllagerung maßgeblich sind. Diese matrixbezogene Sichtweise hat für die Futtermittelhersteller Bedeutung, jedoch nicht für die rechtliche Beurteilung (Enterobacteriaceengehalte) und die Haltbarkeit (aerobe mesophile Keimzahl).

Chemische Frischeindikatoren

Bei der Literaturrecherche für die vorliegende Arbeit konnten sowohl Studien über die Untersuchung chemischer Frischeindikatoren von Trocken- oder in Dosen abgefülltem und sterilisiertem Feuchtfutter (Paulsen et al. 2021a), als auch über Untersuchungen bei BARF-Produkten gefunden werden (Paulsen et al. 2021b; Lindinger et al. 2023). Verwendet wurden hierbei überwiegend Indikatoren wie die Gehalte an einzelnen biogenen Aminen (Cadaverin, Histamin, Tyramin, Putrescin, Spermin, Spermidin) sowie verschiedene Indizes [z.B. Biogene-Amine-Index nach Mietz und Karmas (1978), Summe der biogenen Amine (Ruiz-Capillas &

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Tab. 2: In Studien zur mikrobiologischen Beschaffenheit von BARF herangezogene Grenzwerte / Microbiological limits applied in studies on BARF

Grenzwerte	Studie	in der Studie verwendete Referenz(en)
aerobe mesophile Keimzahl: n=5, c=2, m=5×10^5, M=5×10^6; *Salm.* in 25 g nicht nachweisbar	Bottari et al. 2020 (Italien) van Bree et al. 2018 (Niederlande)	VO (EG) Nr. 2073/2005
EB: n=5, c=2, m=500 in 1 g, M=5.000 in 1 g *Salm.*: kein Befund in 25 g, n=5, c=0, m=0, M=0 Statens jordbruksverks författningssamling (SJVFS): aerobe mesophile Keimzahl 6,7 $\log_{10}$, Coliforme 4,7 $\log_{10}$, Anaerobe 3,7 $\log_{10}$, *Salm.* 0 in 25 g	Hellgren et al. 2019 (Schweden)	VO (EU) No. 142/2011 SJVFS 2011:40, Annex 17
aerobe mesophile Keimzahl 10^6 cfu/g	Solis et al. 2022 (Chile)	Kukier et al. 2012
EB: n=5, c=2, m=500 in 1 g, M=5.000 in 1 g *Salm.*: kein Befund in 25 g, n=5, c=0, m=0, M=0 aerobe mesophile Keimzahl: n=5, c=2, m=5×10^5, M=5×10^6	Koch et al. 2020 (Österreich) Vecchiato et al. 2022 (Italien) Lindinger et al. 2023 (Österreich)	VO (EU) Nr. 142/2011 VO (EG) Nr. 2073/2005
Coliforme: 1.000/g für rohes Fleisch	Weese et al. 2005 (USA)	Canadian Food Inspection Agency: Meat Hygiene Manual of Procedures, Sampling and Testing Procedures
EB: n=5, c=2, m=500 in 1 g, M=5.000 in 1 g *Salm.*: kein Befund in 25 g, n=5, c=0, m= 0, M=0	Nüesch-Inderbinen et al. 2019 (Schweiz)	VO (EU) Nr. 142/2011
VO (EG) Nr. 2073/2005: *E.coli*: n=5, c=2, m = 50, M=500 SJVFS: aerobe mesophile Keimzahl 6,7 $\log_{10}$, Coliforme 4,7 $\log_{10}$, Anaerobe 3,7 $\log_{10}$, *Salm.* 0 in 25 g	Nilsson 2015 (Schweden)	VO (EG) Nr. 2073/2005 SJVFS 2011:40, Annex 17

EB = Enterobacteriaceen; *Salm.* = *Salmonella*; n = Anzahl der Proben einer Produktcharge; m = unterer, M = oberer Grenzwert; c = Anzahl der Ergebnisse, die zwischen "m" und "M" liegen dürfen, damit die Charge noch als "akzeptabel" [VO (EG) Nr. 2073/2005] oder "zulässig" [VO (EG) Nr. 142/2011] beurteilt wird; Werte sind, sofern nicht anders angegeben, in KbE/g / EB = Enterobacteriaceae; Salm. = *Salmonella*; n = number of samples from one batch; m = lower, M = upper limit; c = number of results between "m" and "M" in "acceptable" [Reg (EC) No. 2073/2005; Reg (EC) No. 142/2011] batches; values refer to cfu/g, unless specified otherwise

Tab. 3: Mikrobiologische Beschaffenheit von BARF Proben und Anzahl der Proben, die dem Enterobacteriaceengrenzwert "M" der VO (EG) Nr. 142/2011 nicht entsprochen haben / Microbiological condition of BARF samples, and number of samples non-compliant to the Enterobacteriaceae "M"-limit of Reg. (EU) No. 142/2011.

Studie	n	aerobe mesophile Keimzahl (KbE/g); Spannweite; Mittelwert oder Median	EB, *E. coli* (EC), Coliforme (C) (KbE/g)	Weitere untersuchte Parameter	Anzahl und % der Proben mit EB ≥5.000 KbE/g
Bottari et al. 2020°	21	$4{,}2\times10^4$–$3{,}8\times10^6$	C: $1{,}72\times10^3$–$7{,}2\times10^4$	*E.coli* 0157:H7, *Salm.*, *L.m.*, *Camp.*	Coliforme*: 17 (≥70,8 %)
van Bree et al. 2018	35	7.9×10^2–5.0×10^6 $2.3\times10^5 \pm 8.6\times10^5$	EC: <2,6–$1{,}1\times10^4$ Mittelwert $8.9\times10^2 \pm 2.2\times10^3$	*E.coli* O157:H7, ESBL, *L.m.*, *Salm.*, *Sarcocystis*, *T. gondii*	*E. coli**: 7/35 > 5.0×10^2 (≥20 %)
Hellgren et al. 2019	60	-	EB: 4×10^1–$2{,}5\times10^6$; Mittelwert 8×10^3	*Clostr.perfr.*, *Salm.*, *Camp.*	31 (51,6 %)
Solis et al. 2022	42	$1{,}4\times10^5$–$4{,}3\times10^6$; Median $3{,}0\times10^6$	-	*Salm.*, *L.m.*, *C.jejuni*	-
Vecchiato et al. 2022	37	6×10^6–2×10^9	EB: $1{,}2\times10^3$–$4{,}4\times10^7$; $3{,}61\times10^6 \pm 8.39\times10^6$	*Salm.* (10/44 getestet), Nährwerte	36 (97,3 %)
Weese et al. 2005	25	-	EC: 16/25 C: $3{,}5\times10^3$–$9{,}4\times10^6$ Mittelwert 8.9×10^5, Standardabweichung $\pm 1.9\times10^6$	*Salm.*, *Camp.*, *Sporenbildner*, *Clostr. perfr.*, *C. difficile*, *Staphylococcus aureus*	-
Nüesch-Inderbinen et al. 2019	51	$8{,}2\times10^4$–$7{,}4\times10^8$; Median $8{,}8\times10^6$	EB: 6×10^2–$2{,}2\times10^7$; Median $4{,}1\times10^4$	*Salm.*, antimikrobielle Resistenz in Enterobacteriaceen (inkl. ESBL)	37 (72,5 %)

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Koch et al. 2020	96	$6{,}3\times10^{4}$–$2{,}9\times10^{9}$	EB: <100–3×10^{6} EC: <10–$2{,}8\times10^{5}$	pH, Wasseraktivität, Pseudomonaden, Milchsäurebakterien, Staphylokokken, *Salm.*, *L.m.*, *Camp.*	82 (85,4 %)
Nilsson 2015	39	-	EC: 34/39 >50; 19/39 >500; 2/39 >50.000	ESBL	2/39 >50.000** (≥5,2 %)
Lindinger et al. 2023	99	9×10^{4}–$3{,}8\times10^{8}$; Median $2{,}5\times10^{7}$	EB: <10^{2}–$3{,}9\times10^{7}$; Median $6{,}3\times10^{4}$	*Pseudomonas*, Staphylokokken, Polyamine, BA, TVB-N, *Salm.*, *L.m.*	80/99 (80,8 %)

n = Anzahl untersuchter Proben; *Salm.* = *Salmonella*; - = nicht untersucht; EB = Enterobacteriaceen; * = da *E. coli* und Coliforme Untergruppen der Enterobacteriaceen sind, ist die Anzahl der dem Enterobacteriaceenkriterium nicht entsprechenden Proben zumindest so hoch, wie in der Tabelle angegeben; ** = keine Angaben, wie viele Proben ≥5.000 KbE/g; ° = nach Probenart differenziert / n = number of tested samples; *Salm.* = *Salmonella*; - = not investigated; EB = Enterobacteriaceae; * = as *E. coli* and Coliforms are subgroups of the Enterobacteriaceae family, the numbers of samples non-compliant to the Enterobacteriaceae-criterion are at least as high as stated in the table; ** = no information on number of samples with Enterobacteriaceae-counts ≥5,000 cfu/g; ° = differences between sample types considered

Jimenez-Colmenero 2004)]. Biogene Amine entstehen beim (oft bakteriell bedingten) Abbau von Aminosäuren und eignen sich daher gut als Verderbsindikatoren in eiweißhaltigen Lebens- und Futtermitteln (Paulsen et al. 2021a,b; Lindinger et al. 2023).

Während die überwiegende Anzahl der Proben Gesamtamingehalte von unter 300 mg/kg (empfohlener Grenzwert für Tierfutter nach Midwest oJ) aufweist, zeigen die – von Lebensmitteln abgeleiteten - Indikatoren von Mietz und Karmas (1978) sowie von Ruiz-Capillas und Jimenez-Colmenero (2004) bei mehr als 60 % der Proben einen gewissen Grad an Zersetzung an.

Für Histamin existieren gesetzlich festgelegte Grenzwerte, allerdings lediglich für bestimmte Fischereierzeugnisse, die für den menschlichen Verzehr bestimmt sind [VO (EG) Nr. 2073/2005]. Die FEDIAF (2017) empfiehlt für Tierfutter einen Histaminhöchstwert von 500 mg/kg. Die Überschreitung dieses Grenzwerts wurde in keiner der in Tab. 4 angegebenen Studien berichtet.

Lindinger et al. (2023) bestimmten in ihrer Studie unter anderem auch die Gehalte an freien basischen Stickstoffverbindungen (TVB-N) von BARF-Produkten. Diese steigen bei verderbsbedingten Veränderungen von Proteinen mit der Dauer der Lagerung sowie durch andere Faktoren (Temperatur etc.) und werden insbes. bei Fischereierzeugnissen als Hygieneindikatoren herangezogen (Bekhit et al. 2021; Lindinger et al. 2023). Hier gibt es auch gesetzlich festgelegte Grenzwerte, die je nach Fischart zwischen 25 und 35 mg/100g variieren [DFVO (EU) 2019/627]. Für Fleisch werden niedrigere Grenzwerte [15 mg/100g in Südkorea (Korean Ministry of Agriculture and Forestry 2015) und 20 mg/100g in China (National Health and Family Planning 2016)] angegeben. Ähnlich wie bei den Amin-Indizes überschreitet die Mehrzahl der Proben diese Grenzwerte. Bekhit et al. (2021) verglichen verschiedene Studien, die die TVB-N Gehalte auch bei Fleisch anderer Tierarten untersuchten. Die Autoren hinterfragten die Anwendbarkeit eines einzelnen Grenzwertes für mehrere Fleischarten und diskutierten, ob für jede Fleischsorte individuelle Grenzwerte festgelegt werden sollten (Bekhit et al. 2021).

Zu pH-Werten und der Wasseraktivität von BARF-Material existieren kaum Daten, obwohl diese helfen können, die Verderbsanfälligkeit dieses Futters abzuschätzen (Koch et al. 2020).

Pathogene Mikroorganismen und Antibiotikaresistenzen

Dem Vorkommen von pathogenen Mikroorganismen in BARF-Produkten kommt besondere Bedeutung zu, insbes. wenn sie zoonotisches Potential besitzen und damit eine Gefahr für Tier und Mensch darstellen. Rohfütterung als Risiko, an bakteriellen und viralen Infektionen zu erkranken, wird derzeit auch international von Behörden des öffentlichen Gesundheitswesens in den Fokus genommen, wobei antibiotikaresistenten Keimen besondere Aufmerksamkeit zukommt.

Die Übertragung der Erreger auf den Menschen kann über direkten Kontakt mit dem Futter durch Küchengerätschaften und Kontaktflächen, aber auch durch Kontakt mit den gebarften Heimtieren sowie deren Ausscheidungen erfolgen (Cobb & Stavisky 2013). Zu den Zoonosen, die durch Rohfütterung verursacht werden, zählen Salmonellose, Campylobacteriose, Listeriose sowie Infektionen mit pathogenen *E. coli*. In einer Übersichtsarbeit von Davies et al. (2019) zu mikrobiologischen Gefahren der Rohfütterung von Hund und Katze wurden zahlreiche Studien, die sich mit dem Nachweis von *Salmonella* spp., *Campylobacter, Yersinia*, Listerien sowie pathogenen *E. coli* im Hunde- und Katzenfutter präsentiert. Zu erwähnen sind auch eine Fallstudie von einer Infektion durch *Brucella suis* nach Rohfütterung von Hunden mit Hasenfleisch (Frost et al. 2017) sowie ein Ausbruch von *Mycobacterium bovis* bei Hauskatzen durch rohes Wildbretfutter (O'Halloran et al. 2021).

Solís et al. (2022) untersuchten sowohl Futter als auch Kot von Hunden auf das Vorkommen von pathogenen Keimen. Dabei konnte festgestellt werden, dass Hunde, die gebarft wurden, im Vergleich zu Hunden, denen extrudiertes Futter angeboten wurde, ein erhöhtes Vorkommen von pathogenen Bakterien im Kot

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Tab. 4: Ergebnisse chemischer Untersuchungen von BARF Proben / Results of chemical analyses of BARF samples

Studie	n	Biogene Amine; min-max; Median, mg/kg	TVB-N, Median, mg/100g	pH	Weitere untersuchte Parameter	BAI>1[a]	Summe (Cadaverin + Histamin + Tyramin Putrescin) >50 mg/kg[b]	Summe aller Amine >300 mg/kg[c]	TVB-N>15 mg/100g[d]	TVB-N>20 mg/100g[e]
Koch et al. 2020	98	-	-	6,24 ± 0,29	Wasser-aktivität	-	-	-	-	-
Paulsen et al. 2021b	72	Cadaverin: uNW–154; 8,3 Histamin: uNW–64; 16,1 Putrescin: uNW–150; 18,6 Spermidin: uNW–32; 17,4 Spermin: uNW–39; 17,4 Tyramin: uNW–140; 21,1	–	–	Totkeimzahl	44 (61,1 %)	47 (65,3 %)	7 (9,7 %)	-	-
Lindinger et al. 2023	99	Cadaverin: 20,7 Histamin: 25,4 Tyramin: 18,9	27,2	-	aerobe mesophile Keimzahl, EB, Pseudomonas, Staphylokokken, Polyamine, BA, TVB-N, *Salm.*, *L.m.*	62 (62 %)	85 (85 %)	10 (10 %)	87 (87 %)	71 (71 %)

n = Anzahl untersuchter Proben; - = nicht untersucht; uNW = unter der Nachweisgrenze; a = Biogener Amine Index nach Mietz & Karmas (1978); b = Index nach Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero (2004); c = Höchstwert nach Midwest oJ; d = Grenzwert für Fleisch des Korean Ministry of Agriculture and Forestry (2015); e = Grenzwert nach National Health and Family Planning, China (2016) / n = number of tested samples; - = not investigated; uNW = below the limit of detection; a = Biogenic Amine Index according to Mietz & Karmas (1978); b = index according to Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero (2004); c = maximum value proposed by Midwest oJ; d = maximum limit for meat according to Korean Ministry of Agriculture and Forestry (2015); e = maximum limit according to National Health and Family Planning, China (2016)

zeigten. Hierbei war *Salmonella* spp. in 24,2 % der 55 Futterproben und 24,2 % der 33 Kotproben der am häufigsten nachgewiesene Erreger, gefolgt von 19 % *L. monocytogenes*, die im Rohfutter enthalten waren. Keiner der pathogenen Keime konnte im extrudierten Futter gefunden werden. Auch in einer Studie aus Österreich waren 5 von 20 Kotproben von gebarften Hunden *Salmonella*-positiv, wohingegen nur in einer von 20 Faeces-Proben der konventionell gefütterten Hunde *Salmonella* spp. detektiert wurde (Ansel et al. 2016). Auch in anderen Untersuchungen konnte durch Vergleich von Rohfutter und Faeces die Ausscheidung von pathogenen Bakterien auf die BARF-Methode zurückführt werden (Joffe & Schlesinger 2002; Morley et al. 2006). Das Risiko für den Menschen wird besonders in einer Untersuchung von Lefebvre et al. (2008) sichtbar, die zeigen konnten, dass die Inzidenzrate der Salmonellenausscheidung bei Therapiehunden, die mit rohem Fleisch gefüttert wurden, 0,61 Fälle/Hund und Jahr betrug, verglichen mit 0,08 Fällen/Hund und Jahr bei Hunden, die kein rohes Fleisch erhielten. In einer Studie aus Brasilien konnten Viegas et al. (2020) feststellen, dass bei Hunden, die mit rohem Fleisch gefüttert wurden, die Wahrscheinlichkeit eines positiven Befundes für *Salmonella* spp. im Kot fast 30-mal höher lag als bei Hunden, die konventionell ernährt wurden.

Zahlreiche Untersuchungen konnten *Salmonella* spp. in BARF-Mahlzeiten (Joffe & Schlesinger 2002; Strohmeyer et al. 2006; Bacci et al. 2019; Hellgren et al. 2019) sowie im Kot von gebarften Heimtieren nachweisen (Schmidt et al. 2018; Viegas et al. 2020; Groat et al. 2022). Die über das Futter aufgenommenen Bakterien

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2 PUBLISSO

können zu Symptomen wie leichter Gastroenteritis bis hin zu schwerer Septikämie führen (Binagia et al. 2020; Ramos et al. 2021), aber auch die symptomlose Dauerausscheidung von *Salmonella* spp. zur Folge haben (Bagcigil et al. 2007).

Besonderes Augenmerk ist auf Rohfutter zu legen, welches mit Shiga-Toxin produzierenden *E. coli* O157:H7 kontaminiert ist, da dieses als Quelle schwerer humaner Erkrankungen identifiziert werden konnte (Nemser et al. 2014; van Bree et al. 2018; Bottari et al. 2020). So beschrieben Kaindama et al. (2021) vier Fälle von Shiga-Toxin produzierenden *Escherichia coli* (STEC), die mit schweren klinischen Folgen verbunden waren. Drei der Erkrankten waren in Kontakt mit gebarften Hunden gekommen, wovon eine Person aufgrund des hämolytisch-urämischen Syndroms verstarb.

Antimikrobielle Resistenzen (AMR) können derzeit bereits als globale Bedrohung der öffentlichen Gesundheit gesehen werden (Europäische Kommission 2017). Daher stellt auch die Verbreitung von resistenten Bakterien aus BARF-Produkten oder Kot von gebarften Hunden und Katzen eine Gefahr für die öffentliche Gesundheit dar. In zahlreichen Arbeiten konnten bereits Bakterien aus Rohfutter und Kot gebarfter Hunde isoliert werden, die als Träger von Resistenzgenen identifiziert wurden (Nüesch-Inderbinen et al. 2019). Grund zur Besorgnis geben aus Rohfutter und Faeces gebarfter Heimtiere isolierte Bakterien, die gegen Beta-Laktame, die am häufigsten eingesetzten Antibiotika, resistent sind (Baede et al. 2015; Nilsson 2015; van Bree et al. 2018; Runesvärd et al. 2020; Cole et al. 2022; Ramos et al. 2022). Als besonders alarmierend ist der Nachweis von antibiotikaresistenten Salmonellen und Shiga-Toxin produzierenden *E. coli* in BARF-Produkten zu sehen (Finley et al. 2008; Leonard et al. 2015; Bacci et al. 2019; Viegas et al. 2020; Groat et al. 2022; Yukawa et al. 2022; Hathcock et al. 2023), da sie eine unmittelbare Gefahr für Tier und Mensch darstellen. Multiresistente Salmonellen-Stämme aus importiertem Geflügel- und Schweinefleisch, das in Großbritannien zur Herstellung von Heimtierfutter verwendet wurde, führten zu Bedenken bezüglich der Verbreitung von *Salmonella* Serovaren, die damals nicht in britischen Geflügelherden vorkamen (Davies et al. 2019).

