

IDENTIFICAZIONE DI SPECIE IN PRODOTTI ITTICI IMPORTATI DA PAESI TERZI: INDAGINE PRESSO IL POSTO D'ISPEZIONE FRONTALIERO DI LIVORNO-PISA

Prof. Andrea Armani
Responsabile FishLab
Dipartimento di Scienze Veterinarie
Università di Pisa

Torrita di Siena, 25 Maggio 2018



PROGETTO di RICERCA di ATENEIO 2015:

Indagine sulle non conformità commerciali e igienico sanitarie nei prodotti ittici di importazione



UVAC/PIF - Toscana e Sardegna

Ufficio principale

UVAC

PIF

NOME: Livorno

INDIRIZZO: Via Indipendenza 20 - 57100

PEC: sanvet-li@postacert.sanita.it

VETERINARIO RESPONSABILE: Dott.ssa Grazia Tasselli

TEL.: 0659944725

FAX: 0586898626

FISH LAB
DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE - UNIVERSITÀ DI PISA


UNIVERSITÀ DI PISA

<http://fishlab.vet.unipi.it>



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



DNA barcoding as a tool for detecting mislabeling of fishery products imported from third countries: An official survey conducted at the Border Inspection Post of Livorno-Pisa (Italy)



L. Guardone ^{a, 1}, L. Tinacci ^{a, 1}, F. Costanzo ^a, D. Azzarelli ^a, P. D'Amico ^a, G. Tasselli ^b,
A. Magni ^b, A. Guidi ^a, D. Nucera ^c, A. Armani ^{a, *}

^a FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Viale delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy

^b Border Inspection Post of Livorno-Pisa, Ministry of Health, Via Indipendenza 20, 57100, Livorno, Italy

^c Department of Agriculture, Forest and Food Science, University of Turin, Largo Braccini 2, 10095, Grugliasco, Torino, Italy

POSTO D'ISPEZIONE FRONTALIERO (PIF)



**Direttiva
97/78/CE**



**D.Lgs.
80/2000**



Art. 2 comma 2 lettera «g» della Direttiva 97/78/CE:

«qualsiasi posto d'ispezione designato e riconosciuto ... per l'esecuzione dei CONTROLLI VETERINARI SUI PRODOTTI che giungono alla frontiera di uno dei territori elencati nell'allegato I (Stati membri dell'UE) in PROVENIENZA DA PAESI TERZI», indipendentemente che siano destinati al mercato dell'Unione europea o semplicemente in transito verso altri Paesi terzi.



I CONTROLLI

Direttiva 97/78/CE



- ✓ DOCUMENTALE
- ✓ D'IDENTITA'
- ✓ MATERIALE

SCOPO:

«prevenire, eliminare o ridurre a livelli accettabili i rischi per gli esseri umani e gli animali e a **garantire pratiche commerciali leali** per i mangimi e gli **alimenti** e a **tutelare gli interessi dei consumatori**, comprese l'etichettatura dei mangimi e degli alimenti e altre forme di informazione dei consumatori»

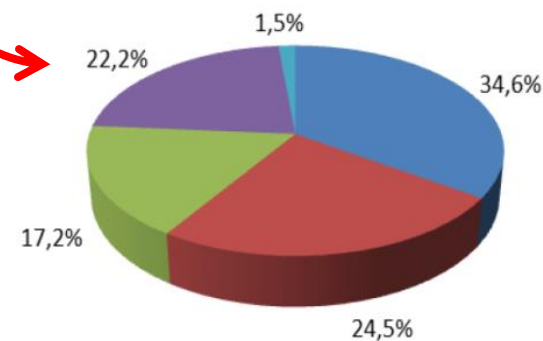
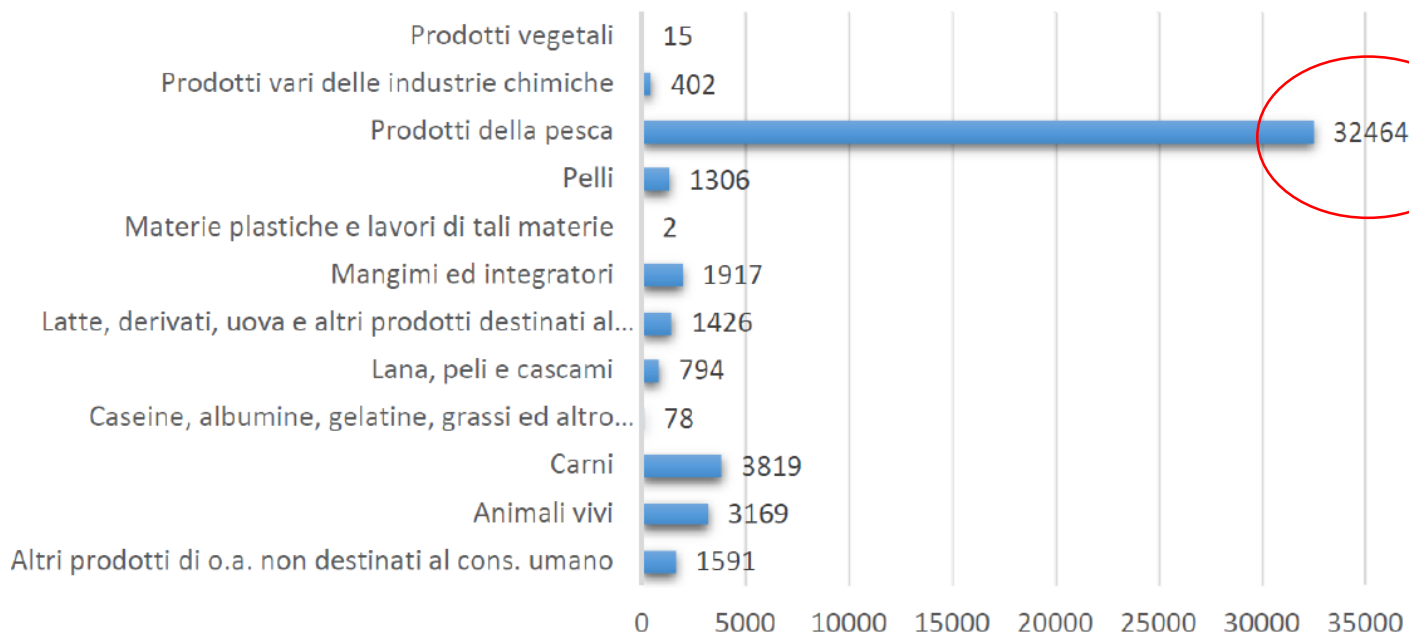
Reg. (CE) 882/2004