Es finden sich in der Literatur nur wenige Hinweise auf Viren bzw. virale Erkrankungen, welche nachweislich durch rohes Fleisch auf Heimtiere übertragen wurden. Eine italienische Studie berichtet über die Erkrankung von Jagdhunden mit Pseudorabies nach dem Verzehr von rohem Wildschweinfleisch (Ciarello et al. 2022). Untersuchungen aus der Schweiz konnten bei zwei Hunden, die mit rohem Fleisch gefüttert wurden, Antikörper gegen Hepatitis E-Virus nachweisen (Veronesi et al. 2021). Es ist anzunehmen, dass Viren, die, wie in einer Überblicksstudie von Warmate et al. (2023) dargestellt, in unerhitztem Fleisch vorkommen, auch für gebarfte Heimtiere eine Gefahr darstellen. So konnte das Hepatitis A-Virus in rohem Rindfleisch nachgewiesen werden (Robesyn et al. 2009) und Humanerkrankungen durch Hepatitis E konnten auf den Verzehr von roher Schweineleber und nicht ausreichend erhitztem Wildschweinfleisch (Guillois et al. 2016; Rivero-Juarez et al. 2017) zurückgeführt werden.

Für BARF könnte die Tiefkühllagerung der verpackten Waren bis zur Auslieferung eine Kontrollmaßnahme im Sinn einer Virusinaktivierung darstellen. Beschrieben wurden eine Reduktion der Viruslast oder Inaktivierung des Aujeszkyvirus in Schweinefleisch und -organen bei -18 bis -20 °C, wobei die Dauer 3 bis 40 Tage betrug (Durham et al. 1980; Davies & Beran 1981; Donaldson et al. 1983). In einer Risikobewertungsstudie aus Neuseeland [Ministry of Primary Industries (NZ) 2014] wird Tieffrieren bei -20 °C für 40 Tage als Inaktivierungsoption angegeben, allerdings nicht als bevorzugte Verfahrensweise.

Parasiten

In den Rohstoffen Muskulatur und innere Organe von Schlachttieren und freilebendem Wild können grundsätzlich verschiedene Parasitenarten auftreten. Unter den Protozoen sind *Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Hammondia* spp., *Sarcocystis* spp. und *Cryptosporidium parvum* zu nennen, bei den Zestoden Finnen der Bandwürmer *Echinococcus granulosus* und *Taenia saginata* sowie unter den Nematoden Trichinellenlarven (van Bree et al. 2018; Ahmed et al. 2021). Hinsichtlich der Trichinellen(-larven) ist zu beachten, dass diese nicht nur bei Schweinen, sondern auch bei Einhufern auftreten können und in der EU auch auftreten (EFSA & ECDC 2022).

Im Fall der Rohfütterung von Fisch sind die Trematoden *Nanophyetus salmincola* und *Opisthorchis tenuicollis*, der Bandwurm *Diphyllobothrium latum* (Lejeune & Hancock 2001) sowie die Nematoden *Anisakis simplex* (Huh et al. 1993) und *Dioctophyma renale* (Lejeune & Hancock 2001) zu nennen. Bei Hunden und Katzen sind gesundheitliche Auswirkungen möglich, aber Menschen sind nicht direkt über Ausscheidungen der Heimtiere exponiert, sondern nur über den Verzehr von rohem Fisch (Ahmed et al. 2021).

Nach Aufnahme von Gewebezysten von *Toxoplasma* über das Futter bilden sich in Hunden wieder Gewebezysten, während es bei Katzen auch zur Ausscheidung von Oozysten kommt, sodass der Mensch beim Kontakt mit Katzen oder deren Ausscheidungen exponiert ist (Ahmed et al. 2021). Hunde fungieren als Zwischen- und Endwirte (Ausscheidung von Oozysten) für *Neospora caninum*. Die zoonotische Evidenz ist unklar; Antikörperbildung bei Menschen wurde nachgewiesen (Lobato et al. 2006). Allan et al. (2022) berichteten über Hinweise einer Infektion von Hunden mit *Hammondia heydorni* durch Rohfütterung. Die Infektion ist bei Hunden symptomlos und es gibt keine Hinweise, dass der Parasit zoonotisch wäre (ESCCAP 2018). Hunde oder Katzen können sowohl als End- als auch

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

als Zwischenwirte für verschiedene *Sarcocystis*-Arten fungieren (Ahmed at al. 2021). Menschen können als Zwischenwirte Gewebezysten ausbilden, meist symptomlos (Fayer 2004). Bei bestimmten Spezies stellt der Mensch den Endwirt dar (Rosenthal 2021); die Infektion muss über den Verzehr von rohem Fleisch erfolgen, sodass allenfalls eine Verschleppung von BARF-Material bei der Futterzubereitung in der Küche zu erwägen wäre. *Echinococcus granulosus* tritt bei Hunden nach der Aufnahme von Bandwurmfinnen auf. Für die humane Echinococcose mit Zystenbildung in inneren Organen gilt der Kontakt mit Hunden als einer der Haupt-Risikofaktoren (Torgerson et al. 2020). Eine Infektion von Hund und Katze mit *Trichinella* ist grundsätzlich möglich, da hier aber keine parasitären Stadien ausgeschieden werden, besteht keine Exposition von Menschen über den Umgang mit BARF-Produkten oder durch den Umgang mit Hunden im Haushalt (Ahmed et al. 2021).

Als Kontrollmaßnahme für die genannten Parasiten bietet sich, abgesehen von den erwähnten amtlichen Kontrollen auf Bandwurmfinnen und Trichinellenlarven bei der Fleischuntersuchung [DFVO (EU) 2019/627], bei BARF-Fleisch das Tiefgefrieren an. Aus der Zusammenstellung von Ahmed et al. (2021) ergibt sich, dass Tiefgefrieren bei -20 °C für 3 Tage *Cryptosporidium, Sarcocystis, Toxoplasma*-Gewebezysten und Finnen des *Echinococcus granulosus* inaktiviert. Unter Berücksichtigung der Vorgaben für das Tiefgefrieren im Rahmen der Brauchbarmachung von schwachfinnigem Fleisch (-18 °C für 72 Stunden; BGBl. II Nr. 109/2006, §16) und für das Tiefgefrieren von nicht auf Trichinellen untersuchtem Fleisch von Hausschweinen [DFVO (EU) 2015/1375, Art. 3, Anh. II] können so HACCP-gestützte Verfahren zur Futtermittelsicherheit (und sofern es sich um zoonotische Parasiten handelt, auch zum Schutz des Menschen) entwickelt werden. Das Tiefgefrierregime kann auf die für die entsprechenden Rohstoffe typischen und aus Sicht des Gesundheitsschutzes relevanten Parasiten abgestimmt werden. In der Praxis bedeutet das, dass das Erzeugnis erst nach einer „Quarantäne" im Tiefgefrierlager ausgeliefert wird.

Die regelmäßige Untersuchung der Heimtiere auf intestinale Parasiten und ggf. Therapie (ESCCAP 2018) sowie die Beachtung hygienischer Grundsätze beim Umgang mit BARF-Produkten (siehe unten) können als zusätzliche Sicherheitsmaßnahmen gesehen werden.

Zum Vorkommen von parasitären Stadien in BARF-Fleisch wurden nur wenige Studien veröffentlicht. Van Bree et al. (2018) fanden in 8/35 Proben *Sarcocystis*-DNA, dabei war in je 4 Proben *S. cruzi* (in Proben mit deklarierter Rindermuskulatur), *S. tenella* (in Proben mit deklarierter Muskulatur vom Schaf oder Rind), und in zwei Proben DNA von *Toxoplasma gondii* (Proben mit Geflügelanteil). Die Autorinnen und Autoren verzichteten auf die Untersuchung auf Trichinellen und Bandwurmfinnen, da diese Untersuchungen ohnehin im Rahmen der amtlichen Fleischuntersuchung erfolgen. Für Trichinellen ist diese Argumentation nachvollziehbar, insbes. da das angewendete Nachweisverfahren (künstliche Verdauung) eine Sensitivität von 100 % (bei 3 Larven in Proben von 1 g je Tier) aufweist (Barlow et al. 2021), während die Sensitivität der Fleischuntersuchung in Bezug auf die Erkennung von Bandwurmfinnen *(Cysticercus)* weitaus niedriger (10–30 %, Laranjo-González et al. 2016; 17–71 %, EFSA 2013) ist; zur Sensitivität des Nachweises von *E. cysticus* konnten keine Angaben gefunden werden.

Strohmeyer et al. (2006) konnten in 3/144 BARF-Proben DNA von *Cryptosporidium* nachweisen; *DNA von Neospora* und *Toxoplasma* war in keiner Probe nachweisbar.

Chemische und physikalische Gefahren

Während TNP der Kategorie 2 ein mittleres bis hohes Risiko aufweisen, Umweltschadstoffe (= Kontaminanten), Medikamentenrückstände oder Fremdkörper zu enthalten (Toldrá et al. 2021) und deshalb nicht zu Heimtierfutter verarbeitet werden können, sollte Material der Kategorie 3 frei von den genannten Gefahren sein. Im Rahmen der Literaturrecherche wurden Arbeiten zu Schwermetallgehalten und eine Arbeit zu organischen Kontaminanten gefunden. Als „endogene" Kontaminanten wurden in der Literatur Schilddrüsenhormone identifiziert. Auch die bei BARF mitunter bewusst eingesetzten Knochen(-stücke) können als Fremdkörper in Erscheinung treten und dementsprechende Beschwerden im Verdauungstrakt hervorrufen. Pflanzliche Zusätze mit mutmaßlicher therapeutischer Wirkung sind zwar keine Kontaminanten, können aber chemische Gefahren darstellen.

Zu beachten ist, dass insbes. bei älteren Schlachttieren eine Akkumulation von Schwermetallen in bestimmten inneren Organen möglich ist, und ein Übertrag in Heimtierfutter erfolgen kann. Zu sterilisiertem Nassfutter und Trockenfutter existieren zahlreiche Studien; dabei gibt es auch Hinweise auf eine Änderung der Schwermetallkonzentrationen in den letzten Jahrzehnten. Atkins et al. (2021) fanden bei der Untersuchung von Trockenfutter in den USA 2019 niedrigere Blei- und Cadmium-, aber höhere Nickel-, Arsen- und Urankonzentrationen als in einer 2009 durchgeführten Studie. Bei verarbeiteten Futtermitteln ist neben der Metallkonzentration der Gewebe auch eine Kontamination durch Abrieb der Verarbeitungsmaschinen denkbar. Studien aus Brasilien zeigten erhöhte Gehalte an toxischen Schwermetallen (u.a. Hg, Pb, U, V) nicht nur in Dosenfutter (Zafalon et al. 2021), sondern auch in selbst hergestelltem Hunde- und Katzenfutter (Pedrinelli et al. 2019), wobei hier nicht klar zwischen roh verfütterten und erhitzten Zubereitungen unterschieden wird.

Während vor einigen Jahrzehnten noch die Bleibelastung der Umwelt durch Industrieemissionen und verbleiten Kraftstoff zur Bleikontamination von zur Heimtierfutterherstellung verwendetem Material im

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2 PUBLISSO

Vordergrund stand (Hankin et al. 1975), ist es heute der Bleieintrag durch die Verarbeitung von Geweben von mit bleihaltigen Geschoßen erlegtem freilebendem Wild, wie z.B. von Pain et al. (2023) für Heimtierfutter aus erlegten Fasanen gezeigt wurde. Erhöhte Bleigehalte in Heimtierfutter wurden in den letzten Jahren auch im Schnellwarnsystem RASFF der EU gelistet (z.B. 2022.3907; 2022.6707; 2023.2038). Insgesamt ergibt sich, dass der Schwermetallgehalt in Heimtierfutter von den Gehalten in den Zutaten und ggf. Maschinenabrieb bestimmt wird und nicht von der Art der Futterherstellung *per se*. Die Möglichkeit der freien Wahl der Zutaten bei selbst zusammengestelltem Futter könnte zwar grundsätzlich zur Verringerung der Schwermetallgehalte in der Ration beitragen, was aber durch den Vergleich der Ergebnisse von Zafalon et al. (2021) mit jenen von Pedrinelli et al. (2019) nicht gestützt wird.

Osborne et al. (2009) berichteten über eine 2007 in den USA stattgefundene Häufung von Nierenerkrankungen und Harnsteinen bei Hunden und Katzen, verursacht durch die betrügerische Zugabe von Melamin und Cyanursäure zu pflanzlichen Zutaten, die in Dosenfutter verarbeitet wurden. Die Autoren erwähnten auch, dass schon 2004 ein solches ausbruchsartiges Geschehen in Asien erfolgt war. Dass es sich dabei auch um eine Frage der Lebensmittelsicherheit handelt, zeigte sich 2008 in China, als es durch Melaminkontaminiertes Milchpulver zu gehäuften Todesfällen kam, was auch weltweite Produktrückrufe auslöste (WHO 2008). Sofern BARF-Zubereitungen supplementiert werden, ist ein Eintrag solcher oder anderer Kontaminanten nicht unmöglich.

Eine Erkrankung, die in den letzten Jahren durch die wachsende Popularität von BARF vermehrt aufgetreten ist, ist die Thyreotoxikose (Hyperthyreose durch Aufnahme von Schilddrüsenhormonen) (Köhler et al. 2012; Zeugswetter et al. 2013). Sie ist kein für die Rohfütterung spezifisches Problem, da die Schilddrüsenhormone durch Erhitzen nicht inaktiviert werden, es sind aber TNP mit Schilddrüsengewebe (unter Bezeichnungen wie: Kopffleisch, Schlundfleisch, Halsfleisch, Kehlfleisch, Stichfleisch; aber auch Kehlköpfe und Luftröhren als Kauartikel) beliebt zur Herstellung von BARF und werden zahlreich angeboten, da sie preisgünstig sind, und nicht als Lebensmittel verwendet werden. Von solchen Futterzutaten muss abgeraten werden.

Knochen, die einen essenziellen Teil der BARF-Methode darstellen, können beim Verzehren zu Verletzungen an Zähnen, Zunge und Maulschleimhaut führen und sind die häufigsten Fremdkörper, die den Ösophagus verlegen (Burton et al. 2017). Weiters können Obstruktion und Perforation von Magen und Darm durch spitze Knochenstücke vorkommen. Häufig findet man die Aussage, dass nur gekochte Knochen splittern und daher gefährlich wären, rohe aber nicht (Simon 2012; Wolf 2021). Dazu gibt es keine logische Erklärung und auch keine Hinweise in der Literatur, hingegen sehr wohl Fallberichte von Obstruktionen durch rohe Knochen (Allan 2015).

Literatur zu BARF empfiehlt häufig „natürliche Heilmittel", deren Wirkung nicht nachgewiesen ist. Einerseits wird Knoblauch eine antiparasitäre Wirkung nachgesagt (Simon 2012), die aber wissenschaftlich nicht bestätigt werden konnte. Andererseits ist Knoblauch für Hunde und Katzen durchaus toxisch (American College of Veterinary Pharmacists 2018). Es ist unbekannt, ob eine chronische Aufnahme geringer Dosen nicht auch schädlich ist. Es kann daher die Fütterung von Zwiebelgewächsen an Hunde und Katzen nicht angeraten werden.

Empfehlungen zur Handhabung von zur Rohverfütterung bestimmten TNP

Sowohl von offizieller (in Form von Leitlinien) als auch von inoffizieller Seite (Homepages von Herstellern, Internetforen) findet man Empfehlungen zur Handhabung von BARF-Produkten.

Rechtlich verpflichtend ist bei der Beförderung und Lagerung von für den Rohverzehr bestimmtem Heimtierfutter die Anbringung folgender Informationen: „Nur als Heimtierfutter. Von Lebensmitteln fernhalten. Hände und Werkzeuge, Utensilien und Oberflächen nach der Handhabung dieses Produkts waschen" [VO (EU) Nr. 142/2011, Anhang VIII, Kapitel 2b, vii]. In der österr. Leitlinie wird diese Kennzeichnung auch bei der Abgabe von BARF-Material durch zugelassene Betriebe an Letztverbraucherinnen und Letztverbraucher als verpflichtend angesehen (da BARF kein Endprodukt ist und dementsprechend noch der TNP-Gesetzgebung unterliegt).

In einer Studie von Bulochova et al. (2021) wurden von 61 % der untersuchten Hersteller keine Empfehlungen für die Handhabung von BARF-Produkten auf den jeweiligen Homepages bereitgestellt. Ähnliche Ergebnisse gab es bei den in der Studie von Lindinger et al. (2023) untersuchten Proben, wo bei 50 % (6/12) der Hersteller weder auf den Etiketten noch auf den jeweiligen Homepages diesbezügliche Informationen gefunden werden konnten. Bei 5 der insgesamt 12 Bezugsquellen waren direkt auf den Etiketten Hinweise zur Handhabung vorhanden (Tabelle 5). Die bereitgestellten Informationen beschränkten sich in den meisten Fällen auf Auftauempfehlungen sowie Hinweise zur Reinigung von Händen und Utensilien.

Von Tierbesitzerinnen und Tierbesitzern wird neben der persönlichen Beratung im Einzelhandel vor allem das Internet als Informationsquelle herangezogen (Morelli et al. 2019). Hier findet man neben Informationen, die von den Herstellern selbst bereitgestellt werden, auch Merkblätter von Interessensverbänden, u.a. von „UK Pet Food" (2023) (ehemals Pet Food Manufacturers' Association, PFMA). In erster Linie wird wieder auf das korrekte Lagern, Auftauen sowie

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Tab. 5: Von 12 BARF-Bezugsquellen (Herstellern) bereitgestellte Informationen zur Handhabung von BARF-Produkten, Wien, 2023 [Angaben zu von Lindinger et al. (2023) untersuchten Proben] / Information on handling of BARF-products provided by 12 BARF suppliers, Vienna, 2023 [relating to samples analysed by Lindinger et al. (2023)]

Bezugsquelle	Informationen auf der Verpackung	Informationen auf der Homepage	Auftauempfehlung	Hände waschen	Reinigung und Desinfektion der Utensilien	Verwendung gesonderter Utensilien
1	-	·	-	-	-	-
2	-	-	·	-	-	-
3	√	-	-	√	√	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	√	-	-	-	-
6	√	√	√	√	√	-
7	-	-	-	-	-	-
8	√	√	√	√	√	-
9	√	√	-	√	√	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	√	-	-	√	√	-

· = keine Angaben / · = no information given

Reinigen verwiesen, allerdings fehlen auch hier oftmals Hintergrundinformationen, was wiederum zu einer mangelhaften Aufklärung der oder zu Fehlinterpretationen durch die Tierbesitzerinnen und Tierbesitzer beitragen könnte (Bulochova et al. 2021).

Berücksichtigt man sowohl Empfehlungen von offizieller als auch von inoffizieller Seite, so werden einige Punkte immer wieder genannt. Das langsame Auftauen der Produkte im Kühlschrank wird etwa dem bei Raumtemperatur vorgezogen; ebenso wird empfohlen, sowohl die verwendeten Utensilien inkl. Futternapf als auch die Hände nach dem Zubereiten bzw. der Verwendung oder bei Kontamination zu waschen und ggf. zu desinfizieren (Anonym 2023a,b,c). Des Weiteren erscheint es sinnvoll, für den Umgang mit BARF-Produkten gesonderte Utensilien, bestenfalls in einem eigenen Raum (Garage etc. mit Waschmöglichkeit), zu verwenden (Bulochova et al. 2021). Dies gilt umso mehr für Haushalte, in denen besonders gefährdete Personengruppen (Kinder, Schwangere, ältere sowie immungeschwächte Personen) leben – insbes. für den Fall, dass ein direkter Kontakt zwischen diesen Gruppen und den Haustieren nicht vermieden werden kann (z.B. bei Kleinkindern) (Morelli et al. 2019; Bulochova et al. 2021). Auf die beiden letztgenannten Punkte wird nach Bulochova et al. (2021) nicht oder nur unzureichend hingewiesen und auch die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass den Tierbesitzerinnen und Tierbesitzern dieser Aspekt – möglicherweise aufgrund von zu wenig Aufklärung – weniger bewusst ist als die zuvor genannten Punkte.