LE IMPORTAZIONI PRESSO I PIF NAZIONALI

2015

Quasi il 70% sul totale



PIF Livorno porto → circa il 30% dei prodotti della pesca

- Prodotti della pesca, dell'acquacoltura e molluschi - 11246 partite
- Molluschi - 7933 partite
- Crostacei - 5580 partite
- Partite miste di pesci, molluschi, crostacei e altri invertebrati acquatici e loro preparazioni - 7212 partite
- Altri prodotti della pesca - 493 partite

LE FRODI NEL COMPARTO ITTICO

A LIVELLO MONDIALE

i prodotti ittici rappresentano il secondo prodotto alimentare (dopo l'olio) e il primo tra quelli di origine animale, più soggetto a frodi (Griffiths et al., 2014).

A LIVELLO EUROPEO

PRODOTTI ITTICI E MIELE SONO QUELLI MAGGIORMENTE COINVOLTI

circa il 92% delle frodi alimentari coinvolge prodotti provenienti da paesi terzi (Tähtkäpää et al., 2015)



FATTORI PREDISPONENTI LE FRODI NEL COMPARTO ITTICO



1. AUMENTO DEL CONSUMO E DELLA PRODUZIONE DEI PRODOTTI DELLA PESCA



2. COMPLESSITÀ DELLA FILIERA ITTICA



3. DIFFERENZE NELLA NORMATIVA DI SETTORE E NELLE DENOMINAZIONI COMMERCIALI



4. AUMENTO NUMERO DI SPECIE COMMERCIALIZZATE E DEI PRODOTTI TRASFORMATI

1 AUMENTO DEL CONSUMO ...

✓ **ELEVATE PROPRIETÀ
NUTRIZIONALI:**

**proteine di alto valore biologico, fonte
di Omega-3,
scarsa concentrazione di acidi grassi
saturi**

✓ **MODE ALIMENTARI:**

**Trend sempre più diffuso di
consumare pesce in ristoranti
etnici (sushi e sashimi)**



CONSUMO MEDIO a LIVELLO MONDIALE

anni 60 ➔ 9,9 kg/pro-capite/anno

anni 90 ➔ 14,4 kg/pro-capite/anno

2013 ➔ 19,7 kg/pro-capite/anno

(FAO, 2016).

CONSUMO MEDIO a LIVELLO EUROPEO

201 ➔ 25,11 kg/pro-capite/anno

(EUMOFA, 2017).

Bulgaria a livello domestico 5,2 kg/pro-capite/anno

Si raggiungono 8,8 kg/pro-capite/anno con ristorazione
(Todorov, 2017).



2 .. E DELLA PRODUZIONE DEI PRODOTTI DELLA PESCA

- ✓ **PRODUZIONE ITTICA GLOBALE** pari a 211 milioni/tonnellate/anno
- ✓ **70% DELLA PRODUZIONE GLOBALE IN ASIA (++ CINA):** allevamento e cattura + importazione per lavorazione, trasformazione e riesportazione

- ✓ **UE, USA e GIAPPONE** PRINCIPALI IMPORTATORI



UE È IL PIÙ GRANDE MERCATO DI PRODOTTI DELLA PESCA E DELL'ACQUACOLTURA AL MONDO

oltre la metà della domanda annuale di prodotti della pesca è soddisfatta grazie alle IMPORTAZIONI di pesce, molluschi e crostacei provenienti da acque non comunitarie

importo annuale medio: 6 milioni di tonnellate di prodotti ittici (++) congelati o preparati)