Obwohl Tierbesitzerinnen und Tierbesitzer grundsätzlich zu wissen scheinen, dass rohes Fleisch Krankheiten übertragen kann (Corbee et al. 2013), halten sie Rohfütterung dennoch nicht für eine Gefahr für sich und ihre Familie (Lenz et al. 2009; Handl et al. 2012; Corbee et al. 2013; Ricci et al. 2016; Morelli et al. 2019) oder bewerten den Benefit für ihr Tier sogar höher als ein Gesundheitsrisiko für ihre Kinder (Corbee et al. 2013). Dass nicht mehr Fälle von menschlichen Infektionen durch roh gefütterte Haustiere beschrieben werden (Campagnolo et al. 2018; Candellone et al. 2021), mag daran liegen, dass der Zusammenhang oft gar nicht hergestellt wird, wenn die Fütterung der Haustiere in der Anamnese des erkrankten Menschen nicht erfasst wird.

Diskussion

„Biologisch Artgerecht" – Anspruch und Realität

Wie der Begriff „Biologisch artgerechte Fütterung" bereits nahelegt, wird impliziert, dass die Fütterung mit rohem Futter, das zum Großteil aus tierischen Bestandteilen besteht, der natürlichen Ernährung des Wolfes entspräche und dass kohlenhydratreiches Fertigfutter für die vom Wolf abstammenden Hunde „unnatürlich" sei und daher zu Schäden führe. Untersuchungen von fossilen Kotproben aus dem Neolithikum zeigen jedoch, dass Haushunde schon damals einen sehr variablen Speiseplan hatten, mit einem pflanzlichen Anteil von bis zu 66 %. Menschlicher

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Kot machte einen Anteil von bis 24 % aus (Cheung & Bosch 2023). Auch heute ernähren sich streunende Haushunde von menschlichen Abfällen tierischer und pflanzlicher Natur inklusive Fäzes und jagen nur wenig (Butler et al. 2018). Diese Änderungen in den Ernährungsgewohnheiten brachten auch Veränderungen in Anatomie und Physiologie mit sich, wie geringere Körpergröße und etwa anatomische Veränderungen an Schädelknochen (Losey et al. 2022; Coli et al. 2023) oder die verbesserte Fähigkeit zur Stärkeverdauung (Axelsson et al. 2013). Haushunde sind daher keine „klassischen" Karnivoren mehr, sondern sind eher als „Karni-Omnivoren" zu bezeichnen.

Typisches BARF, welches zum Großteil aus tierischen Produkten besteht, führt meist zu einer Eiweißzufuhr, die deutlich über den Empfehlungen liegt (siehe Tab. 1). Auch wenn es keine Hinweise gibt, dass eine hohe Eiweißzufuhr Hunden schadet, ist sie jedenfalls nicht sinnvoll, da der Körper Eiweiß nicht speichern kann, sondern ausscheiden muss. Auch in Hinblick auf nachhaltige Produktion von Heimtiernahrung ist die hauptsächliche Verwendung von TNP als Eiweiß- und Energiequelle ungünstig. Hundefutter mit höherem Gehalt an Stärke und pflanzlichen Nebenprodukten resultiert in geringer Umweltbelastung, Trockenfutter ist umweltfreundlicher als Nassfutter und hausgemachtes Futter (Pedrinelli et al. 2019).

Das österreichische Tierschutzgesetz verlangt (TschG §17 Abs. 1), dass Art, Beschaffenheit, Qualität und Menge des Futters dem Bedarf der Tiere entsprechen müssen und dass Futter und Wasser in einwandfreier Form verabreicht werden müssen. Eine Fütterung mit BARF-Produkten, die nicht bedarfsdeckend ist und Krankheitserreger enthält, widerspricht daher klar dem österreichischen Tierschutzgesetz. Als problematisch hinsichtlich der Bedarfsdeckung wird insbes. auch die nicht angepasste Versorgung mit Ca, Cu, Zn, I, sowie Vitaminen (A und D) angegeben (Dillitzer et al. 2011; Zimmermann 2013; Hajek et al. 2022).

Verwertung von Produkten aus der Schlachtung

Die sichere und zugleich möglichst wirtschaftliche Verwertung von Tierischen Nebenprodukten ist vielfältig und führt z.T. zu Produkten, die als Lebensmittel (z.B. Gelatine), oder als Bestandteile von Kosmetika, Pharmazeutika oder Futtermitteln Verwendung finden (Toldrá et al. 2016), wodurch TNP zu Ausgangsstoffen aufgewertet werden. Die Herstellung von BARF-Produkten kann zwar auch als Aufwertung angesehen werden; von jener, die durch die Herstellung von verarbeitetem Heimtierfutter gegeben ist, unterscheidet sie sich jedoch durch das Fehlen einer sicheren Behandlung [z.B. Sterilisieren; VO (EU) Nr. 142/2011]. Die Notwendigkeit eines „sicheren Umgangs" (Kontaminationsvermeidung, Höchsttemperaturen; mikrobiologische Kriterien zur Verifizierung) bleibt zwar bestehen, erlaubt aber nur bedingt die Kontrolle jener Gefahren, die schon im Rohstoff vorhanden sind. Die Tiefkühllagerung hat zwar das Potential zur Inaktivierung bestimmter Viren und parasitärer Stadien und kann daher in Sicherheitskonzepte integriert werden, es ist aber unklar, ob das Potential des Tiefkühlens als HACCP-gestützte Vorgangsweise von den Herstellern wahrgenommen wird und entsprechende Maßnahmen auch implementiert werden.

Futtermittelsicherheit im „One Health" Kontext

Die Herstellung eines sicheren Lebens- oder Futtermittels beginnt bereits bei der Schlachttier- und Fleischuntersuchung. Jene Bestandteile, die nicht für den menschlichen Verzehr geeignet sind, werden entsprechend TNP-Verordnung in drei verschiedene Kategorien eingeteilt, um so das Risiko, dass möglicherweise kontaminierte Teile in die Lebens- oder Futtermittelkette gebracht oder unkontrolliert „entsorgt" werden, zu minimieren. Diese Maßnahmen dienen der Gesunderhaltung von Mensch und Tier und der Vermeidung von Umweltkontamination, und sind damit dem Bereich „One Health" zuzuordnen. „One Health" beschreibt hierbei das Bestreben, die Gesundheit von Mensch, Tier und Umwelt in einen gemeinsamen Kontext zu setzen und so beispielsweise die Bildung von und Mechanismen hinter neu auftretenden Krankheiten oder Antibiotikaresistenzen zu verstehen und diesen somit auch wirksam entgegensteuern zu können (WHO 2022).

Während die Verwendung von TNP der Kategorie 3 zur Rohverfütterung in Zoos diesbezüglich gesundheitliche Auswirkungen im Wesentlichen nur auf die so gefütterten Tiere haben wird, ist bei als symptomlose Träger fungierenden Heimtieren eine Exposition der im selben Haushalt befindlichen Menschen durchaus vorstellbar. Zum besseren Verständnis der Expositionswege und deren tatsächlicher Bedeutung wären Angaben nicht nur zum Umgang mit BARF-Material, sondern auch zum Vorkommen vulnerabler Bevölkerungsgruppen (Kinder, Personen mit Grunderkrankungen, ältere Personen) in Haushalten, in denen Hunde gebarft werden, nötig.

Auch die Art der für die Herstellung von BARF verwendeten Organe dürfte für das Vorkommen von Pathogenen von Bedeutung sein. So zeigte sich in einer Studie von Lindinger et al. (2023), dass Pathogene tendenziell eher in „grünen" Innereien (Vormägen inkl. Inhalt) und anderen Innereien als in essbaren Innereien aufgefunden wurden. Es sind jedoch auch weitere mögliche Ursachen zu berücksichtigen, wie etwa die Art der Gewinnung oder auch Fehler bei der Einhaltung der Kühlkette.

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Fazit für die Praxis:
Die Herstellung von Futter für Heimtiere ist ein möglicher und nachhaltiger Verwertungsweg für Tierische Nebenprodukte. Bereiten die Besitzerinnen oder Besitzer das Futter selbst zu, sind sie für die Bedarfsgerechtheit selbst verantwortlich, was durch passende Supplementierung grundsätzlich leicht lösbar ist. Futterpläne basierend auf der BARF-Methode aus dem Internet oder populärwissenschaftlichen Büchern sind jedoch fast durchwegs fehlerhaft.
Aus mikrobiologischer Sicht ergibt sich bei Rohfütterung ein erhöhtes Risiko einer alimentären Exposition von Hund und Katze, und indirekt oder direkt auch der menschlichen Mitbewohnerinnen und Mitbewohner desselben Haushalts gegenüber pathogenen Bakterien und bestimmten Parasiten, die im Rohmaterial vorhanden sein können. Eine effektive Kontrollmöglichkeit existiert – in Form des Tiefgefrierens – für einige Parasiten und bestimmte Viren.
Aus ernährungsphysiologischer Sicht gibt es keine Vorteile der Rohfütterung, sondern nur gut dokumentierte Nachteile. Die wesentlichen postulierten Vorteile, wie individuelle Zubereitung, hohe Akzeptanz und Verdaulichkeit, können ebenso durch hausgemachte, gekochte Rationen erreicht werden. Um Nährstoffmängel zu vermeiden, sollte unbedingt eine fachtierärztliche Ernährungsberatung in Anspruch genommen werden.

Interessenkonflikt
Die Autorinnen und Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

Ahmed F, Cappai MG, Morrone S, Cavallo L, Berlinguer F, Dessi G, et al. Raw meat based diet (RMBD) for household pets as potential door opener to parasitic load of domestic and urban environment. Revival of understated zoonotic hazards? A review. One Health. 2021;13:100327. DOI:10.1016/j.onehlt.2021.100327

Allan RM. Enterectomy for treatment of small intestinal segmental volvulus secondary to dietary obstruction in a dog. Vet Rec Case Rep. 2015;3(1):e000179. DOI:10.1136/vetreccr-2015-000179

Allan F, Blake D, Miller Z, Church D. Biliary protozoa in a dog with acute cholangiohepatitis fed a raw food diet. J Vet Intern Med. 2022;36(6):2177–2180. DOI:10.1111/jvim.16565

Ansel AK, Flekna G, Stessl B, Iben C. *Salmonella* in food and in faeces of dogs fed raw food (BARF). 20th ESVCN Congress; 15.–17.09.2016; Berlin, Germany. p. 130.

Atkins P, Restivo T, Lockerman B. Heavy Metals in pet food: Changes in heavy metal contamination over the past decade. Spectroscopy. 2021;36(3):13–23.

Axelsson E, Ratnakumar A, Arendt M-L, Maqbool K, Webster MT, Perloski M, et al. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. Nature. 2013;495(7441):360–364. DOI:10.1038/nature11837

Bacci C, Vismarra A, Dander S, Barilli E, Superchi P. Occurrence and Antimicrobial Profile of Bacterial Pathogens in Former Foodstuff Meat Products Used for Pet Diets. J Food Prot. 2019;82(2):316–324. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-18-352

Baede VO, Wagenaar JA, Broens EM, Duim B, Dohmen W, Nijsse R, et al. Longitudinal study of extended-spectrum-β-lactamase- and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* in household dogs. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(6):3117–3124. DOI:10.1128/AAC.04576-14

Bagcigil AF, Ikiz S, Dokuzeylu B, Basaran B, Or E, Ozgur NY. Fecal shedding of *Salmonella* spp. in dogs. J Vet Med Sci. 2007;69(7):775–777. DOI:10.1292/jvms.69.775

Barlow A, Roy K, Hawkins K, Ankarah AA, Rosenthal B. A review of testing and assurance methods for *Trichinella* surveillance programs. Food Waterborne Parasitol. 2021;24:e00129. DOI:10.1016/j.fawpar.2021.e00129

Becker N, Dillitzer N, Thes M, Kienzle E. Demography of dog owners and rationale for feeding bone and raw food diets. 16th ESVCN Congress; 13.–15.9.2012; Bydgoszcz, Poland. p. 120.

Bekhit AE-DA, Holman BW, Giteru SG, Hopkins DL. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. Trends Food Sci Technol. 2021;109:280–302. DOI:10.1016/j.tifs.2021.01.006

Billinghurst I. Give your dog a bone. 1st ed. Australia: self-published; 1993.

Binagia EM, Levy NA. *Salmonella* Mesenteric Lymphadenitis Causing Septic Peritonitis in Two Dogs. Vet Med (Auckl). 2020;11:25–30. DOI:10.2147/VMRR.S238305

Bottari B, Bancalari E, Barera A, Ghidini S, Gatti M. Evaluating the presence of human pathogens in commercially frozen, biologically appropriate raw pet food sold in Italy. Vet Rec. 2020;187(7):e50. DOI:10.1136/vr.105893

Bulochova V, Evans EW. Raw Meat-Based Pet Feeding and Food Safety: Netnography Study of Pet Owner Comments and Review of Manufacturers' Information Provision. J Food Prot. 2021;84(12):2099–2108. DOI:10.4315/JFP-21-158

Burton AG, Talbot CT, Kent MS. Risk Factors for Death in Dogs Treated for Esophageal Foreign Body Obstruction: A Retrospective Cohort Study of 222 Cases (1998–2017). J Vet Intern Med. 2017;6:1686–1690. DOI:10.1111/jvim.14849

Butler JRA, Brown WY, du Toit JT. Anthropogenic food subsidy to a commensal carnivore: The value and supply of human faeces in the diet of free-ranging dogs. Animals. 2018;8(5):67. DOI:10.3390/ani8050067

Campagnolo ER, Philipp LM, Long LM, Hanshaw NL. Pet-associated Campylobacteriosis: A persisting public health concern. Zoonoses Public Health. 2018;65(3):304–311. DOI:10.1111/zph.12389

Candellone A, Girolami F, Badino P, Cerquetella M, Nebbia P, Aresu L, et al. Concomitant Campylobacteriosis in a puppy fed a rare home

cooked raw diet and owner: a one health perspective case report on the human-companion animal bound. 25th ESVCN Congress; 09.–11.09.2021; online. p. 17.

Cheung L, Bosch G: Nutritional considerations of the diet of Neolithic dogs: a literature review and scenario analyses. 27th ESVCN Congress; 07.–09.09.2023; Vila Real, Portugal. p. 121.

Ciarello FP, Moreno A, Miragliotta N, Antonino A, Fiasconaro M, Purpari G, et al. Aujeszky's disease in hunting dogs after the ingestion of wild boar raw meat in Sicily (Italy): clinical, diagnostic and phylogenetic features. BMC Vet Res. 2022;18(1):27. DOI:10.1186/s12917-022-03138-2

Cobb, MA, Stavisky J. *Salmonella* infections in dogs and cats. In: Barrow PA, Methner U, editors. *Salmonella* in Domestic Animals. 2nd ed. Wallingford: CABI; 2013. p. 318–336.

Cole SD, Healy I, Dietrich JM, Redding LE. Evaluation of canine raw food products for the presence of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing bacteria of the order Enterobacterales. Am J Vet Res. 2022;83(9):ajvr.21.12.0205. DOI:10.2460/ajvr.21.12.0205

Coli A, Prinetto D, Giannessi, E. Wolf and Dog: What Differences Exist? Anatomia. 2023;2(1):78–87. DOI:10.3390/anatomia2010007

Corbee RJ, Breed RD, Hazewinkel HAW. Feeding practice of dog owners active on internet forums. 17th ESVCN Congress, 19.–21.09.2013; Ghent, Belgium. p. 116.

Davies EB, GW Beran. Influence of environmental factors upon the survival of Aujeszky's disease virus. Res Vet Sci. 1981;31:32–36.

Davies RH, Lawes JR, Wales AD. Raw diets for dogs and cats: a review, with particular reference to microbiological hazards. J Small Anim Pract. 2019;60(6):329–339. DOI:10.1111/jsap.13000

Dillitzer N, Becker N, Kienzle E. Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. Br J Nutr. 2011;106:S53–S56. DOI:10.1017/S0007114511002765

Dodd S, Cave N, Verbrugghe A. Changes in feeding practices of domestic dogs and cats over the last decade. 22nd ESVCN Congress; 06.–08.09.2018; Munich, Germany. p. 227.

Dodd S, Barry M, Grant C, Verbrugghe A. Abnormal bone mineralization in a puppy fed an imbalanced raw meat homemade diet diagnosed and monitored using dual-energy X-ray absorptiometry. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2019;105 Suppl 2:29–36. DOI:10.1111/jpn.13118

Donaldson AI, Wardley RC, Martin S, Ferris NP. Experimental Aujeszky's disease in pigs: excretion, survival and transmission of the virus. Vet Rec. 1983;113(21):490–494.

Durham PJ, Gow A, Poole WS. Survival of Aujeszky's disease virus in frozen pig meat. Res Vet Sci. 1980;28(2):256–258.

EFSA and ECDC - European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. EFSA J. 2022;20(12):7666. DOI:10.2903/j.efsa.2022.7666

EFSA BIOHAZ Panel - EFSA Panel on Biological Hazards. Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (bovine animals). EFSA J. 2013;11(6):3266. DOI:10.2903/j.efsa.2013.3266

Fayer R. *Sarcocystis* spp. in Human Infections. Clin Microbiol Rev. 2004;17(4):894–902. DOI:10.1128/cmr.17.4.894-902.2004

FEDIAF (European Pet Food Industry Federation). FEDIAF Guide to Good Practice for the Manufacture of Safe Pet Foods. Brussels: FEDIAF; 2017.

FEDIAF (European Pet Food Industry Federation). Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. Brussels: FEDIAF; 2021.

Finley R, Reid-Smith R, Ribble C, Popa M, Vandermeer M, Aramini J. The occurrence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. Zoonoses Public Health. 2008;55(8-10):462–469. DOI:10.1111/j.1863-2378.2008.01147.x

Frost A. Feeding of raw *Brucella suis*-infected meat to dogs in the UK. Vet Rec. 2017;181(18):484. DOI:10.1136/vr.j4972

Gerstner K, Liesegang, A. Nutrition Consultation Service Vetsuisse Faculty 2013. 18th ESVCN Congress, 11.–13.09.2014, Utrecht, The Netherlands. Keine Seitenangabe.

Groat EF, Williams NJ, Pinchbeck G, Warner B, Simpson A, Schmidt VM. UK dogs eating raw meat diets have higher risk of *Salmonella* and antimicrobial-resistant *Escherichia coli* faecal carriage. J Small Anim Pract. 2022;63(6):435–441. DOI:10.1111/jsap.13488

Guillois Y, Abravanel F, Miura T, Pavio N, Vaillant V, Lhomme S, et al. High Proportion of Asymptomatic Infections in an Outbreak of Hepatitis E Associated With a Spit-Roasted Piglet, France, 2013. Clin Infect Dis. 2016;62(3):351–357. DOI:10.1093/cid/civ862

Hajek V, Zablotski Y, Kölle P. Computer-aided ration calculation (Diet Check Munich©) versus blood profile in raw fed privately owned dogs. J Anim Physiol Anim Nutr. 2022;106:345–354. DOI:10.1111/jpn.13601

Hall G, Breheny C, Khan Z, Schwarz T, Mellanby RJ. Severe nutritional deficiencies and osteopenia in a dog fed a homemade raw diet. Vet Rec Case Rep. 2020;8:e001038. DOI:10.1136/vetreccr-2019-001038

Handl S, Zimmermann S, Iben C. Reasons for dog owners to choose raw diets ('barf') and nutritional adequacy of raw diet recipes fed to dogs in Austria and Germany. 16th ESVCN Congress; 13.–15.9.2012; Bydgoszcz, Poland. p.124.

Handl S, Reichert L, Iben C. Survey on raw diets ('barf') and nutritional adequacy of raw diet recipes fed to cats in Austria and Germany. 17th ESVCN Congress; 19.–21.09.2013; Ghent, Belgium 2013. p. 118.