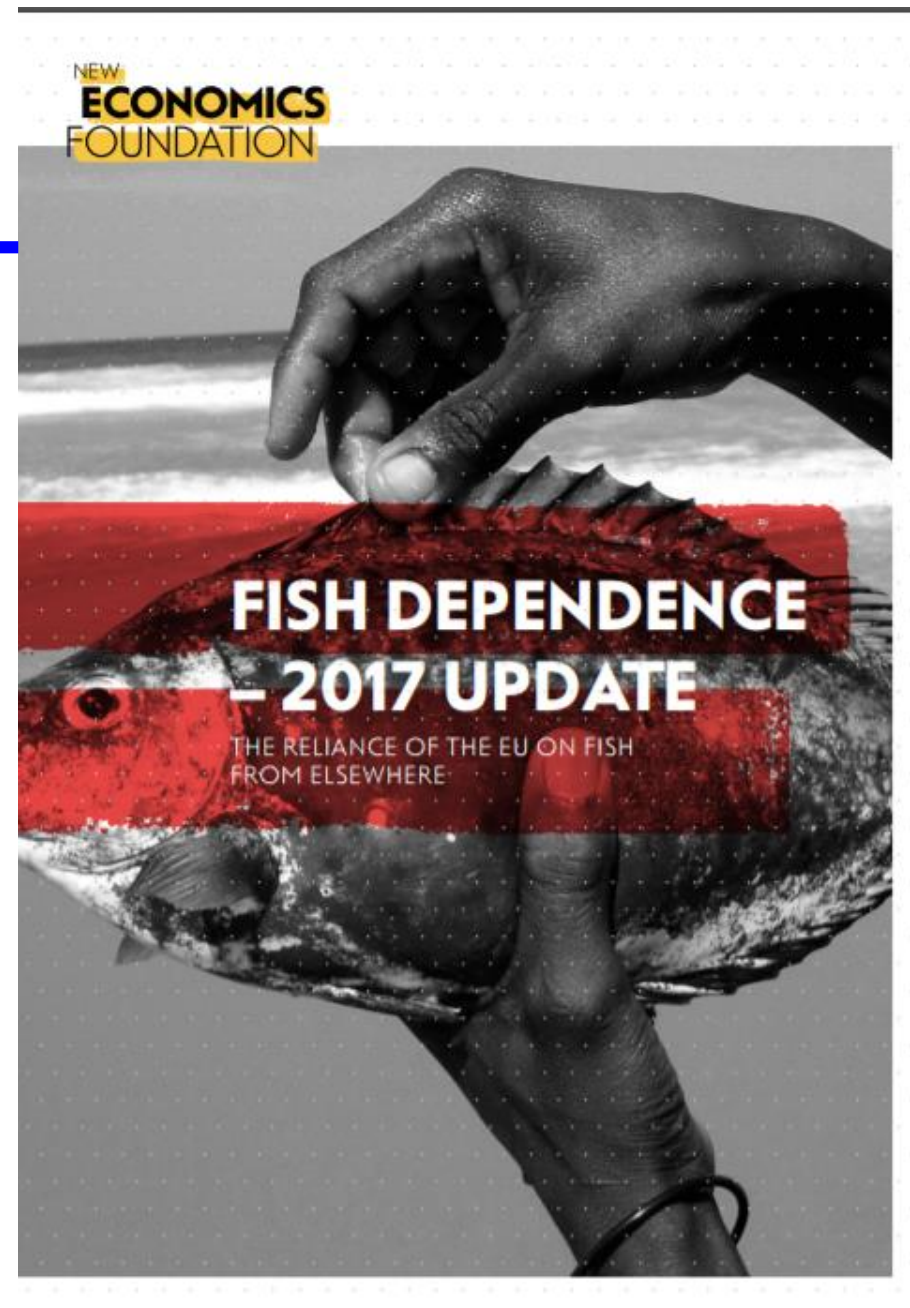
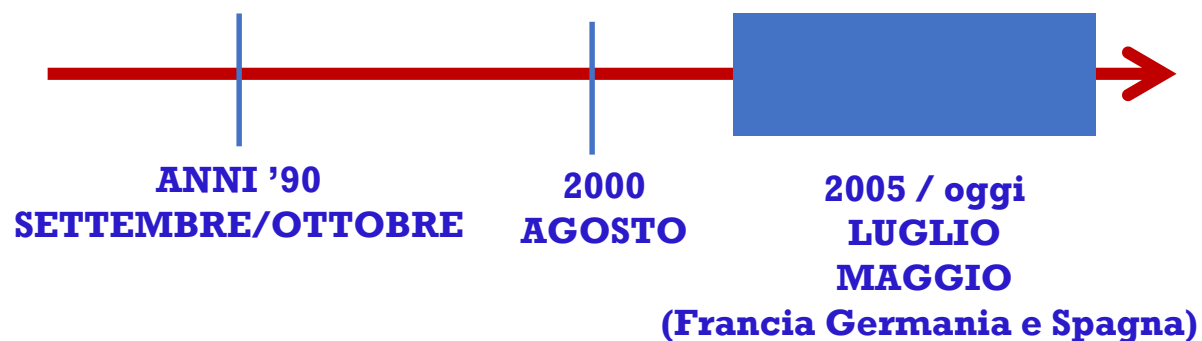
> ESPORTATORI IN EU: CINA E VIETNAM



FISH DEPENDENCE DAY

New Economics Foundation - Londra

giorno che sancisce tecnicamente l'esaurimento delle produzioni ittiche europee e l'inizio della dipendenza comunitaria dal pescato estero



3. COMPLESSITÀ DELLA FILIERA ITTICA

**LA PRESENZA DI ALMENO 5-7
INTERMEDIARI
RENDE PARTICOLARMENTE DIFFICILE
POTER TRACCIARE I PRODOTTI DELLA
PESCA LUNGO TUTTA LA FILIERA**