Hankin L, Heichel GH, Botsford RA. Lead in Pet Foods and Processed Organ Meats. A Human Problem? JAMA. 1975;231(5):484–485. DOI:10.1001/jama.1975.03240170026010

Hathcock T, Raiford D, Conley A, Barua S, Murillo DFB, Prarat M, et al. Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecium,* and *Salmonella* Kentucky Harboring Aminoglycoside and Beta-Lactam Resistance Genes in Raw Meat-Based Dog Diets, USA. Foodborne Pathog Dis. 2023;20(11):477–483. DOI:10.1089/fpd.2023.0043

Hellgren J, Hästö LS, Wikström C, Fernström LL, Hansson I. Occurrence of *Salmonella, Campylobacter, Clostridium* and *Enterobacteriaceae* in raw meat-based diets for dogs. Vet Rec. 2019;184(14):442. DOI:10.1136/vr.105199

Hendriks WH, Emmens MM, Trass B, Pluske JR. Heat processing changes the protein quality of canned cat foods as measured with a rat bioassay. J Anim Sci. 1999;77(3):669–676. DOI:10.2527/1999.773669x

Huh S, Sohn WM, Chai JY. Intestinal parasites of cats purchased in Seoul. Korean J Parasitol. 1993;31(4):371–373. DOI:10.3347/kjp.1993.31.4.371

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Joffe DJ, Schlesinger DP. Preliminary assessment of the risk of *Salmonella* infection in dogs fed raw chicken diets. Can Vet J. 2002;43(6):441–442.

Kaindama L, Jenkins C, Aird H, Jorgensen F, Stoker K, Byrne L. A cluster of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 highlights raw pet food as an emerging potential source of infection in humans. Epidemiol Infect. 2021;149:e124. DOI:10.1017/S0950268821001072

Koch J, Flekna G, Iben C, Smulders FJM, Paulsen P. Mikrobiologische Qualität von Muskelgewebe vom Rind zur Rohverfütterung an Hunde. Wien Tierarztl Monat - Vet Med Austria. 2020;107:91–98.

Köhler B, Stengel C, Neiger R. Dietary hyperthyroidism in dogs. J Small Anim Pract. 2012;53(3):182–184. DOI:10.1111/j.1748-5827.2011.01189.x

Kukier E, Goldsztejn M, Grenda T, Kwiatek K, Wasyl D, Hoszowski A. Microbiological quality of compound feed used in Poland. Bull Vet Inst Pulawy. 2012;56:349–354. DOI:10.2478/v10213-012-0061-x

Laranjo-González M, Devleesschauwer B, Gabriël S, Dorny P, Allepuz A. Epidemiology, impact and control of bovine cysticercosis in Europe: A systematic review. Parasit Vectors. 2016;9:81. DOI:10.1186/s13071-016-1362-3

Lefebvre SL, Reid-Smith R, Boerlin P, Weese JS. Evaluation of the risks of shedding Salmonellae and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta. Zoonoses Public Health. 2008;55(8-10):470–480. DOI:10.1111/j.1863-2378.2008.01145.x

LeJeune JT, Hancock DD. Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. J Am Vet Med Assoc. 2001;219(9):1222–1225. DOI:10.2460/javma.2001.219.1222

Lenox C, Becvarova I, Archipow W. Metabolic bone disease and central retinal degeneration in a kitten due to nutritional inadequacy of an all-meat raw diet. JFMS Open Rep. 2015;1(1):2055116915579682. DOI:10.1177/2055116915579682

Lenz J, Joffe D, Kauffman M, Zhang Y, LeJeune J. Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. Can Vet J. 2009;50(6):637–643.

Leonard EK, Pearl DL, Janecko N, Finley RL, Reid-Smith RJ, Weese JS, et al. Risk factors for carriage of antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* in pet dogs from volunteer households in Ontario, Canada, in 2005 and 2006. Am J Vet Res. 2015;76(11):959–968. DOI:10.2460/ajvr.76.11.959

Lindinger S, Bauer S, Dicakova Z, Pilz B, Paulsen P. Microflora, Contents of Polyamines, Biogenic Amines, and TVB-N in Bovine Offal and Game Meat for the Raw-Feeding of Adult Dogs. Animals. 2023;13(12):1987. DOI:10.3390/ani13121987

Lobato J, Silva DAO, Mineo TWP, Amaral JDHF, Segundo GRS, Costa-Cruz JM, et al. Detection of Immunoglobulin G Antibodies to *Neospora Caninum* in Humans: High Seropositivity Rates in Patients Who Are Infected by Human Immunodeficiency Virus or Have Neurological Disorders. Clin Vaccine Immunol. 2006;13(1):84–89. DOI:10.1128/CVI.13.1.84-89.2006

Loescher AS, Küller V, Vervuert I. BARF-Rationen für Hunde – Wie gut beraten Internet-Foren? kleintier.konkret. 2017;5:10–12.

Losey RJ, Nomokonova T, Guiry E, Fleming LS, Garvie-Lok SJ, Waters-Rist AL, et al. The evolution of dog diet and foraging: Insights from archaeological canids in Siberia. Sci Adv. 2022;8(29):eabo6493. DOI:10.1126/sciadv.abo6493

Mack JK, Kienzle E. Fehlversorgungen in „BARF"-Futterplänen für einen Wurf Berner-Sennenhund-Welpen. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere. 2016;44(5):341–347.

Michel KE. Unconventional Diets for Dogs and Cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2006;36(6):1269–1281. DOI:10.1016/j.cvsm.2006.08.003

Mietz JL, Karmas E. Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. J. AOAC Int. 1978;61:139–145. DOI:10.1093/JAOAC/61.1.139

Morelli G, Bastianello S, Catellani P, Ricci R. Raw meat-based diets for dogs: survey of owners' motivations, attitudes and practices. BMC Vet Res. 2019;15(1):74. DOI:10.1186/s12917-019-1824-x

Morgan SK, Willis S, Shepherd ML. Survey of owner motivations and veterinary input of owners feeding diets containing raw animal products. Peer J. 2017;5:e3031. DOI:10.7717/peerj.3031

Morley PS, Strohmeyer RA, Tankson JD, Hyatt DR, Dargatz DA, Fedorka-Cray PJ. Evaluation of the association between feeding raw meat and *Salmonella enterica* infections at a Greyhound breeding facility. J Am Vet Med Assoc. 2006;228(10):1524–1532. DOI:10.2460/javma.228.10.1524

Morris A, Barnett A, Burrows O-J. Effect of Processing on Nutrient Content of Foods. Cajanus: The Caribbean Food & Nutrition Institute Quarterly. 2004;37(3):160–164.

Moscoso F, Liesegang A. Nutritional approach to an unbalanced homemade diet and subsequent overcorrection in a female kitten. 27th ESVCN Congress; 07.–09.09.2023; Vila Real, Portugal. p. 68.

National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Dogs and Cats. 1st ed. Washington, DC: The National Academies Press; 2006.

Nemser SM, Doran T, Grabenstein M, McConnell T, McGrath T, Pamboukian R, et al. Investigation of *Listeria, Salmonella*, and toxigenic *Escherichia coli* in various pet foods. Foodborne Pathog Dis. 2014;11(9):706–709. DOI:10.1089/fpd.2014.1748

Nilsson O. Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. Infect Ecol Epidemiology. 2015;5:28758. DOI:10.3402/iee.v5.28758

Nüesch-Inderbinen M, Treier A, Zurfluh K, Stephan R. Raw meat-based diets for companion animals: A potential source of transmission of pathogenic and antimicrobial-resistant Enterobacteriaceae. R Soc Open Sci. 2019;6:191170. DOI:10.1098/rsos.191170

O'Halloran C, Tørnqvist-Johnsen C, Woods G, Mitchell J, Reed N, Burr P, et al. Feline tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* infection of domestic UK cats associated with feeding a commercial raw food diet. Transbound Emerg Dis. 2021;68(4):2308–2320. DOI:10.1111/tbed.13889

Opsomer H, Gerstner K, Liesegang A. Survey: Puppy feeding practices and perceptions in Switzerland. 24th ESVCN Congress; 17.–19.09.2020; online. p. 34.

Osborne CA, Lulich JP, Ulrich LK, Koehler LA, Albasan H, Sauer L, et al. Melamine and Cyanuric Acid-Induced Crystalluria, Uroliths, and Nephrotoxicity in Dogs and Cats. Vet Clin North Am Small Anim. 2009;39(1):1–14. DOI:10.1016/j.cvsm.2008.09.010

Pain DJ, Green RE, Bates N, Guiu M, Taggart MA. Lead concentrations in commercial dogfood containing pheasant in the UK. Ambio. 2023;52(8):1339–1349. DOI:10.1007/s13280-023-01856-x

Paulsen P, Bauer S, Bauer F, Dicakova Z. Contents of polyamines and biogenic amines in canned pet (dogs and cats) food on the Austrian market. Foods. 2021a;10(10):2365. DOI:10.3390/foods10102365

Paulsen P, Bauer S, Kukleci E, Smulders FJM, Dicakova Z. Gehalte an biogenen Aminen in Tierfutterkonserven und in zur Rohverfütterung bestimmter Rindermuskulatur (BARF). J Food Saf Food Qual. 2021b;72(3):89–93.

Pedrinelli V, Zafalon RVA, Rodrigues RBA, Perini MP, Conti RMC, Vendramini THA, et al. Concentrations of macronutrients, minerals and heavy metals in home-prepared diets for adult dogs and cats. Sci Rep. 2019;9:13058. DOI:10.1038/s41598-019-49087-z

Radicke S, Wolf P. Investigation on average body weight, common feeding types, body condition score and the prevalence of disease in young and adult dogs. 20th ESVCN Congress; 15.–17.09.2016; Berlin, Germany. p. 80.

Ramos CP, Diniz AN, Ribeiro MG, de Paula CL, Costa ÊA, Sonne L, et al. Enteric Organisms Detected in Feces of Dogs With Bloody Diarrhea: 45 Cases. Top Companion Anim Med. 2021;45:100549. DOI:10.1016/j.tcam.2021.100549

Ramos CP, Kamei CYI, Viegas FM, de Melo Barbieri J, Cunha JLR, Hounmanou YMG, et al. Fecal Shedding of Multidrug Resistant *Escherichia coli* Isolates in Dogs Fed with Raw Meat-Based Diets in Brazil. Antibiotics. 2022;11(4):534. DOI:10.3390/antibiotics11040534

Ricci R, Morelli G, Fusi E, Danesi A, Bastianello S, Catellani P, et al. Attitude of dog owners using BARF in Italy: A survey. 20th ESVCN Congress; 15.–17.09.2016; Berlin, Germany. p. 131.

Rivero-Juarez A, Frias M, Martinez-Peinado A, Risalde MA, Rodriguez-Cano D, Camacho A, et al. Familial Hepatitis E Outbreak Linked to Wild Boar Meat Consumption. Zoonoses Public Health. 2017;64(7):561–565. DOI:10.1111/zph.12343

Robesyn E, De Schrijver K, Wollants E, Top G, Verbeeck J, Van Ranst M. An outbreak of hepatitis A associated with the consumption of raw beef. J Clin Virol. 2009;44(3):207–210. DOI:10.1016/j.jcv.2008.12.012

Rosenthal BM. Zoonotic *Sarcocystis*. Res Vet Sci. 2021;136:151–157. DOI:10.1016/j.rvsc.2021.02.008

Ruiz-Capillas C, Jimenez-Colmenero F. Biogenic Amines in Meat and Meat Products. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(7-8):489–499. DOI:10.1080/10408690490489341

Runesvärd E, Wikström C, Fernström LL, Hansson I. Presence of pathogenic bacteria in faeces from dogs fed raw meat-based diets or dry kibble. Vet Rec. 2020;187(9):e71. DOI:10.1136/vr.105644

Schmidt M, Unterer S, Suchodolski JS, Honneffer JB, Guard BC, Lidbury JA, et al. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. PLoS One. 2018;13(8):e0201279. DOI:10.1371/journal.pone.0201279

Schmitt S, Mack J, Kienzle E, Alexander LG, Morris PJ, Colyer A, et al. (2018). Faecal calcium excretion does not decrease during long-term feeding of a low-calcium diet in adult dogs. J Anim Physiol Anim Nutr. 2018;102:798–805. DOI:10.1111/jpn.12837

Siess K, Fritz J, Handl S. Evaluation of nutritional adequacy of raw food diets ("BARF") fed to growing dogs in Austria and Germany. 25th ESVCN Congress; 09.–11.09.2021; online. p. 29.

Simon S. BARF – Biologisch Artgerechtes Rohes Futter. 5th ed. Wadern: Verlag Drei Hunde Nacht; 2012.

Solis D, Toro M, Navarrete P, Faúndez P, Reyes-Jara A. Microbiological Quality and Presence of Foodborne Pathogens in Raw and Extruded Canine Diets and Canine Fecal Samples. Front Vet Sci. 2022;9:799710. DOI:10.3389/fvets.2022.799710

Strohmeyer RA, Morley PS, Hyatt DR, Dargatz DA, Scorza AV, Lappin MR. Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. J Am Vet Med Assoc. 2006;228(4):537–542. DOI:10.2460/javma.228.4.537

Tal M, Parr JM, MacKenzie S, Verbrugghe A. Dietary imbalances in a large breed puppy, leading to compression fractures, vitamin D deficiency, and suspected nutritional secondary hyperparathyroidism. Can Vet J. 2018;59(1):36–42.

Toldrá F, Mora L, Reig M. New insights into meat by-product utilization. Meat Sci. 2016;120:54–59. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.04.021

Toldrá F, Reig M, Mora L. Management of meat by- and co-products for an improved meat processing sustainability. Meat Sci. 2021;181:108608. DOI:10.1016/j.meatsci.2021.108608

Torgerson PR, Robertson LJ, Enemark HL, Foehr J, van der Giessen JWB, Kapel CMO, et al. Source attribution of human echinococcosis: A systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(6):e0008382. DOI:10.1371/journal.pntd.0008382

van Bree FPJ, Bokken GCAM, Mineur R, Franssen F, Opsteegh M, van der Giessen JWB, et al. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. Vet Rec. 2018;182:50. DOI:10.1136/vr.104535

Vecchiato CG, Schwaiger K, Biagi G, Dobenecker B. From Nutritional Adequacy to Hygiene Quality: A Detailed Assessment of Commercial Raw Pet-Food for Dogs and Cats. Animals. 2022;12(18):2395. DOI:10.3390/ani12182395

Veronesi R, Morach M, Hübschke E, Bachofen C, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. Seroprevalence of hepatitis E virus in dogs in Switzerland. Zoonoses Public Health. 2021;68(1):8–11. DOI:10.1111/zph.12779

Viegas FM, Ramos CP, Xavier RGC, Lopes EO, Júnior CAO, Bagno RM, et al. Fecal shedding of *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, and *Clostridioides difficile* in dogs fed raw meat-based diets in Brazil and their owners' motivation. PLoS One. 2020;15(4):e0231275. DOI:10.1371/journal.pone.0231275

Vinassa M, Nery J. Preliminary results on a survey on BARF diets in dogs. 23rd ESVCN Congress; 19.–20.09.2019; Torino, Italy. p. 197.

Warmate D, Onarinde BA. Food safety incidents in the red meat industry: A review of foodborne disease outbreaks linked to the consumption of red meat and its products, 1991 to 2021. Int J Food Microbiol. 2023;398:110240. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110240

Weber H. Mikrobiologie der Lebensmittel. Band 3 Fleisch-Fisch-Feinkost, 2nd ed. Hamburg: Behr's; 2008, p. 25–27.

Weese JS, Rousseau J, Arroyo L. Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. Can Vet J. 2005;46(6):513–516.

Wolf N. Das BARF-Buch. Leipzig: Eigenverlag; 2021.

Yukawa S, Uchida I, Takemitsu H, Okamoto A, Yukawa M, Ohshima S, et al. Anti-microbial resistance of *Salmonella* isolates from raw meat-based dog food in Japan. Vet Med Sci. 2022;8(3):982–989. DOI:10.1002/vms3.739

Zafalon RVA, Pedreira RS, Vendramini THA, Rentas MF, Pedrinelli V, Rodrigues RBA, et al. Toxic element levels in ingredients and commercial pet foods. Sci Rep. 2021;11(1):21007. DOI:10.1038/s41598-021-00467-4

Zentek J. Kapitel 4: Nährstoffe und Bedarf. In: Ernährung des Hundes. Grundlagen – Fütterung – Diätetik. 9th ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2022. p. 92–123.

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2

Zeugswetter FK, Vogelsinger K, Handl S. Hyperthyroidism in dogs caused by consumption of thyroid-containing head meat. Schweiz Arch Tierheilkd. 2013;155(2):149–152.

Zimmermann S. Umfrage zum Thema Rohfütterung "BARF" unter Hundebesitzern in Österreich und Deutschland und rechnerische Überprüfung von BARF-Rationen [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität; 2013.

Internetquellen

American College of Veterinary Pharmacists. Onions, Garlic and Chives. 2018. [cited 2024 January 23]. Available from: https://vetmeds.org/pet-poison-control-list/onions-garlic-and-chives/#!form/PPCDonations

Anonym. Leitlinie für Betriebe, die Heimtierfutter aus tierischen Nebenprodukten herstellen. 2020 [last update 2020 October; cited 2023 June 25]. Available from: https://www.verbrauchergesundheit.gv.at/be-_verarbeitung/TNP/Leitlinie-Heimtierfutterbetriebe.pdf?92t2y2

Anonym. BARF richtig auftauen - kostenlose BARF-Tipps! 2023a [cited 2023 July 24]. Available from: https://www.barf-snack.de/barf-ernaehrungsberater/barf-richtig-auftauen-kostenlose-barf-tipps

Anonym. Keine Angst vor TK-Barf-Fleisch per Post – was soll man beachten und was tun wir? 2023b [last update 2012 September; cited 2023 July 24]. Available from: https://www.graf-barf.de/blog/keine-angst-vor-tk-barf-fleisch-per-post-was-soll-man-beachten-und-was-tun-wir#:~:text=Komplett%20aufgetautes%20Fleisch%20k%C3%B6nnt%20ihr,werden%2C%20auch%20mehr%20als%20einmal

Anonym. B.A.R.F. Worauf sollte ich achten. 2023c [cited 2023 July 24]. Available from: https://loys.at/de/info/b-a-r-f-worauf-sollte-ich-achten.html

ESCCAP – European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. Control of Intestinal Protozoa in Dogs and Cats. ESCCAP Guideline 06 Second Edition – February 2018. 2nd ed. Malvern, UK, 2018. [cited 2023 June 25]. Available from: http://www.esccap.org/uploads/docs/5hk9fztt_0701_ESCCAP_Guideline_GL6_v8_1p.pdf

Europäische Kommission. A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR). 2017. [cited 2023 October 18]. Available from: https://health.ec.europa.eu/system/files/2020-01/amr_2017_action-plan_0.pdf

Korean Ministry of Agriculture and Forestry. Processing Standards and Ingredient Specifications for Livestock Products. Ministry of Food and Drug Safety Notice.No. 2015–94, 12/16/2015; Cheongju, South Korea, 2015. [cited 2023 October 22). Available from: https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_15/view.do?seq=70016&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=2

Ministry of Primary Industries (NZ). Biosecurity import risk analysis: Meat and meat products from ruminants and pigs. 2014. [cited 2024 January 23]. Available from: https://www.mpi.govt.nz/dms-document/2810-meat-and-meat-products-from-ruminants-and-pigs-draft-import-risk-analysis-february-2014

National Health and Family Planning. GB 5009.228-2016; National Food Safety Standard, Determination of Volatile Base Nitrogen in Foods. Beijing, China, 2016. [cited 2023 October 22). Available from: http://down.foodmate.net/standard/sort/3/49376.html

Midwest Laboratories. Biogenic Amines. Factsheet F423. oJ (ohne Jahresangabe). [cited 2023 October 18]. Available from: www.midwestlabs.com

RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed. 2023 [cited 2023 June 26]. Available from: https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search

Rössler V. Ernährungsberatung für Hunde und Katzen. 2023 [cited 2023 October 17]. Available from: http://barf-beratung.at/ausbildungen/

Statistik Austria. Haustiere in Österreich (Konsumerhebung 2019/20). 2020 [cited 2023 August 29]. Available from: https://www.statistik.at/fileadmin/pages/340/themenblatt_haustiere.pdf

UK Pet Food. Responsible Raw Feeding for Cats and Dogs. 2023 [cited 2023 July 24]. Available from: https://www.ukpetfood.org/resource/raw-feeding-factsheet.html

Wadehn U. Ernährungsberater:in Hund/Katze. 2023 [cited 2023 October 17]. Available from: https://barf-gut-akademie.de/ausbildung-zum-ernaehrungsberater-hund-katze/

WHO – World Health Organization. Melamine-contamination event, China, 2008. 2008 [last update 2008 October 1, cited 2023 June 26]. Available from: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/infosan_events/en/index.html

WHO – World Health Organization. One Health, 2022. 2022 [cited 2023 October 2]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/one-health

Rechtsnormen

Durchführungsverordnung (EU) 2015/1375 der Kommission vom 10. August 2015 mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen. Fassung vom 07.11.2023. ABl. L212:1–29.