4. DIFFERENZE NELLA NORMATIVA DI SETTORE E NELLE DENOMINAZIONI COMMERCIALI

**DIFFERENZE NELL'ASSEGNAZIONE DELLE
DENOMINAZIONI COMMERCIALI TRA I
VARI PAESI**

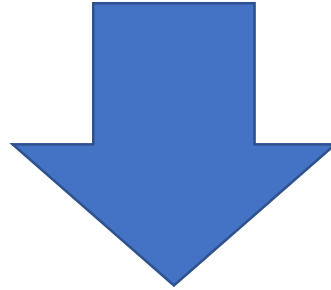
**IN CINA NON ESISTONO ATTUALMENTE
REQUISITI SPECIFICI DI ETICHETTATURA
PER I PRODOTTI DELLA PESCA, NÉ È STATO
IMPLEMENTATO UN SISTEMA DI
STANDARDIZZAZIONE DELLE
DENOMINAZIONI COMMERCIALI (Xiong et
al., 2016)**



FRODI ITTICHE

LE FRODI ALIMENTARI RIGUARDANO TUTTI I CASI IN CUI VI È UNA VIOLAZIONE DELLA LEGISLAZIONE ALIMENTARE DELL'UE, EFFETTUATA INTENZIONALMENTE AL FINE DI PERSEGUIRE UN GUADAGNO ECONOMICO ATTRAVERSO L'INGANNO DEL CONSUMATORE

**IMPATTO
ECONOMICO**



**IMPATTO
sulla SALUTE**

**RIPERCUSSIONI
SULLA SALUTE DEL CONSUMATORE**

RIPERCUSSIONI SULL'AMBIENTE

**IMPATTO
AMBIENTALE**

TIPOLOGIE DI FRODI ITTICHE

**PESCA ILLEGALE
(ILLEGAL), NON
REGISTRATA
(UNREPORTED) E NON
REGOLAMENTATA
(UNREGULATED) (IUU)**

**IMPATTO
AMBIENTALE**

FRODI COMMERCIALI

**IMPATTO
ECONOMICO**

FRODI SANITARIE

**IMPATTO
sulla SALUTE**

**IMPATTO
COMMERCIALE**

**IMPATTO
AMBIENTALE**

**IMPATTO
Sulla
SALUTE**



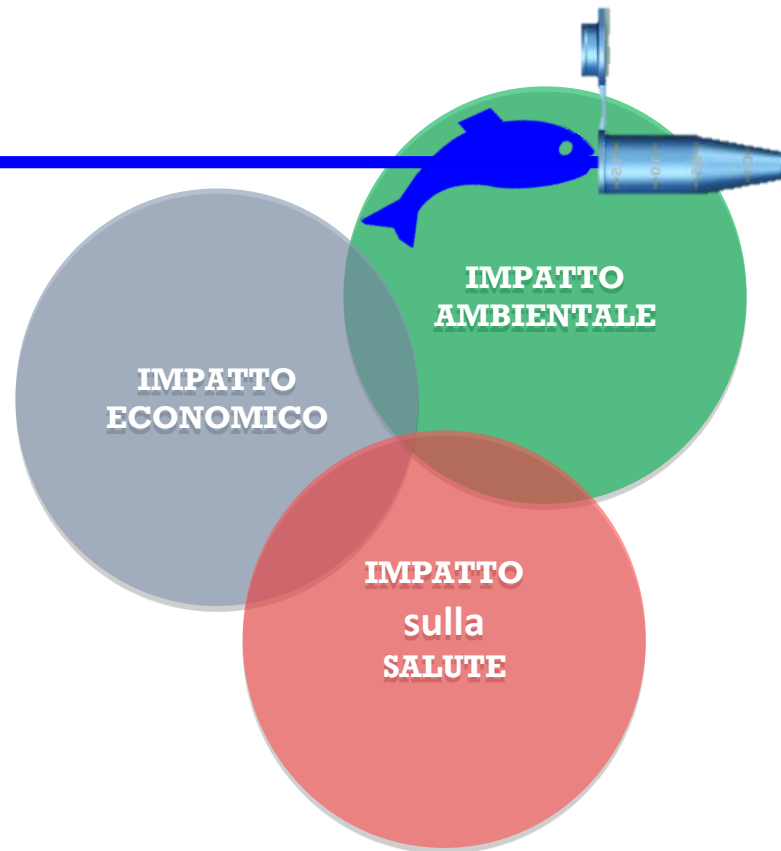
INTRODUZIONE



Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



DNA barcoding reveals chaotic labeling and misrepresentation of cod (鳕, Xue) products sold on the Chinese market



Xiong Xiong¹, Lisa Guardone¹, Alice Giusti, Lorenzo Castigliero, Daniela Gianfaldoni, Alessandra Guidi, Armani Andrea*

FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Viale delle Piagge 2, 56124, Pisa Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 May 2015
Received in revised form 22 August 2015
Accepted 24 August 2015
Available online 29 August 2015

Keywords:

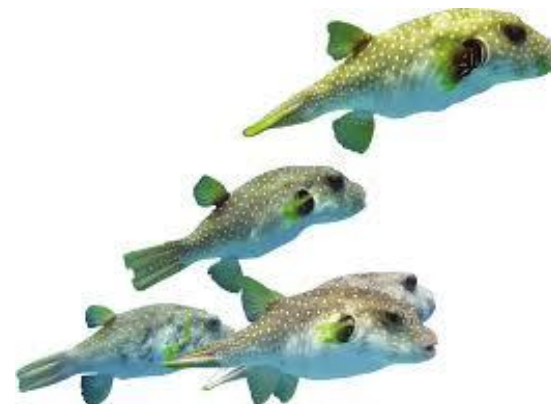
DNA barcoding
Seafood mislabeling
Xue
Cod
Gadiformes
Pufferfish
鳕

ABSTRACT

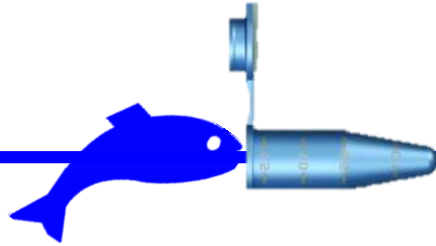
The increasing rate of seafood frauds, especially in the case of highly priced species, highlights the need of verifying the identity of fish products. This paper describes the application of DNA barcoding to the identification of 52 products commercialized with the Chinese term 鳕 (Xue, Cod) in supermarkets (Nanjing and Shanghai) and in the online market. **Considering the lack of harmonization around the definition of Cod, the mislabeling rate was assessed according to three increasingly stringent definitions: Cod meaning Gadiformes species; Cod meaning *Gadus* spp.; Cod not meaning any specific species, since a qualifier ("Atlantic", "Pacific" or "Greenland") should be added in order to refer to *Gadus morhua*, *Gadus macrocephalus* or *Gadus ogac*, respectively.**

Results highlighted a very high mislabeling rate, which exceeded 60% even with the less stringent definition. Interestingly, only 42.3% of the samples were Gadiformes, while the others were Perciformes, Pleuronectiformes or toxic Tetraodontiformes species. Economic, ecological and health issues arising from the misuse of the term Cod are discussed in the light of the leading role of China in the seafood worldwide industry and of the increased national consumption of marine species.

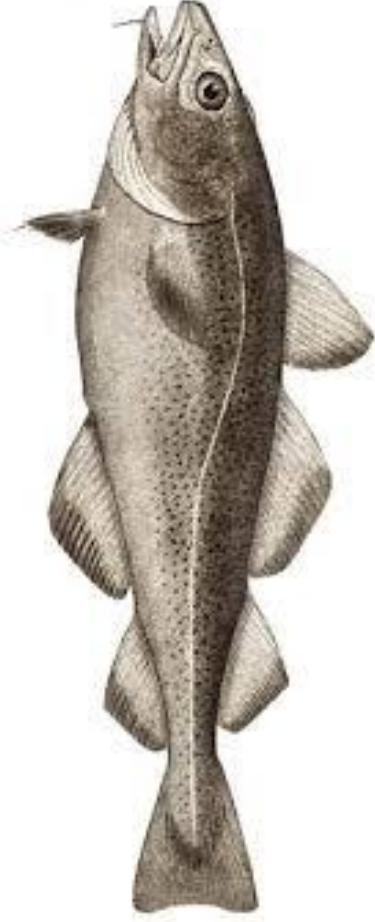
© 2015 Published by Elsevier Ltd.



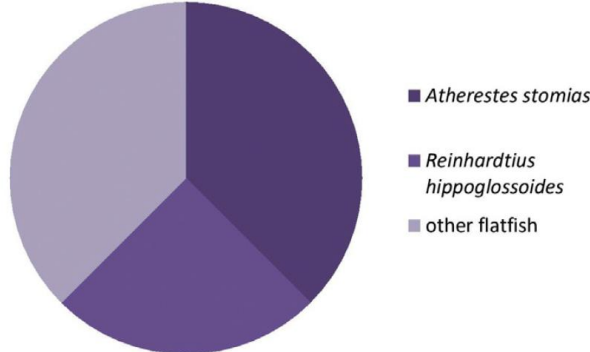
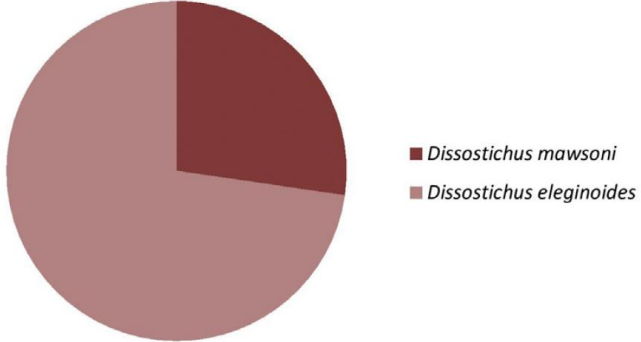
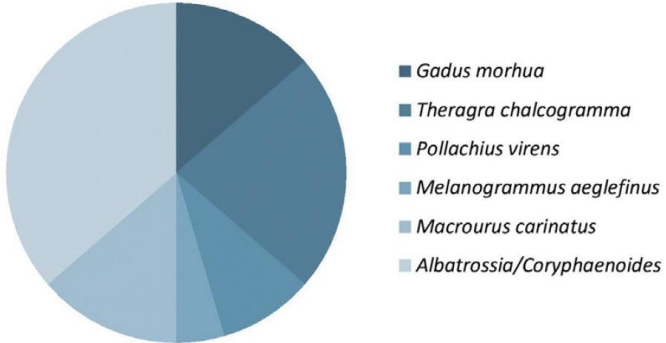
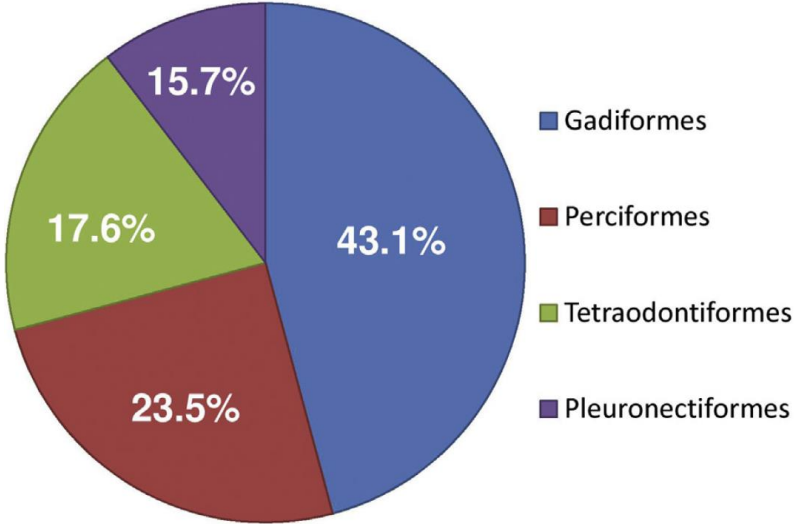
INTRODUZIONE