Durchführungsverordnung (EU) 2019/627 der Kommission vom 15. März 2019 zur Festlegung einheitlicher praktischer Modalitäten für die Durchführung der amtlichen Kontrollen in Bezug auf für den menschlichen Verzehr bestimmte Erzeugnisse tierischen Ursprungs gemäß der Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2074/2005 der Kommission in Bezug auf amtliche Kontrollen. Fassung vom 09.01.2023. ABl. L131:1–64.

TSchG – Bundesgesetz vom 28.09.2004 über den Schutz der Tiere (Tierschutzgesetz-TSchG). BGBl. I Nr. 118/2004, zuletzt geändert durch BGBl I Nr. 130/2022.

Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit und Frauen über die Schlachttier- und Fleischuntersuchung (Fleischuntersuchungsverordnung 2006 - FlUVO). BGBl. II Nr. 109/2006.

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. Fassung vom 08.03.2020. ABl. L338:1–32.

Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. Fassung vom 01.07.2022. ABl. L31:1–50.

Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und

wtm Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria 111 (2024): doc2 PUBLISSO

zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002. Fassung vom 14.12.2019. ABl. L300:1–47.

Verordnung (EU) Nr. 142/2011 der Kommission vom 25. Februar 2011 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte sowie zur Durchführung der Richtlinie 97/78/EG des Rates hinsichtlich bestimmter gemäß der genannten Richtlinie von Veterinärkontrollen an der Grenze befreiter Proben und Waren. Fassung vom 14.12.2023. ABl. L54:1–360.

Please cite as:

Lindinger S, Flekna G, Iben C, Handl S, Paulsen P. Futtermittel-sicherheit und -qualität von rohem Heimtierfutter für Hunde (BARF), sowie ernährungsphysiologische Aspekte. Wien Tierarztl Monat – Vet Med Austria. 2024;111:Doc2. DOI:10.5680/wtm000029

Copyright ©2024 Lindinger et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 License. See license information at https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

2.2 Originalarbeit

Microflora, Contents of Polyamines, Biogenic Amines, and TVB-N in Bovine Offal and Game Meat for the Raw-Feeding of Adult Dogs. Animals. 2023;13:1987
https://doi.org/10.3390/ani13121987

animals

MDPI

Article

Microflora, Contents of Polyamines, Biogenic Amines, and TVB-N in Bovine Offal and Game Meat for the Raw-Feeding of Adult Dogs

Sarah Lindinger [1], Susanne Bauer [1], Zuzana Dicakova [2,†], Brigitte Pilz [1] and Peter Paulsen [1,*]

[1] Unit of Food Hygiene and Technology, Institute of Food Safety, Food Technology and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria; sarah.lindinger@vetmeduni.ac.at (S.L.); susanne.bauer@vetmeduni.ac.at (S.B.); brigitte.pilz@vetmeduni.ac.at (B.P.)

[2] Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenskeho 73, 04181 Košice, Slovakia; zdicakova@gmail.com

* Correspondence: peter.paulsen@vetmeduni.ac.at; Tel.: +43-1-25077-3318

† Retired.

Simple Summary: Raw-feeding of dogs has become popular, but there is limited awareness if such feedstuff is sold in a fresh or decomposed condition, and if bacteria pathogenic to dogs and humans are present. "Freshness" and numbers of bacteria were examined in 99 samples for the raw-feeding of adult dogs. Samples were displayed and bought in deep frozen (−20 °C) condition. The median number (with first and third quartiles in brackets) of bacteria was 7.4 [6.4; 8.0], 6.5 [5.5; 7.7], and 4.8 [3.9; 5.6] log CFU/g for the total aerobic bacteria of *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae*, respectively. In bovine "red offal" ($n = 41$), the numbers of bacteria were lower ($p < 0,05$) than in other offal (n = 46; pre-stomach, esophagus, udder, and mixes thereof) and wild game meat ($n = 13$). The concentration of amino acid breakdown products indicated some degree of decomposition; however, only 10.1% of samples were found to be not compliant with a maximum amine content proposed for pet food. However, merely 19.2% of samples complied to the EU microbiological requirements. The pathogenic bacterium *Salmonella* was recovered from 12.1% of samples. Whilst the risk of exposure of humans handling such pet food can be reduced by hygiene precautions, the risk remains that dogs can acquire a feed-borne salmonellosis and shed the pathogen as a result.

Abstract: Microflora and contents of biogenic amines/polyamines and total volatile basic nitrogen (TVB-N) in 99 samples of bovine offal (red offal, $n = 41$ and other offal and mixes, $n = 45$) and wild game meat ($n = 13$) for raw meat-based diets (RMBD) for dogs were analyzed. Samples were bought in 11 local pet food shops and in one game-handling establishment in Austria (Lower Austria, Styria, and Vienna) in September and October 2022. Median contents (first and third quartiles in brackets) of cadaverine, histamine, tyramine, spermidine, and spermine were 20.7 [16.7; 28.6]; 25.4 [17.1; 47.2]; 18.9 [13.6; 38.9]; 15.2 [11.2; 21.2]; and 41.9 [<limit of detection; 64.5] mg/kg wet weight, respectively. The sum of putrescine + cadaverine + histamine + tyramine was >50 mg/kg in 85.9% of samples, indicating the use of low-quality ingredients or inappropriate storage conditions. However, only 10.1% of samples were determined to be not compliant with a maximum amine content proposed for pet food. Median contents of the total aerobic bacteria counts (TACs), *Pseudomonas*, and *Enterobacteriaceae* were 7.4 [6.4; 8.0]; 6.5 [5.5; 7.7]; and 4.8 [3.9; 5.6] log CFU/g, respectively, with significantly lower counts in red offal RMBD ($p < 0.05$). TVB-N exceeded 150 mg/kg in 87.9% of samples. The TACs and *Enterobacteriaceae* numbers in red offal RMBD were comparable to those in food-grade red offal after 6 days of aerobic storage at 7 °C, i.e., temperatures higher than required for food-grade offal, but acceptable for animal by-products intended for RMBD production. In 80.8% of samples, numbers of *Enterobacteriaceae* exceeded the EU legal limit. From 12 of these samples, Salmonellae was able to be isolated, with counts from 0.03 MPN/g to 110 MPN/g. *Salmonella enterica* ser. Montevideo ($n = 3$), and *S. enterica* ser. Give and *S. enterica ssp. Diarizonae* ($n = 2$ each) were the most frequently isolated, while *Listeria monocytogenes* was rarely recovered (2%). Whilst exposure of

check for updates

Citation: Lindinger, S.; Bauer, S.; Dicakova, Z.; Pilz, B.; Paulsen, P. Microflora, Contents of Polyamines, Biogenic Amines, and TVB-N in Bovine Offal and Game Meat for the Raw-Feeding of Adult Dogs. *Animals* **2023**, *13*, 1987. https://doi.org/10.3390/ani13121987

Academic Editors: Mandy Paterson and Dennis E. Jewell

Received: 28 April 2023
Revised: 2 June 2023
Accepted: 12 June 2023
Published: 14 June 2023

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

humans handling such pet food can be reduced by hygiene precautions, the risk remains that dogs can acquire a feed-borne salmonellosis and shed the pathogen.

Keywords: RMBD; red offal; pre-stomach; udder; microbiology; *Salmonella*; biogenic amines; total volatile basic nitrogen; spoilage

1. Introduction

As many slaughter by-products do not enter the food chain for health, sensory, or commercial reasons, they are either disposed of or further processed, e.g., into pet food [1–5]. Beef processing generates a substantial amount of such products, amounting up to 44% of cattle live weight [6]. Pet owners can obtain these products either in processed or in raw form, with the latter for a raw meat-based diet (RMBD), often also termed "Biologically Appropriate Raw Food" (BARF). They give various reasons for why they decide to feed their pets in this way, be it the assumption that RMBD products are healthier, or that they are more species-appropriate compared to the conventional dry or wet pet food [7–10].

When processing animal by-products into pet food in the European Union, Regulation (EC) No 1069/2009 and Regulation (EC) No 142/2011 are applicable [11,12] in addition to the general food law [13]. In more detail, Regulation (EC) No 1069/2009 [11] defines three categories of animal by-products, with category 3 comprising "carcases and parts of animals slaughtered or, in the case of game, bodies or parts of animals killed, and which are fit for human consumption in accordance with Community legislation, but are not intended for human consumption for commercial reasons" and carcasses and other parts originating from animals that have passed the ante-mortem inspection and have been slaughtered in an approved slaughterhouse, but are either generally not fit for human consumption (e.g., pig bristles) or are "rejected as unfit for human consumption in accordance with Community legislation, but which did not show any signs of disease communicable to humans or animals" (Article 10, Regulation (EC) No 1069/2009 [11]. Such material can be used for the manufacturing of raw pet food under several precautions (Article 14, Regulation (EC) No 1069/2009); notably, raw feeding is not allowed for farm animals. Regulation (EC) No 142/2011 [12] lays down the hygiene requirements for such RMBD products, and in its Annex XIII, Chapter II, defines the microbiological criteria for the acceptance of feed batches. In addition, the pet food industry has established standards, and researchers have applied these standards for the foods of animal origin on the RMBD (details are presented in the context of this study in Section 2.3, Section 2.5, Section 4.1, and Section 4.3 of this article). Maximum temperatures for raw materials for the manufacture of a RMBD have been defined [12], and criteria for the "safe" feeding stuff must be fulfilled [13].

Although RMBD products are sometimes labelled or advertised as "complete feed", they often do not provide a nutrient supply that fulfils all the requirements of growing or adult dogs [14,15]. In addition, it has been reported that RMBD products might not meet the hygienic quality standards set for pet food. While canned pet food is sterilized before being placed on the market, RMBD products are usually sold without having been preserved beforehand. Thus, RMBD products need to be stored under refrigeration or deep-frozen (−20 °C) and need to be fed to the dogs soon after thawing [3–5,16].

Numerous studies have investigated the microbiological characteristics of RMBDs, on the one hand to assess the hygienic conditions of the feedstuff [4,5,9,15–21], and on the other hand concerning the occurrence of (food-borne) biological hazards (in particular *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, and pathogenic *E. coli*) [9,10,15–32] or parasites [3,18], and finally also in relation to the presence and possible transmission of antibiotic resistance [10,16,19,20,22,24–30,32,33]. In essence, these studies highlighted that a RMBD will likely contain pathogenic bacteria, and that these bacteria or commensals can carry antibiotic resistance genes. *Salmonella*, in particular, represents a health hazard not only for dogs consuming RMBDs, but also for pet owners feeding such raw diets [25].

Furthermore, the levels of spoilage or hygiene indicator for bacteria are not infrequently above the legal limits.

Chemical indicators, such as total volatile basic nitrogen (TVB-N) and biogenic amines (BA) can be used as complementary methods to assess the hygienic status by showing the degradation of the proteins or amino acids. Changes in the proteins and nitrogen-containing compounds caused by spoilage mechanisms result in the accumulation of volatile nitrogenous compounds, which are summarized under the term TVB-N [34]. As higher amounts of TVB-N result in changes in the flavor and color, TVB-N has therefore been commonly used as an indicator for the quality of seafood. Recently, there have also been efforts to use TVB-N as a standard quality parameter for meat. However, according to Bekhit et al. [34], using the commonly described threshold of ≤150 mg/kg without making a distinction for the different animal species may be insufficient, as there are species-specific initial conditions which could affect the change in the TVB-N values. Therefore, it would be appropriate to set specific limit values for each animal species [34,35].

Biogenic amines (BAs) are produced during the breakdown of amino acids and thus are well suited as spoilage indicators in proteinaceous foods [4,5,36,37]. The presence of significant amounts of biogenic amines not only affects the food quality, but also the health of consumers, including both humans and animals. In particular, the intolerance of dogs to alimentary histamine has been reported and studied [38–40]. The severity of these health issues depends on the amount of BAs ingested and individual susceptibility and can range up to circulatory disorders or even death [4,5,34]. The pet food industry has recognized histamine as a significant hazard [41].

Amongst the biogenic amines, polyamines (i.e., spermidine and spermine, and its precursor, putrescine) are polycationic substances, which normally stabilize DNA, are involved in apoptosis, and are abundant in metabolically active cells [42,43], but also in tumor cells [44]. Previous research has indicated an "anti-aging" effect of alimentary polyamines in mice [45].

Biogenic amine- and polyamine-based quality indices for assessing the decomposition of proteinaceous foods have been proposed [46,47], and for pet food a maximum amine content has been suggested [48].

The purpose of this study was to perform a comprehensive assessment of the hygiene quality profile of RMBD products from bovine offal and wild game muscle tissue purchased from east Austria. For the pathogen *Salmonella*, which is covered in microbiological criteria in the EU legislation on animal by-products [12], *Salmonella* levels were determined to provide an estimate of the dose of the pathogens ingested by dogs. Total aerobic bacteria counts and the numbers of *Enterobacteriaceae* were determined in aerobically stored red offal and results were compared with those in RMBD samples. This was done to estimate whether the bacterial numbers in RMBD could be sufficiently explained by a prolonged storage or inappropriate storage temperature of the raw materials before being processed into RMBDs.

2. Materials and Methods

2.1. Beef Offal and Wild Game Meat for Raw-Feeding

In September and October 2022, 99 samples were bought from eleven RMBD stores (representing 11 different RMBD producers) in Lower Austria, Styria, and Vienna and one game handling establishment in Lower Austria. The products chosen were intended for adult dogs and contained only offal from cattle ($n = 86$) or muscle tissue from hunted wild game (red deer and roe deer; $n = 13$). Amongst the 86 offal samples, 41 were composed of bovine red offal (heart, lung, liver, spleen, and kidney), 20 consisted of the bovine pre-stomach, and 10 samples were mixes of red offal and pre-stomach, respectively. Eight samples were composed of the pharynx, larynx, and esophagus and the remaining seven samples consisted of the udder. Details are given in Supplementary Table S1.

All samples were obtained in deep-frozen condition (−20 °C), vacuum-packaged, or filled in casings, with packaging sizes from 250–1000 g. Prior to examination, the samples were thawed in a refrigerator at +3 °C for 3–6 h.

2.2. Microbiological Examination

Total aerobic bacteria and numbers of *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, and *Pseudomonas* were determined using plating methods.

First, the entire sample was transferred to a sterile plastic bag, kneaded, and then a 25 g portion was taken under sterile conditions. This portion was homogenized at a 1:10 ratio in the maximum recovery diluent (OXOID CM733, Oxoid, Basingstoke, UK) for 60 s in a Stomacher-type lab blender (Interscience, St. Nom, France). A series of ten-fold dilutions was prepared in the maximum recovery diluent and a 0.1 mL aliquot was spread onto the surface of plate count (PC) agar plates (Merck 105463; Merck, Darmstadt, Germany) for total aerobic bacteria, with violet red bile glucose (VRBG) agar (Merck 110275; Merck, Darmstadt, Germany), for *Enterobacteriaceae* (incubation for 24 h at 37 °C), with Baird–Parker (BP) agar (Merck 105406 with supplement 103785) for *Staphylococcus aureus* (incubation for 48 h at 37 °C), and Glutamate-Starch-Penicillin agar (GSP; Merck 110230 with Penicillin G supplement; Sandoz, Kundl, Austria) for *Pseudomonas* (incubation for 72 h at 25 °C), respectively. The number of typical colonies was counted to calculate the number of colony-forming-units (CFUs) per gram of RMBD sample. Results were compared with the EU limits set out for raw materials for pet foods [12] and process hygiene criteria for foods [49]. Analyzes were performed in duplicate and the average of the two results was reported.

The presence of *Salmonella* was examined according to DIN EN ISO 6579-1 [50], with the reagents obtained from Merck. Suspected colonies on selective agars were sub-cultured and assessed for biochemical properties (Enteropluri system; Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italy) as well as serologically (omnivalent serum; Sifin, Berlin, Germany). Confirmed Salmonellae were sent to the National Reference Centre for serotyping. In samples containing Salmonellae, their numbers were determined by a 3-tube most-probable-number (MPN) method. In brief, triplicates of 10, 1, 0.1, and—in sample L8—0.01 g of sample in buffered peptone water were all incubated for 24 hrs at 37 °C, whereafter the selective enrichment and plating on solid selective media was performed as described above [50]. From the numbers of *Salmonella*-positive results per sample size (i.e., 10 g, 1 g, 0.1, and 0.01 g, respectively), an index number was generated, and the most probable number was determined [51].

The presence of *Listeria* was examined by means of antigen-detection from cultural enrichment (VIDAS LDUO; Biomerieux, Marcy l'Etoile, France), with reagents and procedures performed as specified by the manufacturer. Testing for *Salmonella* and *Listeria* was conducted once per sample.

2.3. Determination of TVB-N

Total volatile basic nitrogen (TVB-N) was determined according to the Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 [52]. A 50 g portion of each (undiluted) sample was taken and pre-homogenized in a grinder (Grindomix 200; Retsch, Haan, Germany).

Then, 90 mL of 0.6 M perchloric acid (Roth, Karlsruhe, Germany) was added to a 10 g sample, and the sample was then homogenized with a high-speed blender for 2 min (Ultra-Turrax T25, Jahnke & Kunkel, Staufen i. B., Germany). The slurry was filtered through a folded paper filter (MN 615$\frac{1}{4}$; Macherey-Nagel, Düren, Germany). Then, 50 mL of the homogenate was distilled in a Kjeldahl apparatus (Büchi, Flawil, Switzerland), with the addition of 6.5 mL of sodium hydroxide solution and 0.05 mL anti-foaming agent into 100 mL of boric acid solution (Roth). The absorbed bases were titrated with 0.01 M hydrochloric acid to determine the content of volatile nitrogen. In addition, a blank test was performed using perchloric acid solution instead of the sample extract. Total volatile

basic nitrogen was calculated according to the Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 [52] as mg N/100 g (Equation (1)).

$$TVB - N = \frac{(V_1 - V_0) * 0.14 * 2 * 100}{M} \quad (1)$$

where:

V_1 = volume of 0.01 M hydrochloric acid in ml for sample;

V_0 = volume of 0.01 M hydrochloric acid in ml for blank;

M = mass of sample in g.

Analyzes were performed in duplicate and the average of the two results was reported in mg/kg wet weight.

2.4. Determination of Biogenic Amines and Polyamines (Cadaverine, Histamine, Putrescine, Tyramine, Spermidine, and Spermine)

From the pre-homogenized sample (Section 2.3), a 10 g portion was taken and mixed with 90 g 10% trichloroacetic acid. The suspension was homogenized for 60 s (Ultra-Turrax T25). The slurry was first filtered through a folded paper filter, and then through a 0.45 µm cellulose-acetate membrane filter (Roth). The filtrate was adjusted to a pH of 11 ± 0.1 with the addition of $NaHCO_3$ solution and then reacted with dansyl chloride in the dark at 70 °C for 10 min (water bath). The liquid was taken to dryness under a reduced pressure (Rotavapor; Büchi) and the dried residue was washed with 2 mL acetonitrile to dissolve the dansyl derivatives of the amines [4,5]. These were subsequently separated on a RP-C_{18}-HPLC column (Symmetry, 4.6 × 150 mm; 3.5 µm; Waters, Milford, MA, USA) with a gradient elution program [4,5]. Amine derivatives were detected by UV-absorption at 254 nm, and then identified and quantified by the external standard method. Analyzes were conducted in duplicate and the average of the two results was reported.

The HPLC apparatus and detector were from Waters company (models 2695 and 996, respectively). Amine standard substances and dansyl chloride were obtained from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA), while the other reagents and eluents/solvents were purchased from Thermo Fisher (Waltham, MA, USA). The limit of detection was 1.5–2.8 mg/kg, depending on the amine [4,5]. Results were expressed as mg/kg wet weight.

2.5. Biogenic Amine Index Values and Proposed Limits

The biogenic amine index (BAI) and an index value which focuses on mono- and di-amines were calculated according to [46] (Equation (2)) and [53] (Equation (3)), respectively, to evaluate the amino acid decomposition of the samples.

$$\text{BAI} = \frac{\text{putrescine} + \text{cadaverine} + \text{histamine}}{\text{spermidine} + \text{spermine} + 1} \quad (2)$$

Amines in mg/kg wet weight; a BAI value > 1 is indicative for deterioration/decomposition [46].

$$\text{Index} = \text{putrescine} + \text{cadaverine} + \text{histamine} + \text{tyramine} \quad (3)$$

Values in mg/kg wet weight; an index value exceeding 50 mg/kg is indicative for deterioration [53].

For pet food, a maximum level of 300 mg/kg for the sum of all amines was proposed [48] and histamine levels should not exceed 500 mg/kg and above [41].

2.6. Samples for the Storage Trial

Bovine edible offal (tongue, esophagus, heart, lung, diaphragm, liver, spleen, and kidney) was provided by a slaughterhouse. There, offal had been cooled to an internal temperature <3 °C (required maximum temperature for offal [54]) overnight. Offal samples were then transported under refrigeration to the laboratory and stored at 3 °C (maximum

temperature for edible offal; simulating good practice) and 7 °C (maximum temperature for red meat muscles [54] and for animal by-products intended for RMBD production [12]) for 3 and 6 days under aerobic conditions, respectively in order to study the microbiota. For each type of offal, 15 samples (i.e., parts of ca. 250 g weight taken from 3–4 organs) were randomly assigned to 5 groups / sampling points (after cooling, i.e., 24 hrs after slaughter; after 3 and 6 days of storage at 3 and 7 °C, respectively). Samples were placed in plastic bags which remained open to allow the aerobic conditions to mimic storage conditions in practice. At each sampling point, the three samples were assessed for total aerobic bacteria and the numbers of *Enterobacteriaceae*. We report the averages of the log-transformed results for all offal samples ($8 \times 3 = 24$) for each time–temperature combination.

2.7. Statistical Procedures

For the 99 RMBD samples, the results were compared to reference values derived from the legislation on animal by-products [12], foods [49,55,56], or recommendations from science [45], or the industry [41,48]. For comparing the numbers of bacteria, TVB-N, and amine contents and index values, bovine offal samples and wild game muscle tissue samples were considered separately. Within the offal group, we separated the red offal samples from the other offal. For calculation of the BAI, results below the limit of detection were set to "1". The three product groups were also tested for statistically significant differences in regards to their compliance with the legal limits (3-by-2 chi-square test; MS Excel, with critical values obtained from [57]). Differences between the product categories in terms of the numbers of bacteria, TVB-N, and amine contents and index values were evaluated using non-parametric tests (Kruskal–Wallis test; MS Excel [57]), with $p < 0.05$ indicating a statistically significant difference.

For food-grade bovine offal samples, the influence of storage time and temperature on total aerobic bacteria or *Enterobacteriaceae* were assessed by the two-factor ANOVA with the Scheffé´s post-hoc test (Statgraphics 3.0 software). Results obtained after 6 days storage at 7 °C were compared to the results obtained for the RMBD samples.

3. Results

3.1. RMBD Samples

3.1.1. General Microbiological Condition of RMBD Samples

The median values were 7.4; 6.5; 4.8; and 4.3 log CFU/g for the TAC, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, and coagulase-negative staphylococci, respectively. For these groups of bacteria, "red offal" displayed significantly lower numbers than "other offal" and "wild game meat". *Staphylococcus aureus* was detected in 45/99 samples, with a maximum value of 4.8 log CFU/g. The frequencies of samples with *Staphylococcus aureus* counts above the limit of detection (i.e., 2 log CFU/g) in "red offal", "other offal", and "wild game meat" were found to not differ significantly ($p > 0.05$).

The TAC exceeded 7 log CFU/g in 62/99, and 8 log CFU/g in 27/99 samples, respectively. Detailed results are displayed in Table 1.

Salmonella sp. was recovered in 12/99 samples (25 g aliquots). The isolates were serotyped by the National Reference Centre: *S. enterica* ser. Montevideo (three isolates), *Salmonella enterica* group IIIb and S. *enterica* ser. Give (two isolates each); and one isolate each was typed as *S. enterica* ser. Typhimurium, *S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Bovismorbificans, *S. enterica* ser. Dublin, and *S. enterica* ser. Stockholm, respectively. The determination of the MPN of *Salmonella* in these 12 samples yielded results in the range from <0.03/g to 110/g (Table 2). The frequencies of *Salmonella*-positive samples in "red offal", "other offal" and "wild game meat" were found to not differ significantly ($p > 0.05$).

Table 1. Total aerobic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, coagulase-negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* in raw meat-based diet samples.

	Total Aerobic Bacteria, Log CFU/g	*Enterobacteriaceae*, Log CFU/g	*Pseudomonas*, Log CFU/g	Coagulase-Negative Staphylococci, Log CFU/g	*Staphylococcus aureus* *
Red offal	6.5 [a] [6.1; 7.4]	4.1 [c] [3.3; 4.9]	5.8 [e] [5.3; 6.9]	3.7 [g] [3.3; 4.5]	20/41; max: 4.8 log CFU/g
Other offal and mixes	7.7 [b] [7.0; 8.1]	5.1 [d] [4.0; 5.7]	7.2 [f] [5.8; 7.9]	4.7 [h] [4.2; 5.6]	21/45; max: 4.7 log CFU/g
Game meat (muscle)	7.6 [b] [7.4; 7.9]	5.5 [d] [5.3; 5.8]	7.3 [f] [7.1; 7.8]	4.1 [h] [3.8; 4.4]	4/13; max: 4.0 log CFU/g
All samples	7.4 [6.4; 8.0]	4.8 [3.9; 5.6]	6.5 [5.5; 7.7]	4.3 [3.6; 5.1]	45/99; max: 4.8 log CFU/g

Data refer to the wet weight and are presented as medians with the 1st and 3rd quartiles in brackets; * for *Staph. aureus*, the frequency of samples with results above the limit of detection (i.e., >2 log CFU/g), and the maximum value are reported. Within the columns, different superscripts indicate statistically significant differences, $p < 0.05$.

Table 2. The number of Salmonellae, in MPN/g, in raw meat-based diet samples that had tested positive for *Salmonella* sp. In 25 g aliquots.

Sample Number	Type	*Salmonella enterica* Serovar (ser.) or Subspecies (*ssp.*)	MPN/g
B1	spleen	*ssp. Diarizonae* (IIIb)	0.03
B3	pre-stomach (omasum)	ser. Montevideo	0.15
D7	mix * (various offal)	ser. Infantis	0.03
D9	pre-stomach (rumen, omasum)	*ssp. Diarizonae* (IIIb)	0.03
F1	pre-stomach (omasum)	ser. Dublin	4.6
F4	mix (rumen and esophagus)	ser. Stockholm	2.1
H1	pre-stomach (rumen)	ser. Bovismorbificans	2.1
H6	lung	ser. Montevideo	0.15
H14	wild game meat	ser. Montevideo	2.9
L8 *	pre-stomach (rumen)	ser. Typhimurium	>11/110 *
O1	mix (esophagus and other offal)	ser. Give	0.092
O9	lung	ser. Give	4.6

Letters in the first column indicate the manufacturer; * First result refers to a 3-tube MPN with 10/1.0/0.1 g, whereas the second result refers to a 3-tube MPN with 1.0/0.1/0.01 g.

Listeria monocytogenes antigens were detected in two samples (larynx-esophagus and pre-stomach), whereas antigens from Listeriae other than *L. monocytogenes* were detected in 24 samples (twelve in red offal, nine in other offal, and three in wild game meat, respectively). The frequencies of *Listeria*-positive samples in "red offal", "other offal", and "wild game meat" were found to not differ significantly ($p > 0.05$).

3.1.2. Contents of TVB-N, Biogenic Amines, and Polyamines of the RMBD Samples

Contents of TVB-N and amines are presented in Tables 3 and 4. Statistically significant differences were observed only for the contents of cadaverine (which was found to be higher in the wild game muscle tissue) and for spermine (which was found to be lower in the wild game muscle tissue).

Table 3. Contents of TVB-N and biogenic amines in raw meat-based diet samples.

	TVB-N, mg/kg	Cadaverine, mg/kg	Histamine, mg/kg	Tyramine, mg/kg
Red offal	262 [227; 348]	17.5 [a] [<LOD; 23.5]	23.5 [18.0; 85.0]	17.5 [11.1; 36.3]
Other offal and mixes	253 [180; 393]	20.8 [a] [17.7; 30.6]	29.1 [17.3; 45.5]	20.2 [13.9; 30.8]
Game meat (muscle)	313 [272; 353]	36.0 [b] [21.3; 53.8]	19.5 [15.0; 29.7]	29.8 [18.7; 63.4]
All samples	27.2 [19.4; 36.9]	20.7 [16.7; 28.6]	25.4 [17.1; 47.2]	18.9 [13.6; 38.9]

Data refer to the wet weight and are presented as medians with the 1st and 3rd quartiles in brackets. Within the columns, different superscripts indicate statistically significant differences, $p < 0.05$; LOD = limit of detection.

Table 4. Contents of polyamines in raw meat-based diet samples and index values.

	Putrescine, mg/kg	Spermidine, mg/kg	Spermine, mg/kg	BAI	Sum of Four Amines *, mg/kg	Sum of All (Six) Amines, mg/kg
Red offal	<LOD [<LOD; 20.6]	18.5 [12.1; 22.8]	57.4 [a] [<LOD; 82.2]	1.0 [0.6; 1.9]	90.4 [50.9; 173.1]	135.5 [84.7; 227.2]
Other offal and mixes	<LOD [<LOD; 26.9]	14.8 [11.2; 21.2]	37.8 [a] [<LOD; 61.9]	1.3 [0.8; 2.3]	88.2 [70.7; 120.2]	133.9 [100.8; 187.7]
Game meat (muscle)	16.9 [<LOD; 24.3]	14.3 [10.6; 15.5]	<LOD [b] [<LOD; 41.9]	1.9 [1.1; 4.2]	123.3 [75.4; 155.8]	128.3 [111.9; 166.6]
All samples	<LOD [<LOD; 24.9]	15.2 [11.2; 21.2]	41.9 [<LOD; 64.5]	1.3 [0.8; 2.3]	95.9 [67.8; 155.8]	134.9 [98.1; 206.6]

Data refer to the wet weight and are presented as medians with the 1st and 3rd quartiles in brackets; * putrescine + cadaverine + histamine + tyramine. Within the columns, different superscripts indicate statistically significant differences, $p < 0.05$; LOD = limit of detection.

3.1.3. Compliance of the Results with the Legal Requirements for RMBD Feed

Commission Regulation (EU) No 142/2001 [12] requires that in none of the five samples randomly taken during production or storage (before dispatch) can Salmonellae be detected in 25 g aliquots, and that numbers of *Enterobacteriaceae* are always less than 5000 CFU/g. Otherwise, the batch was considered as "unsatisfactory". Only one sample was tested per batch, and not before dispatch, but at retail. However, since the feed items were displayed and sold deep-frozen, it can be assumed that the microbiological condition at the time of analysis reflected the condition before dispatch. Out of the 99 samples, only 19 fulfilled the criteria (see Table 5).

Table 5. Compliance of the 99 raw meat-based diet samples, according to the product type and supplier.

Supplier	Pre-Stomach	Larynx and Esophagus	Udder	Red Offal	Mixes	Game Meat (Muscle)	Non-Compliant/ Tested
B	**1/1** *			**3/3**	1/1		5/5
C	1/1	1/1			1/1		3/3
D	**1/1**			2/6	**2/2**		5/9
E	0/2	3/3		3/3			6/8
F	**2/2**	1/1			**1/1**	2/2	6/6
H	**4/4**			**6/6**		**4/4**	14/14
K						1/1	1/1
L	**3/4**	1/1	2/2	5/7		1/1	12/15
N	1/1	2/2	3/3	1/1	1/1	2/2	10/10
O	1/1		1/1	**3/6**	**2/2**	2/2	9/12
P	2/2			1/6	1/1		4/9
S	1/1		1/1	3/3	0/1	1/1	6/7
total	15/20	8/8	7/7	**27**/41	9/10	13/13	80/99

Letters in the first column indicate the manufacturer; in the second to last column, the number of samples non-compliant to the *Enterobacteriaceae* criterion (i.e., ≥ 5000 CFU/g) is given, followed by the total of samples tested. * Bold lettering indicates that one of the samples contained *Salmonella* in a 25 g aliquot.

3.1.4. Compliance of the Results with the Recommended Limits for Feed and Foods

In 89/99 samples, the sum of all amines was below a recommended limit of 300 mg/kg [48]. Histamine contents were always <500 mg/kg [41].

When applying the EU process hygiene criteria for fresh (=raw) minced meat [49], 33/99 samples complied with the upper limit "M" for total aerobic bacteria, and the TACs of 37/99 samples were <7 log CFU/g, a value commonly associated with the spoilage of fresh meat [58]. Frequency of samples with a TAC <6.7 and <7.0 log CFU/g was significantly higher in "red offal" than in the two other product groups (Table 6).

Table 6. Compliance of TVB-N and amine contents in raw meat-based diet samples with the recommended limits for feed and food.

	TVB-N < 150 mg/kg	TVB-N < 200 mg/kg	BAI < 1	Sum of Amines ** < 50 mg/kg	Sum of all Amines < 300 mg/kg	TAC < 6.7 log CFU/g	TAC < 7 log CFU/g
Red offal	2/41 *	10/41	20/41	3/41	43/45	23/41 [a]	24/41 [d]
Other offal and mixes	8/45	15/45	15/45	10/45	33/41	10/45 [b]	12/45 [e]
Game meat (muscle)	2/13	3/13	2/13	1/13	13/13	0/13 [c]	1/13 [f]
All samples	12/99	28/99	37/99	14/99	89/99	33/99	37/99

Results refer to the wet weight; * Number of compliant samples/total number of samples; ** putrescine + cadaverine + histamine + tyramine. Within the columns, different superscripts indicate statistically significant differences, $p < 0.05$.

The number of samples complying with the limits for biochemical indicators was found to be in the same range, albeit with no statistical significance observed between the product groups. Although these limits do not directly apply to animal by-products for raw feeding, they do give an indication on the hygienic condition of the materials used.

3.2. Bovine Slaughter By-Products and Microbiological Condition after 3 and 6 Days of Aerobic Storage

The total aerobic bacteria counts of bovine offal were in the range of 4 log CFU/g at the day after slaughter, which increased to 4.8 log CFU/g when stored aerobically 6 days at 3 °C. When samples were stored at 7 °C, these numbers increased to 6.7 log CFU/g. Both the time and temperature, as well as the interaction of temperature with time were found to be statistically significant factors for the increase of the TAC. In contrast, numbers of *Enterobacteriaceae* were found to be influenced by the temperature and the interaction of temperature with time (Table 7). The averages reported for 6 days storage at 7 °C match well with the median values we found for "red offal" RMBD feed.

Table 7. Total aerobic bacteria counts (TACs) and *Enterobacteriaceae* in bovine offal, after aerobic cold storage (1, 3, and 6 days, respectively), in log CFU/g.

	1d-3 °C	3d-3 °C	6d-3 °C	3d-7 °C	6d-7 °C
TAC	4.1 ± 0.5^{Aa}	4.7 ± 1.0^{Bb}	4.8 ± 0.8^{Bb}	5.3 ± 0.8^{Cc}	6.7 ± 1.1^{Cc}
Enterobacteriaceae	2.3 ± 0.6^{Dd}	2.3 ± 0.5^{De}	2.7 ± 0.7^{De}	3.1 ± 0.9^{Df}	4.0 ± 1.3^{Df}

Results refer to the wet weight; Data are averages ± standard deviation of 24 samples (8 types of offal in triplicate). Within the rows, different capital superscripts indicate statistically significant differences by time, whereas lowercase superscripts indicate statistically significant differences by temperature.

4. Discussion

4.1. Legislative Requirements

Reg (EC) Nr. 142/2011 [12] sets out the limits for feedstuff from animal by-products intended for the raw-feeding of pets. Although these limits apply to feedstuff before being placed on the market, it is also reasonable to use these limits for frozen RMBDs in retail. *Salmonella* was recovered from 12% of the samples. This was higher than the results for muscle-based RMBDs [21] in Austria (7.3%). Studies from different European countries reported a prevalence range from 2 to 71% [15,18,19,23,30,31]. The higher percentage of *Salmonella*-positive (offal) samples in our study compared to that of Koch et al. [21] (which assessed muscle-based samples obtained from bovines) raises the question of whether the use of (green) offal compared to muscle tissue is a significant risk factor for the presence of *Salmonella* sp.; also see Section 4.2. Further studies may also focus on this issue.

In 81% of the samples, *Enterobacteriaceae* levels exceeded the "M" limit of 5000 CFU/g [12]. Similar figures have been reported in studies from Austria [21] and Italy [15]. Likewise, in studies investigating coliforms instead of *Enterobacteriaceae*, numbers < 5000 CFU/g were

the exception rather than the rule [19,23,31]. It has been reported that RMBDs from rabbit and poultry can contain higher numbers of *Enterobacteriaceae* [15], with maximum values exceeding 7 log CFU/g. Although, in our study, while the maximum was 7.6 log CFU/g, only 1/99 samples exceeded 7 log CFU/g, compared to 5/37 reported in a study from Italy [15].

4.2. *Salmonella* Serovars and Their Contents in the Samples

The *Salmonella* that had been recovered from twelve RMBD samples belonged to the species *enterica*. Furthermore, besides *S. enterica ssp. diarizonae*, seven different *S. enterica ssp. enterica* serovars were also identified.

S. enterica ser. Montevideo was isolated from three samples, with two containing pre-stomach tissue. Although the samples originated from two different retailers (corresponding to two separate RMBD producers), it cannot be excluded that there was a common source (i.e., that the two retailers obtained the raw material from the same slaughterhouse). Likewise, our results do not distinguish *Salmonella* presence due to infection/colonization of the live animals from contamination events during or post-evisceration. *S. enterica* ser. Montevideo has been reported in beef carcasses and ground beef [59], and also in RMBDs [17,28]. In the EU Zoonoses Report for 2021 [60], this serovar accounted for <1% of the reported *Salmonella* findings in bovines; however, there is no EU-wide harmonized testing scheme and no baseline study on the actual prevalence of *Salmonella* and its serovars in bovines in the EU [60].

In two samples, *S. enterica ssp. diarizonae* was identified. While to our knowledge there are no reports regarding the presence of this *Salmonella* subspecies in RMBDs, cases of infected sheep flocks and consequently contaminated sheep meat have been reported from various countries across Europe [61–63]. *S. enterica* ser. Give was also identified in two samples. This serovar has, albeit rarely, been isolated from bovines in the EU [60].

S. enterica serovars Typhimurium, Infantis, Bovismorbificans, Dublin, and Stockholm were found in one sample each. *S. enterica* ser. Typhimurium and *S. enterica* ser. Infantis are detected in RMBDs regularly [21,22,26,32]. Reports of the detection of *S. enterica* ser. Bovismorbificans in bovines, bovine meat, or RMBDs have been rare, but in 2021, this serovar was one of the 20 most frequently found serovars in humans infected with *Salmonella* [60].

In 2021, *S. enterica* ser. Dublin represented the most frequently found serovar in bovines in the EU (31%), followed by *S. enterica* ser. Typhimurium (30%). Being a cattle-adapted serovar [64,65], infections in humans with *S. enterica* ser. Dublin are infrequent but can cause severe disease, including septicemia and even death [65–67].

S. enterica ser. Infantis in turn was responsible for around 1.5% and 2% of the reported *Salmonella* infections in bovines and humans, respectively [60].

Reports of *S. enterica* ser. Stockholm infections seem to be rare. Gobeli-Brawand et al. reported that the serovar was detected in Switzerland for the first time in 2015 [68]. Since then, only two reports on *S. enterica* ser. Stockholm infections identified in an Indian slaughterhouse and in a human stool sample were mentioned in that study [69,70]. However, this finding underpins the zoonotic potential risk of this serovar.

Regarding RMBD, several authors have mentioned *S. enterica* ser. Heidelberg, *S. enterica* ser. Kentucky, and *S. enterica* ser. Saintpaul to be common serovars being shed from dogs fed with a RMBD [27,71]. However, these serovars were not found in our study.

In some studies, the prevalence of *Salmonella* on the surface of carcasses was investigated [72,73], but only limited data could be found on the prevalence of *Salmonella* in beef offal in particular [74–76]. McEvoy et al. investigated the prevalence of *Salmonella* in bovine carcasses, rumen, and feces and identified *S. enterica* ser. Dublin, *S. enterica* ser. Typhimurium, and *S. enterica* ser. Agona, respectively [74]. These results match with the findings in our study, as we also found *S. enterica* ser. Typhimurium and *S. enterica* ser. Dublin in samples of rumen and omasum, respectively. McEvoy et al. suggested that fasting prior to slaughter may cause a higher prevalence of *Salmonella* in the pre-stomach

because of the fasting inducing lower concentrations of volatile fatty acids, which normally inhibit *Salmonella* growth [74]. In contrast, Im et al. suspected that the improper handling of (green) offal could lead to a higher prevalence of *Salmonella* in green offal compared to meat products intended for human consumption [76].