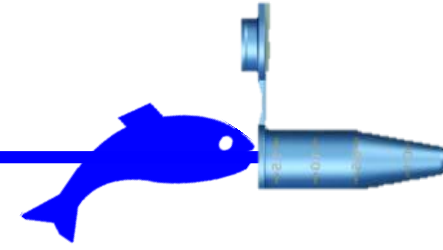
Chinese term 鱈 (Xue, Cod)



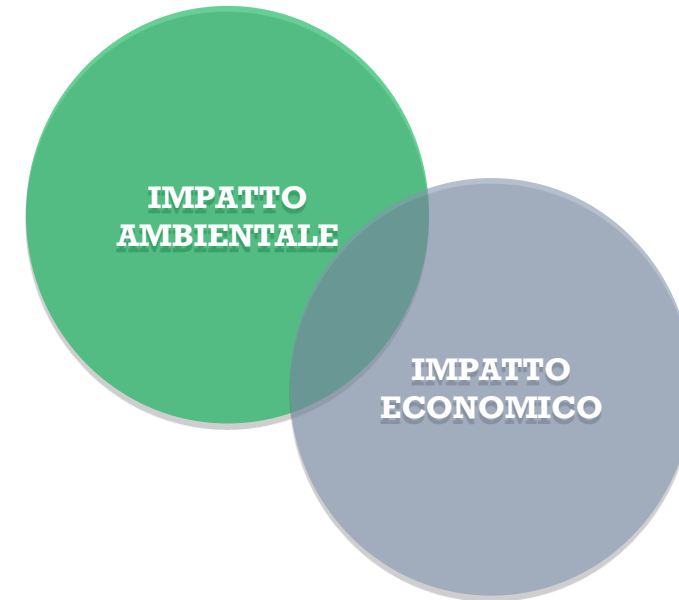
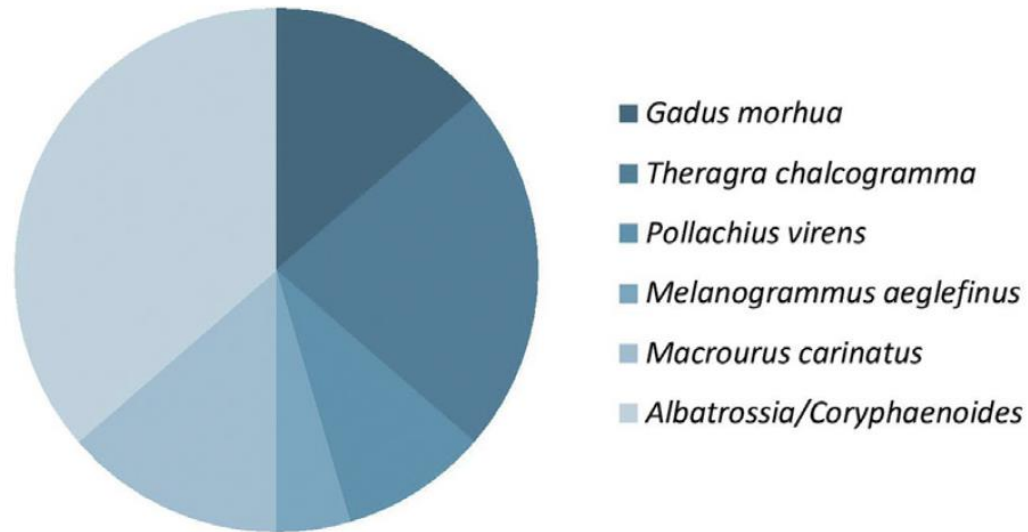
COMPOSIZIONE ORDINI



INTRODUZIONE



ORDINE GADIFORMES

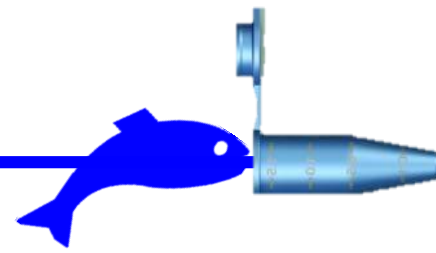


Macrouridae (*M. carinatus*, *C. acrolepis*, *A. pectoralis*), sono specie di fondale catturate come by-catch durante la pesca di profondità.