In the studies mentioned above, only the presence and absence of *Salmonella* was examined. From examining the available literature, we found a few additional studies investigating levels of *Salmonella* in poultry and pork [77,78] and rendered products [79], but not specifically in RMBD products. The fact that six of our samples contained >1 *Salmonella*/g indicates that for these samples, ingestion of a 100–200 g portion results in the intake of several hundred to several tens of thousands of the pathogen per meal.

4.3. General Microbiological Condition and Chemical Freshness Indicators

The numbers of total aerobic bacteria in our samples were in the upper expected range and were comparable to those reported by Koch et al. [21], Solis et al. [9], and Vecciato et al. [15], respectively. Somewhat lower numbers with the maxima well below 7 log CFU/g were reported by Van Bree et al. [18] and Bottari et al. [31], respectively. Although the number of total aerobic bacteria in RMBD is per se not a convincing indicator of spoilage [15], the number of *Pseudomonas* (median 6.5 log CFU/g) in our samples indicates some degree of proteolytic activity. Coagulase-negative staphylococci were recovered from 45/99 samples, with a maximum of 4.8 log CFU/g. Nine samples exceeded 5000 CFU/g, which is the alert level for fresh minced meat suggested by German food safety experts [80]. *Listeria monocytogenes* was recovered in 2/99 samples, which is low compared to other studies [16,18,21,31].

In regard to the contents of biogenic amines, the median contents of cadaverine, histamine, tyramine, and spermidine in wild game meat (36; 19.5; 29.8; and 14.3 mg/kg wet weight, respectively) roughly complied with those previously reported for RMBDs from bovine muscle tissue (8.3; 18.6; 16.1; 21.1; 17.4) [21]. A significantly higher content of spermine and a lower content of its precursor putrescine could be explained by the different metabolic activities of the inner organs resulting in the generally higher concentrations of the polyamines in the inner organs than in the muscle tissues [81]. Contents of amines other than polyamines are largely attributable to the metabolic activity of contaminant bacteria, and may therefore, differ according to microbial contamination and storage conditions [36,37]. The accumulation of biogenic amines usually occurs when bacterial numbers exceed 7 log CFU/g [82]. Since this was the case for the majority of the RMBD samples, it was not surprising that the calculation of the index values showed that protein/amino-acid degradation had occurred in a large fraction of samples. Likewise, median TVB-N values in most samples were above the acceptable limits for muscle tissue [55,56]. Admittedly, such limits must be applied with caution when the initial ("natural") contents of the food or feed item are not known [35].

4.4. Comparison of RMBD Samples with Bovine Offal Stored at Elevated Temperature (7 °C) Conditions

RMBDs can be produced from food-grade meat or from food-grade slaughter by-products or animal by-products (category 3 material according to the EU Regulation 1069/2009 [11]. For food-grade bovine offal, bacteria numbers after 3 days of storage at 3 °C (4.7 log CFU/g for total aerobic bacteria and 2.3 log CFU/g for *Enterobacteriaceae*), i.e., under conditions typical in food retail, are much lower than for the tested RMBD samples.

Depending on the nature of the organ/tissue, the contamination events, and the conditions of storage, microbiological conditions can significantly vary, e.g., low numbers of bacteria in RMBDs have been reported by van Bree et al. [18] and Bottari et al. [31]; and the influence of partial defrosting during the delivery of deep-frozen RMBDs has been investigated by Vecchiato et al. [15]. However, there is no clear picture as to whether the raw materials at the slaughterhouse or their "history" in terms of their storage conditions account for the high or low numbers of bacteria found in RMBDs in retail. The usefulness

of longitudinal monitoring along the RMBD chain has been mentioned [21], but studies on this are lacking. In the experiment with food-grade bovine offal, it was shown that even a moderately elevated storage temperature (7 °C) for 6 days aerobic storage yielded total aerobic bacteria and *Enterobacteriaceae* counts as found in the red offal RMBD samples (for which 7 °C would be an appropriate storage temperature [12]). In other words, processing of food-grade offal with an undue delay could result in RMBD products with much lower numbers of TAC.

Admittedly, this does not resolve the *Salmonella* feed safety issue.

4.5. Implications for Dogs´ and Humans´ Health

According to the Zoonoses Report of the European Union, *S. enterica* ser. Enteritidis, *S. enterica* ser. Typhimurium, and monophasic *S. enterica* ser. Typhimurium were the predominant serovars in reported cases of human salmonellosis in the European Union in 2021 [60].

A few of the additional serovars found in our study (*S. enterica* ser. Infantis, *S. enterica* ser. Montevideo, *S. enterica* ser. Bovismorbificans, and *S. enterica* ser. Dublin, respectively) also occur in the list of the 20 most frequent serovars causing human salmonellosis in the European Union in the year 2021 [60].

Looking at the results of various studies from 2015–2021, the *Salmonella* prevalence in dogs ranges from 0.23 to 12.86%, with *S. enterica* ser. Newport, *S. enterica* ser. Enteritidis, and *S. enterica* ser. Typhimurium being the most predominantly identified serovars [83].

As has been known for many years, dogs rarely become clinically ill, but are much more likely to be asymptomatic carriers of *Salmonella* [84,85], and can shed the pathogen for up to six weeks [24]. In 2022, Russini et al. published a study on *S. enterica* ser. Typhimurium infections in children, in which the family dogs were identified as asymptomatic carriers [86], but it was not specified in that study whether the dogs were fed a RMBD or a conventional diet.

However, cases of clinical salmonellosis in dogs have also been reported and include symptoms such as a fever, diarrhea, and abdominal cramps [24,87].

A study from 2017, where dogs were tested for *Salmonella* showed that there were more *Salmonella*-positive dogs fed a RMBD than *Salmonella*-negative dogs fed a RMBD (16.7% and 7.2%, respectively), which further confirms the risk of a RMBD with respect to *Salmonella* [87].

In addition to the pets themselves in their role as carriers, the improper handling of contaminated (raw) pet food poses a major risk to the pet owner, especially when the pet food is prepared in the owner´s kitchen [16,87,88]. This is aggravated by the fact that, in at least some countries, the proportion of *Salmonella*-positive samples in feeding stuff and, in particular, in raw-meat-based pet food, is increasing [89]. Still, source attribution in human cases is far from complete [60], which means that the role of RMBDs in human infections, or a possible trend towards increased human cases due to the handling of RMBDs cannot be assessed properly.

The amount of *Salmonella* that must be ingested to cause infection depends on several factors, including serovar, food source and handling, and the general state of the health of the individual [83]. Only limited data on infectious doses of the individual *Salmonella* serovars was available. In a study by Hara-Kudo and Takatori, *S. enterica* ser. Montevideo and *S. enterica* ser. Agona were identified as the serovars with the lowest ingestion doses leading to an infection with the levels of 363 MPN and <1500 CFU, respectively, compared to, for example, *Salmonella enterica* ser. Enteritidis with doses of at least 3.51×10^6 CFU [83,90]. However, the infection rates in these outbreaks were relatively low at 12.5% and 23.6% for *S. enterica* ser. Montevideo and *S. enterica* ser. Agona, respectively, indicating that infection does not only depend on the serovar and number of Salmonellae ingested [83,89]. Regarding *S. enterica* ser. Montevideo, ingestion of a 150 g portion of sample H14 results in the uptake of ca. 450 cells, which is in the infectious range for dogs [90].

5. Conclusions

The analysis of 99 pet food samples for raw feeding of dogs revealed a poor compliance with the EU legal limits for such feedstuff. Since the samples were sold deep-frozen and in sealed casings, it can be assumed that this non-compliance already had existed at the production site. The presence of Salmonellae in quantities of >1 MPN/g in six samples, with a maximum of 110 MPN/g raises concerns about a food-borne transmission and the subsequent intestinal colonization of dogs. Likewise, the storage and handling of such food, as well as the cleaning of dishes requires hygiene precautions to protect humans [91]. Altogether, it is questionable whether the raw-feeding-related health risks to dog owners and dogs can be managed sufficiently.

The numbers of total aerobic bacteria and *Pseudomonas* indicate that these samples had a limited shelf life after defrosting. The high numbers of bacteria may be typical of the organ (e.g., green offal), or be a result of contamination or inappropriate storage. Even food-grade red offal can reach high bacterial numbers when stored 6 days at a moderately elevated temperature of 7 °C. Indicators for amino acid decomposition provide additional information on the "freshness" of raw meat-based pet food. A thorough analysis of the cold chain from slaughter to the manufacture of RMBDs will be the subject of future studies.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani13121987/s1, Table S1: Number of samples according to organ/tissue and supplier.

Author Contributions: Conceptualization, P.P.; methodology, S.L., S.B. and B.P.; validation, S.L.; formal analysis, P.P.; investigation, S.L., S.B. and B.P.; data curation, S.L.; writing—original draft preparation, P.P. and S.L.; writing—review and editing, P.P., Z.D. and S.L.; supervision, P.P.; project administration, P.P.; funding acquisition, P.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Open Access Funding by the University of Veterinary Medicine Vienna.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Original data are available at: https://phaidra.vetmeduni.ac.at/o:1582 (accessed on 11 June 2023).

Acknowledgments: The technical assistance of Ing. Andrea Pauker is acknowledged. The authors thank the National Reference Centre for Salmonellosis Austria, AGES, Graz, for serotyping the *Salmonella* isolates.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Jayathilakan, K.; Sultana, K.; Radhakrishna, K.; Bawa, A.S. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *J. Food Sci. Technol.* **2012**, *49*, 278–293. [CrossRef] [PubMed]
2. Meeker, D.L.; Meisinger, J.L. Companion Animals Symposium: Rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food. *J. Anim. Sci.* **2015**, *93*, 835–847. [CrossRef] [PubMed]
3. Ahmed, F.; Cappai, M.G.; Morrone, S.; Cavallo, L.; Berlinguer, F.; Dessì, G.; Tamponi, C.; Scala, A.; Varcasia, A. Raw meat based diet (RMBD) for household pets as potential door opener to parasitic load of domestic and urban environment. Revival of understated zoonotic hazards? A review. *One Health* **2021**, *13*, 100327. [CrossRef] [PubMed]
4. Paulsen, P.; Bauer, S.; Bauer, F.; Dicakova, Z. Contents of Polyamines and Biogenic Amines in Canned Pet (Dogs and Cats) Food on the Austrian Market. *Foods* **2021**, *10*, 2365. [CrossRef]
5. Paulsen, P.; Bauer, S.; Kukleci, E.; Smulders, F.J.M.; Dicakova, Z. Gehalte an biogenen Aminen in Tierfutterkonserven und in zur Rohverfütterung bestimmter Rindermuskulatur (BARF). *J. Food Saf. Food Qual.* **2021**, *72*, 89–93.
6. Marti, D.L.; Johnson, R.J.; Mathews, K.H. Where's the (not) meat? Byproducts from beef and pork production. *U. S. Dep. Agric.-ERS* **2011**, *209*, 55–81.
7. Bulochova, V.; Evans, E.W. Exploring Food Safety Perceptions and Self-Reported Practices of Pet Owners Providing Raw Meat-Based Diets to Pets. *J. Food Prot.* **2021**, *84*, 912–919. [CrossRef]

8. Bulochova, V.; Evans, E.W. Raw Meat-Based Pet Feeding and Food Safety: Netnography Study of Pet Owner Comments and Review of Manufacturers' Information Provision. *J. Food Prot.* **2021**, *84*, 2099–2108. [CrossRef]
9. Solís, D.; Toro, M.; Navarrete, P.; Faúndez, P.; Reyes-Jara, A. Microbiological Quality and Presence of Foodborne Pathogens in Raw and Extruded Canine Diets and Canine Fecal Samples. *Front. Vet. Sci.* **2022**, *9*, 799710. [CrossRef]
10. Groat, E.F.; Williams, N.J.; Pinchbeck, G.; Warner, B.; Simpson, A.; Schmidt, V.M. UK dogs eating raw meat diets have higher risk of Salmonella and antimicrobial-resistant Escherichia coli faecal carriage. *J. Small Anim. Pract.* **2022**, *63*, 435–441. [CrossRef]
11. European Parliament and the Council. Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and repealing Regulation (EC) No 1774/2002 (Animal by-products Regulation). *Off. J. Eur. Commun.* **2009**, *L300*, 1–47.
12. European Parliament and the Council. Commission Regulation (EU) No 142/2011 of 25 February 2011 implementing Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and implementing Council Directive 97/78/EC as regards certain samples and items exempt from veterinary checks at the border under that Directive. *Off. J. Eur. Commun.* **2011**, *L54*, 1–360.
13. European Parliament and the Council. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *Off. J. Eur. Commun.* **2002**, *L31*, 1–24.
14. Freeman, L.M.; Michel, K.E. Evaluation of raw food diets for dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2001**, *218*, 705–709. [CrossRef]
15. Vecchiato, C.G.; Schwaiger, K.; Biagi, G.; Dobenecker, B. From Nutritional Adequacy to Hygiene Quality: A Detailed Assessment of Commercial Raw Pet-Food for Dogs and Cats. *Animals* **2022**, *12*, 2395. [CrossRef] [PubMed]
16. Davies, R.H.; Lawes, J.R.; Wales, A.D. Raw diets for dogs and cats: A review, with particular reference to microbiological hazards. *J. Small Anim. Pract.* **2019**, *60*, 329–339. [CrossRef]
17. Strohmeyer, R.A.; Morley, P.S.; Hyatt, D.R.; Dargatz, D.A.; Scorza, A.V.; Lappin, M.R. Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2006**, *228*, 537–542. [CrossRef]
18. van Bree, F.P.J.; Bokken, G.C.A.M.; Mineur, R.; Franssen, F.; Opsteegh, M.; van der Giessen, J.W.B.; Lipman, L.J.A.; Overgaauw, P.A.M. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *Vet. Rec.* **2018**, *182*, 50. [CrossRef]
19. Hellgren, J.; Hästö, L.S.; Wikström, C.; Fernström, L.-L.; Hansson, I. Occurrence of Salmonella, Campylobacter, Clostridium and *Enterobacteriaceae* in raw meat-based diets for dogs. *Vet. Rec.* **2019**, *184*, 442. [CrossRef]
20. Nüesch-Inderbinen, M.; Treier, A.; Zurfluh, K.; Stephan, R. Raw meat-based diets for companion animals: A potential source of transmission of pathogenic and antimicrobial-resistant *Enterobacteriaceae*. *R. Soc. Open Sci.* **2019**, *6*, 191170. [CrossRef]
21. Koch, J.; Flekna, G.; Iben, C.; Smulders, F.J.M.; Paulsen, P. Mikrobiologische Qualität von Muskelgewebe vom Rind zur Rohverfütterung an Hunde. *Wien. Tierarztl. Monat.-Vet. Med. Austria* **2020**, *107*, 91–98.
22. Chengappa, M.M.; Staats, J.; Oberst, R.D.; Gabbert, N.H.; McVey, S. Prevalence of Salmonella in raw meat used in diets of racing greyhounds. *J. Vet. Diagn. Investig.* **1993**, *5*, 372–377. [CrossRef] [PubMed]
23. Weese, J.S.; Rousseau, J.; Arroyo, L. Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *Can. Vet. J.* **2005**, *46*, 513–516.
24. Finley, R.; Reid-Smith, R.; Weese, J.S. Human health implications of Salmonella-contaminated natural pet treats and raw pet food. *Clin. Infect. Dis.* **2006**, *42*, 686–691. [CrossRef]
25. Finley, R.; Ribble, C.; Aramini, J.; Vandermeer, M.; Popa, M.; Litman, M.; Reid-Smith, R. The risk of salmonellae shedding by dogs fed Salmonella-contaminated commercial raw food diets. *Can. Vet. J.* **2007**, *48*, 69–75.
26. Finley, R.; Reid-Smith, R.; Ribble, C.; Popa, M.; Vandermeer, M.; Aramini, J. The occurrence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. *Zoonoses Public Health* **2008**, *55*, 462–469. [CrossRef] [PubMed]
27. Lefebvre, S.L.; Reid-Smith, R.; Boerlin, P.; Weese, J.S. Evaluation of the risks of shedding Salmonellae and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta. *Zoonoses Public Health* **2008**, *55*, 470–480. [CrossRef]
28. Mehlenbacher, S.; Churchill, J.; Olsen, K.E.; Bender, J.B. Availability, brands, labelling and Salmonella contamination of raw pet food in the Minneapolis/St. Paul area. *Zoonoses Public Health* **2012**, *59*, 513–520. [CrossRef] [PubMed]
29. Nemser, S.M.; Doran, T.; Grabenstein, M.; McConnell, T.; McGrath, T.; Pamboukian, R.; Smith, A.C.; Achen, M.; Danzeisen, G.; Kim, S.; et al. Investigation of Listeria, Salmonella, and toxigenic Escherichia coli in various pet foods. *Foodborne Pathog. Dis.* **2014**, *11*, 706–709. [CrossRef]
30. Fredriksson-Ahomaa, M.; Heikkilä, T.; Pernu, N.; Kovanen, S.; Hielm-Björkman, A.; Kivistö, R. Raw Meat-Based Diets in Dogs and Cats. *Vet. Sci.* **2017**, *4*, 33. [CrossRef]
31. Bottari, B.; Bancalari, E.; Barera, A.; Ghidini, S.; Gatti, M. Evaluating the presence of human pathogens in commercially frozen, biologically appropriate raw pet food sold in Italy. *Vet. Rec.* **2020**, *187*, e50. [CrossRef] [PubMed]
32. Yukawa, S.; Uchida, I.; Takemitsu, H.; Okamoto, A.; Yukawa, M.; Ohshima, S.; Tamura, Y. Anti-microbial resistance of Salmonella isolates from raw meat-based dog food in Japan. *Vet. Med. Sci.* **2022**, *8*, 982–989. [CrossRef]
33. Baede, V.O.; Broens, E.M.; Spaninks, M.P.; Timmerman, A.J.; Graveland, H.; Wagenaar, J.A.; Duim, B.; Hordijk, J. Raw pet food as a risk factor for shedding of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in household cats. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0187239. [CrossRef]

34. Bekhit, A.E.-D.A.; Holman, B.W.; Giteru, S.G.; Hopkins, D.L. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *109*, 280–302. [CrossRef]
35. Holman, B.W.B.; Bekhit, A.E.-D.A.; Waller, M.; Bailes, K.L.; Kerr, M.J.; Hopkins, D.L. The association between total volatile basic nitrogen (TVB-N) concentration and other biomarkers of quality and spoilage for vacuum packaged beef. *Meat Sci.* **2021**, *179*, 108551. [CrossRef]
36. Feddern, V.; Mazzuco, H.; Fonseca, F.N.; de Lima, G.J.M.M. A review on biogenic amines in food and feed: Toxicological aspects, impact on health and control measures. *Anim. Prod. Sci.* **2019**, *59*, 18076. [CrossRef]
37. Simon-Sarkadi, L. Amino acids and biogenic amines as food quality indicators. *Pure Appl. Chem.* **2019**, *91*, 289–300. [CrossRef]
38. Blonz, E.R.; Olcott, H.S. Effects of orally ingested histamine and/or commercially canned spoiled skipjack tuna on pigs, cats, dogs and rabbits. *Comp. Biochem. Physiol. C* **1978**, *61*, 161–163. [CrossRef]
39. Verlinden, A.; Hesta, M.; Millet, S.; Janssens, G.P.J. Food Allergy in Dogs and Cats: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2006**, *46*, 259–273. [CrossRef] [PubMed]
40. Craig, J.M. Food intolerance in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* **2019**, *60*, 77–85. [CrossRef]
41. FEDIAF (European Pet Food Industry Federation). *FEDIAF Guide to Good Practice for the Manufacture of Safe Pet Foods*; FEDIAF: Brussels, Belgium, 2017.
42. Madeo, F.; Eisenberg, T.; Pietrocola, F.; Kroemer, G. Spermidine in health and disease. *Science* **2018**, *359*, 6374. [CrossRef] [PubMed]
43. Handa, A.K.; Fatima, T.; Mattoo, A.K. Polyamines: Bio-Molecules with Diverse Functions in Plant and Human Health and Disease. *Front. Chem.* **2018**, *6*, 10. [CrossRef] [PubMed]
44. Soda, K. The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2011**, *30*, 95. [CrossRef] [PubMed]
45. Soda, K.; Dobashi, Y.; Kano, Y.; Tsujinaka, S.; Konishi, F. Polyamine-rich food decreases age-associated pathology and mortality in aged mice. *Exp. Gerontol.* **2009**, *44*, 727–732. [CrossRef]
46. Mietz, J.L.; Karmas, E. Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1978**, *61*, 139–145. [CrossRef]
47. Ruiz-Capillas, C.; Herrero, A.M. Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods* **2019**, *8*, 62. [CrossRef]
48. Midwest Laboratories (Undated): Biogenic Amines. Factsheet F423. Available online: https://www.midwestlabs.com (accessed on 2 June 2019).
49. European Parliament and the Council. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Off. J. Eur. Union* **2005**, *L338*, 1–26.
50. *ISO 6579-1:2020-08*; Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of Salmonella-Part 1: Detection of Salmonella spp. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2020.
51. Blodgett, R. BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. In *Bacteriological Analytical Manual*, 8th ed.; US-FDA: Silver Spring, MI., USA, 2020. Available online: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions (accessed on 24 April 2023).
52. European Parliament and the Council. Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 of 15 March 2019 laying down uniform practical arrangements for the performance of official controls on products of animal origin intended for human consumption in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulation (EC) No 2074/2005 as regards official controls. *Off. J. Eur. Union* **2019**, *L131*, 51–100.
53. Ruiz-Capillas, C.; Jimenez-Colmenero, F. Biogenic Amines in Meat and Meat Products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2004**, *44*, 489–499. [CrossRef]
54. European Parliament and the Council. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 Laying Down Specific Hygiene Rules for Food of Animal Origin. *Off. J. Eur. Union* **2003**, *L139*, 55.
55. *No. 2015–94, 12/16/2015 (No. 2015–94)*; Korean Ministry of Agriculture and Forestry. Processing Standards and Ingredient Specifications for Livestock Products. Ministry of Food and Drug Safety Notice: Cheongju, Republic of Korea, 2015. Available online: www.mfds.go.kr/eng/brd/m_15/view.do?seq=70016&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=2 (accessed on 22 April 2023).
56. *GB 5009.228-2016*; National Food Safety Standard, Determination of Volatile Base Nitrogen in Foods. National Health and Family Planning: Beijing, China, 2016. Available online: http://down.foodmate.net/standard/sort/3/49376.html (accessed on 22 November 2021).
57. Sachs, L. *Angewandte Statistik*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany; New York, NY, USA, 1972.
58. Weber, H. *Mikrobiologie der Lebensmittel: Band 3: Fleisch-Fisch-Feinkost*, 2nd ed.; Behr's: Hamburg, Germany, 2008; pp. 25–27.
59. Realpe-Quintero, M.; Barba-León, J.; Pérez-Montaño, J.A.; Pacheco-Gallardo, C.; González-Aguilar, D.; Dominguez-Arias, R.M.; Cabrera-Diaz, E. Genetic diversity and antimicrobial resistance of Salmonella serotypes recovered throughout the beef production chain and from patients with salmonellosis. *PeerJ* **2018**, *6*, e5482. [CrossRef]
60. EFSA. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA J.* **2022**, *20*, e07666. [CrossRef]
61. Zweifel, C.; Zychowska, M.A.; Stephan, R. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, *92*, 45–53. [CrossRef]
62. Bonke, R.; Wacheck, S.; Bumann, C.; Thum, C.; Stüber, E.; König, M.; Stephan, R.; Fredriksson-Ahomaa, M. High prevalence of Salmonella enterica subsp. diarizonae in tonsils of sheep at slaughter. *Food Res. Int.* **2012**, *45*, 880–884. [CrossRef]

63. Sörén, K.; Lindblad, M.; Jernberg, C.; Eriksson, E.; Melin, L.; Wahlström, H.; Lundh, M. Changes in the risk management of Salmonella enterica subspecies diarizonae serovar 61:(k):1, 5, (7) in Swedish sheep herds and sheep meat due to the results of a prevalence study 2012. *Acta Vet. Scand.* **2015**, *57*, 6. [CrossRef]
64. Harvey, R.R.; Friedman, C.R.; Crim, S.M.; Judd, M.; Barrett, K.A.; Tolar, B.; Folster, J.P.; Griffin, P.M.; Brown, A.C. Epidemiology of Salmonella enterica Serotype Dublin Infections among Humans, United States, 1968-2013. *Emerg. Infect. Dis.* **2017**, *23*, 1493–1501. [CrossRef]
65. Fritz, H.M.; Pereira, R.V.; Toohey-Kurth, K.; Marshall, E.; Tucker, J.; Clothier, K.A. Salmonella enterica Serovar Dublin from Cattle in California from 1993-2019: Antimicrobial Resistance Trends of Clinical Relevance. *Antibiotics* **2022**, *11*, 1110. [CrossRef] [PubMed]
66. Mateus, A.; Taylor, D.J.; Brown, D.; Mellor, D.J.; Bexiga, R.; Ellis, K. Looking for the unusual suspects: A Salmonella Dublin outbreak investigation. *Public Health* **2008**, *122*, 1321–1323. [CrossRef] [PubMed]
67. Srednik, M.E.; Lantz, K.; Hicks, J.A.; Morningstar-Shaw, B.R.; Mackie, T.A.; Schlater, L.K. Antimicrobial resistance and genomic characterization of Salmonella Dublin isolates in cattle from the United States. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0249617. [CrossRef]
68. Gobeli Brawand, S.; Keller, C.; Overesch, G. Outbreak of salmonellosis in cattle caused by the unusual Salmonella serotype Stockholm. *Vet. Rec. Case Rep.* **2019**, *7*, e00054. [CrossRef]
69. Agarwal, R.; Kapoor, K.N.; Verma, J.C.; Bachhil, V.N.; Singh, B.R.; Kumar, A.; Sachan, N.; Singh, D.K.; Malik, S.V.S. Isolation and Characterization of Salmonella Stockholm from beef. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.* **1999**, *20*, 50–52.
70. Kantele, A. Persistence of diarrheal pathogens is associated with continued recruitment of plasmablasts in the circulation. *Clin. Dev. Immunol.* **2012**, *2012*, 279206. [CrossRef]
71. Viegas, F.M.; Ramos, C.P.; Xavier, R.G.C.; Lopes, E.O.; Júnior, C.A.O.; Bagno, R.M.; Diniz, A.N.; Lobato, F.C.F.; Silva, R.O.S. Fecal shedding of Salmonella spp., Clostridium perfringens, and Clostridioides difficile in dogs fed raw meat-based diets in Brazil and their owners' motivation. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0231275. [CrossRef]
72. Bacon, R.T.; Sofos, J.N.; Belk, K.E.; Hyatt, D.R.; Smith, G.C. Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella isolated from beef animal hides and carcasses. *J. Food Prot.* **2002**, *65*, 284–290. [CrossRef] [PubMed]
73. Al-Mahmood, O.A.; Fraser, A.M. Molecular Detection of Salmonella spp. and E. coli non-O157:H7 in Two Halal Beef Slaughterhouses in the United States. *Foods* **2023**, *12*, 347. [CrossRef] [PubMed]
74. McEvoy, J.M.; Doherty, A.M.; Sheridan, J.J.; Blair, I.S.; McDowell, D.A. The prevalence of Salmonella spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J. Appl. Microbiol.* **2003**, *94*, 693–700. [CrossRef] [PubMed]
75. Meyer, C.; Thiel, S.; Ullrich, U.; Stolle, A. Salmonella in raw meat and by-products from pork and beef. *J. Food Prot.* **2010**, *73*, 1780–1784. [CrossRef]
76. Im, M.C.; Seo, K.W.; Bae, D.H.; Lee, Y.J. Bacterial Quality and Prevalence of Foodborne Pathogens in Edible Offal from Slaughterhouses in Korea. *J. Food Prot.* **2016**, *79*, 163–168. [CrossRef]
77. Jung, Y.; Porto-Fett, A.C.S.; Shoyer, B.A.; Henry, E.; Shane, L.E.; Osoria, M.; Luchansky, J.B. Prevalence, Levels, and Viability of Salmonella in and on Raw Chicken Livers. *J. Food Prot.* **2019**, *82*, 834–843. [CrossRef]
78. Rortana, C.; Nguyen-Viet, H.; Tum, S.; Unger, F.; Boqvist, S.; Dang-Xuan, S.; Koam, S.; Grace, D.; Osbjer, K.; Heng, T.; et al. Prevalence of Salmonella spp. and Staphylococcus aureus in Chicken Meat and Pork from Cambodian Markets. *Pathogens* **2021**, *10*, 556. [CrossRef]
79. Jiang, X. Prevalence and Characterization of Salmonella in Animal Meals Collected from Rendering Operations. *J. Food Prot.* **2016**, *79*, 1026–1031. [CrossRef]
80. Klein, G.; Schütze, B. Lebensmittel A-Z Richt- und Warnwerte. In *Handbuch der Mikrobiologischen Beurteilung von Lebensmitteln*, 1st ed.; Behr's Verlag GmbH & Co. KG: Hamburg, Germany, 2011; p. 62.
81. Kalac, P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005-mid 2013. *Food Chem.* **2014**, *161*, 27–39. [CrossRef]
82. Gardini, F.; Özogul, Y.; Suzzi, G.; Tabanelli, G.; Özogul, F. Technological Factors Affecting Amine Content in Foods: A Review. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 1218. [CrossRef]
83. Dróżdż, M.; Małaszczuk, M.; Paluch, E.; Pawlak, A. Zoonotic potential and prevalence of Salmonella serovars isolated from pets. *Infect. Ecol. Epidemiol.* **2021**, *11*, 1975530. [CrossRef]
84. Wolff, A.H.; Henderson, N.D.; McCallum, G.L. Salmonella from dogs and the possible relationship to salmonellosis in man. *Am. J. Public Health* **1948**, *38*, 403–408. [CrossRef]
85. Mackel, D.C.; Galton, M.M.; Gray, H.; Hardy, A.V. Salmonellosis in dogs. IV. Prevalence in normal dogs and their contacts. *J. Infect. Dis.* **1952**, *91*, 15–18. [CrossRef]
86. Russini, V.; Corradini, C.; Rasile, E.; Terracciano, G.; Senese, M.; Bellagamba, F.; Amoruso, R.; Bottoni, F.; de Santis, P.; Bilei, S.; et al. A Familiar Outbreak of Monophasic Salmonella serovar Typhimurium (ST34) Involving Three Dogs and Their Owner's Children. *Pathogens* **2022**, *11*, 1500. [CrossRef]
87. Reimschuessel, R.; Grabenstein, M.; Guag, J.; Nemser, S.M.; Song, K.; Qiu, J.; Clothier, K.A.; Byrne, B.A.; Marks, S.L.; Cadmus, K.; et al. Multilaboratory Survey To Evaluate Salmonella Prevalence in Diarrheic and Nondiarrheic Dogs and Cats in the United States between 2012 and 2014. *J. Clin. Microbiol.* **2017**, *55*, 1350–1368. [CrossRef] [PubMed]

88. Imanishi, M.; Rotstein, D.S.; Reimschuessel, R.; Schwensohn, C.A.; Woody, D.H.; Davis, S.W.; Hunt, A.D.; Arends, K.D.; Achen, M.; Cui, J.; et al. Outbreak of Salmonella enterica serotype Infantis infection in humans linked to dry dog food in the United States and Canada, 2012. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2014**, *244*, 545–553. [CrossRef] [PubMed]
89. Animal & Plant Health Agency. Salmonella in Animals and Feed in Great Britain. September 2022. Available online: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1120012/salmonella-animals-feed-gb-2021-v.2__003_.pdf (accessed on 31 May 2023).
90. Hara-Kudo, Y.; Takatori, K. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiol. Infect.* **2011**, *139*, 1505–1510. [CrossRef] [PubMed]
91. U.S. Food & Drug Administration. Get the Facts! Raw Pet Food Diets can be Dangerous to You and Your Pet. Content Current as of: 22 February 2018. Available online: https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/get-facts-raw-pet-food-diets-can-be-dangerous-you-and-your-pet (accessed on 31 May 2023).

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

3. Zusammenfassung in deutscher und englischer Sprache

3.1 Zusammenfassung

Als „Tierische Nebenprodukte“ (TNP) werden Materialien tierischer Herkunft bezeichnet, die nicht zur Verwendung als Lebensmittel bestimmt sind. Diese Materialien werden im EU-Recht in drei Kategorien mit verschiedenen Verwertungswegen eingeteilt, wobei Material der Kategorie „3“ zur Verfütterung verwendet werden kann, insbesondere auch bei der Rohfütterung von Hunden oder Katzen („Bones and Raw Food“ = BARF, „Raw meat-based Diet“ = RMBD). Aus der Literatur ergibt sich, dass bei solchem Rohfutter mit dem Vorhandensein biologischer Gefahren gerechnet werden muss. Des Weiteren findet man Hinweise auf erhöhte Keimzahlen, die zumindest bei Lebensmitteln mit Verderb assoziiert sind.

In dieser Arbeit wurden im Raum Wien erhältliche „BARF“-Einzelfuttermittel für erwachsene Hunde mikrobiologisch-kulturell und auf chemische Frischeindikatoren untersucht. Es handelte sich um 99 Proben, davon 86 mit Material von Rindern („rote Innereien“, n = 41; andere Innereien und Gemische, n = 45), und 13 Produkte mit Fleisch von Wildwiederkäuern. Die Proben wurden in tiefgefrorenem (-20 °C) Zustand angeboten und gekauft. Der Median für die aerobe mesophile Keimzahl, Pseudomonaden und Enterobacteriaceen (mit dem ersten und dritten Quartil in Klammern) betrug 7,4 [6,4; 8,0], 6,5 [5,5; 7,7] und 4,8 [3,9; 5,6] $\log_{10}$ KbE/g. In den "roten Innereien" von Rindern waren die Bakterienzahlen niedriger ($p < 0,05$) als in anderen Innereien (Vormagen, Speiseröhre, Euter und Mischungen daraus) und in Wildfleisch. Die Konzentration der Aminosäureabbauprodukte deutete auf einen gewissen Grad der Zersetzung hin; allerdings wurden nur bei 10,1 % der Proben der für Heimtierfutter vorgeschlagene Höchstgehalt an Aminen (300 mg/kg) überschritten. Nur 19,2 % der Proben erfüllten die mikrobiologischen Anforderungen der VO (EU) Nr. 142/2011.

Das pathogene Bakterium *Salmonella* wurde in 12,1 % (12/99) der Proben nachgewiesen, in Konzentrationen von 0,03–110 MPN/g. Am häufigsten wurden *Salmonella enterica* Serovar Montevideo (*n* = 3), *S. enterica* Ser. Give und *S. enterica ssp. Diarizonae* (jeweils *n* = 2) nachgewiesen. *Listeria monocytogenes* wurde bei 2/99 Proben in 25 g-Probenaliquoten nachgewiesen. Während das Expositionsrisiko für Menschen, die mit rohem Heimtierfutter umgehen, durch Hygienemaßnahmen verringert werden kann, bleibt das Risiko, dass Hunde über Rohfutter mit Salmonellen intestinal kolonisiert werden und den Erreger in der Folge ausscheiden.

3.2 Summary

Hygienic quality of slaughter by-products and impact on the condition of raw pet food produced from slaughter by-products

Animal by-products (ABPs) are materials of animal origin that are not intended for food production. Under EU law, these materials are divided into three categories, with different ways of utilisation. Category 3 material can be used to produce animal feed and is also used for raw feeding of dogs and cats ("Bones and Raw Food" = BARF, "Raw meat-based Diet" = RMBD). Literature shows that the presence of biological hazards must be expected in such raw food. Furthermore, there are indications of increased bacterial counts in a magnitude, which would be associated with apparent spoilage in foodstuffs.

In this study, "BARF" products for adult dogs available in the area around Vienna were analysed by cultural microbiology and by chemical methods for freshness indicators. From the 99 samples, 86 contained material from cattle ("red offal", n = 41; other offal and mixtures, n = 45), and 13 meat from wild ruminants. The samples were offered and purchased in frozen (-20 °C) condition. The median for the aerobic mesophilic plate count, *Pseudomonas* and Enterobacteriaceae (with the first and third quartiles in brackets) was 7.4 [6.4; 8.0], 6.5 [5.5; 7.7] and 4.8 [3.9; 5.6] log CFU/g. In bovine "red offal", the bacterial counts were lower ($p < 0.05$) than in other offal (forestomach, oesophagus, udder and mixtures thereof) and in game meat. The concentration of amino acid degradation products indicated a certain degree of decomposition; however, only 10.1 % of the samples exceeded the maximum level of amines suggested for pet food (300 mg/kg). Merely 19.2 % of the samples met the microbiological requirements of Regulation (EU) No 142/2011.

The pathogenic bacterium *Salmonella* was detected in 12.1 % (12/99) of the samples, in concentrations ranging from 0.03 to 110 MPN/g. *Salmonella enterica* Serovar Montevideo (*n* = 3), *S. enterica* Ser. Give and *S. enterica ssp. Diarizonae* (*n* = 2 each) were detected most frequently. *Listeria monocytogenes* was detected in 2/99 samples in 25 g sample aliquots. While the exposure risk for humans handling such pet food can be reduced by hygiene measures, the risk remains that dogs are intestinally colonised with *Salmonella* via raw food and subsequently excrete the pathogen.

4. Literaturverzeichnis

Koch J, Flekna G, Iben C, Smulders FJM, Paulsen P. 2020. Mikrobiologische Qualität von Muskelgewebe vom Rind zur Rohverfütterung an Hunde. Wiener Tierärztliche Monatsschrift, 107:91–98.

Lindinger S, Bauer S, Dicakova Z, Pilz B, Paulsen P. 2023. Microflora, Contents of Polyamines, Biogenic Amines, and TVB-N in Bovine Offal and Game Meat for the Raw-Feeding of Adult Dogs. Animals, 13:1987.

4.1 Internetquellen

Anonym 2023. https://www.verbrauchergesundheit.gv.at/be-_verarbeitung/TNP/Leitlinie-Heimtierfutterbetriebe.pdf?92t2y2 (Zugriff 25.06. 2023).

4.2 Rechtsvorschriften

Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. ABl. L 31:1–24, kons. Fassung vom 01.07.2022.

Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. ABl. L 139:1-89, kons. Fassung vom 15.02.2023.

Verordnung des Bundesministers für Gesundheit über Hygieneanforderungen bei der Direktvermarktung von Lebensmitteln (Lebensmittelhygiene-Direktvermarktungsverordnung) StF: BGBl. II Nr. 108/2006, kons. Fassung vom 11.01.2024.

Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte). ABl. L 300:1–47, kons. Fassung vom 14.12.2019.

Verordnung (EU) Nr. 142/2011 der Kommission vom 25. Februar 2011 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte sowie zur Durchführung der Richtlinie 97/78/EG des Rates hinsichtlich bestimmter gemäß der genannten Richtlinie von Veterinärkontrollen an der Grenze befreiter Proben und Waren. ABl. L 54:1–360, kons. Fassung vom 14.12.2023.

5. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen beteiligten Personen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt Ao.Univ.-Prof. Dipl.ECVPH Dr. med. vet. Peter Paulsen für die großartige Betreuung und die konstruktiven Anregungen während des gesamten Entstehungsprozesses dieser Arbeit. Bei Ao.Univ.-Prof. Dipl.ECVPH Dr. med. vet. Friederike Hilbert möchte ich mich für ihre Unterstützung und ihre Anregungen, insbesondere bei Fragen hinsichtlich pathogener Mikroorganismen, bedanken. Außerdem danke ich Andrea Pauker, Susanne Bauer, Brigitte Pilz und Dmitri Sofka für die große Unterstützung bei den Arbeiten im Labor.

Bei Univ.-Prof. Dr. med. vet. Karin Schwaiger sowie Dr. med. vet. Isabella Csadek möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, die Dissertation im Rahmen meiner Tätigkeit an der Abteilung für Hygiene und Technologie erstellen zu können.
An dieser Stelle auch nochmal ein großes Dankeschön an die gesamte Abteilung für die herzliche Aufnahme ins Team und die wirklich tolle Arbeitsatmosphäre.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für die Ermöglichung dieses Studiums und vor allem für ihre Unterstützung und ihre Ermutigungen während des Studiums und während der Erstellung dieser Arbeit.