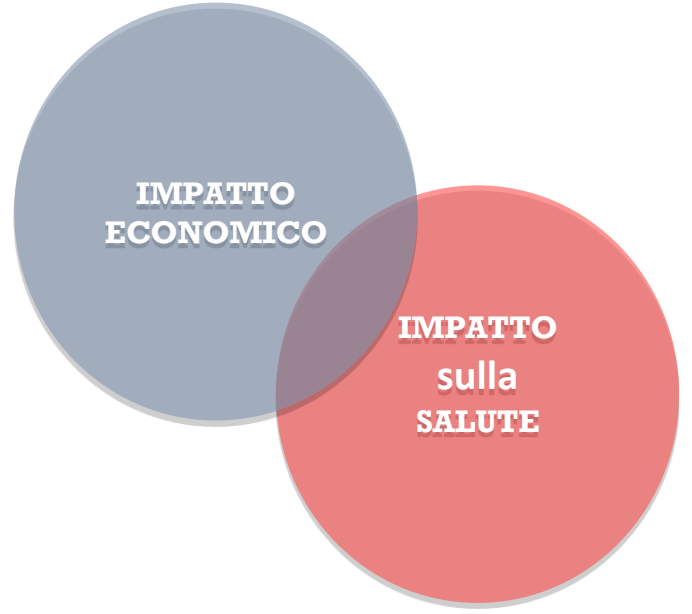
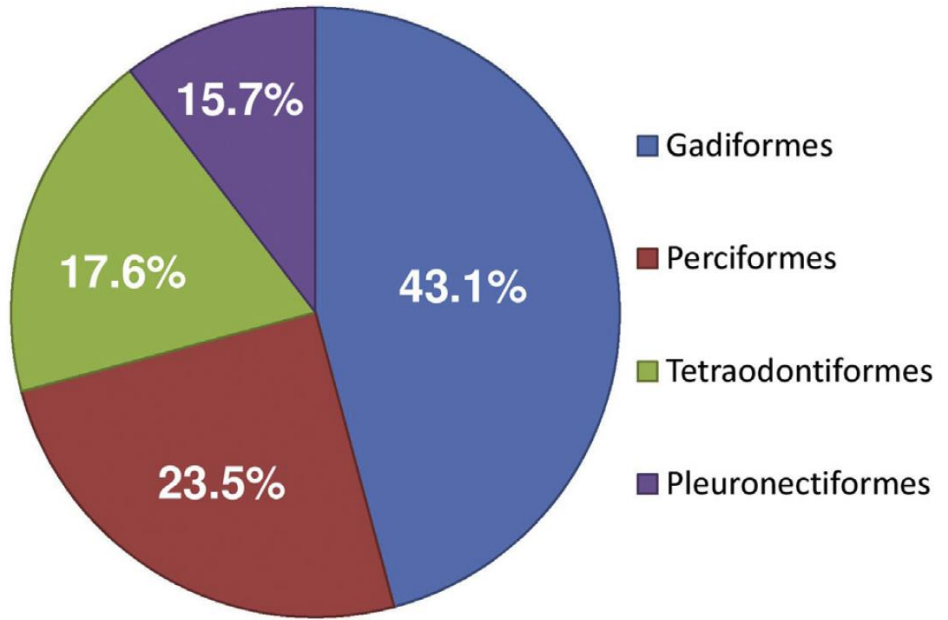
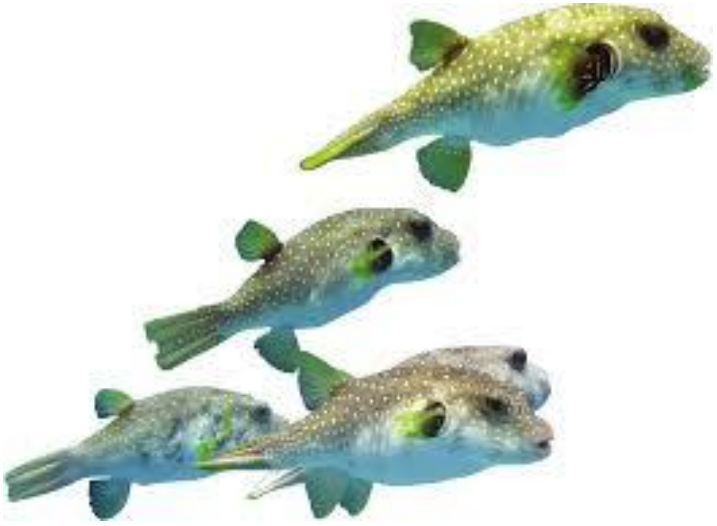
Per le piccole dimensioni e le caratteristiche delle carni (unpalatable) vengono solitamente utilizzate per la produzione di mangimi per pesci.

Le quattro specie della famiglia dei Gadidae trovate in questo studio sono specie commercialmente importanti minacciate dal sovrasfruttamento

INTRODUZIONE



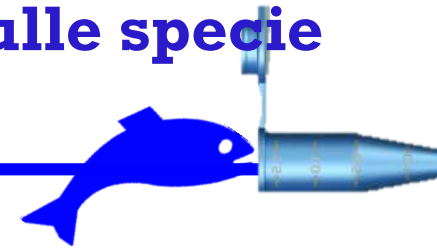
ORDINE TETRAODONTIFORMES



Nove prodotti sono stati identificati come *Lagocephalus* spp. (Tetraodontidae, Tetraodontiformes), un genere che include specie tossiche noto come pesci palla.

Non è stato possibile distinguere tra *L. spadiceus*, *L. inermis*, *L. gloveri* e *L. wheeleri*

PROGETTO RICERCA CORRENTE 2014: Cambiamenti climatici e sicurezza alimentare: indagine molecolare, microbiologica e tossicologica sulle specie ittiche tossiche presenti in alcune zone del Mar Tirreno



Food Control

Volume 91, September 2018, Pages 330-338



Toxic invasive pufferfish (Tetraodontidae family) along Italian coasts: Assessment of an emerging public health risk

Lisa Guardone ^a  , Laura Gasperetti ^b, Andrea Maneschi ^a, Enrica Ricci ^b, Francesca Susini ^b, Alessandra Guidi ^a, Andrea Armani ^a

^a FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Via delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy

^b Experimental Zooprophyllactic Institute of Lazio and Tuscany, S.S. dell'Abetone e del Brennero 4, 56123 Pisa, Italy



Food Control

Volume 91, September 2018, Pages 311-320



Emerging risks in the European seafood chain: Molecular identification of toxic *Lagocephalus* spp. in fresh and processed products

A. Giusti ^a, E. Ricci ^b, M. Guarducci ^b, L. Gasperetti ^b, N. Davidovich ^c, A. Guidi ^a, A. Armani ^a  

^a FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Via Delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy

^b Experimental Zooprophyllactic Institute of Lazio and Tuscany, S.S. Dell'Abetone e Del Brennero 4, 56123 Pisa, Italy

^c Israeli Veterinary Services, P.O. Box 12, Bet Dagan 5025001, Israel

MANOMISSIONE DELLE ETICHETTE, FALSIFICAZIONE DI DOCUMENTI E CERTIFICATI



MISLABELLING

Mislabelling*



The screenshot shows the Google Translate interface. At the top left is the Google logo. Below it, the word "Traduttore" is written in red. On the right side, there is a link "Disattiva traduzione istantanea" and a star icon. The main interface has two language selection menus: the left one is set to "Inglese" and "Rileva lingua", and the right one is set to "Italiano" and "Spagnolo". A blue "Traduci" button is positioned between the menus. The input text "mislabelling" is entered in the left box, and the translated text "un errore di etichettatura" is shown in the right box. At the bottom of the input box, there are icons for voice input and keyboard input, along with a character count "12/5000". At the bottom of the output box, there are icons for star, copy, voice, and share, and a link "Suggerisci una modifica".

*Si riferisce in genere alla presenza di non conformità a carico di una parte dell'etichetta

La maggior parte delle non conformità sono relative alla denominazione scientifica e commerciale (sostituzione di specie)

COME IDENTIFICARE UNA SPECIE ITTICA?



Edited by CONSTANTINOS A. GEORGIOU
and GEORGIOS P. DANEZIS

FOOD AUTHENTICATION

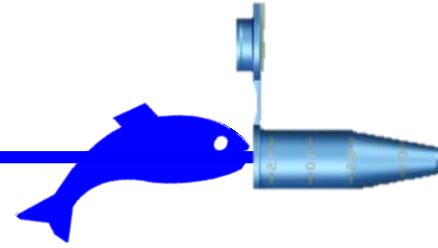
Management, Analysis & Regulation



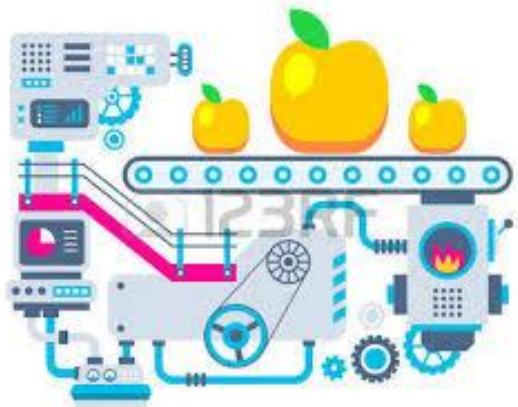
L'autenticazione degli alimenti è quel processo che mira a verificare se quanto contenuto in un prodotto è in conformità con quanto descritto in etichetta.

La determinazione dell'autenticità del cibo è un'aspetto importante sia per il controllo della **QUALITÀ** che per il controllo della **SICUREZZA ALIMENTARE**.

INTRODUZIONE AUTENTICAZIONE DEGLI ALIMENTI



CONSUMATORI



INDUSTRIE ALIMENTARI che hanno la necessità di etichettare gli alimenti in maniera conforme alla normativa

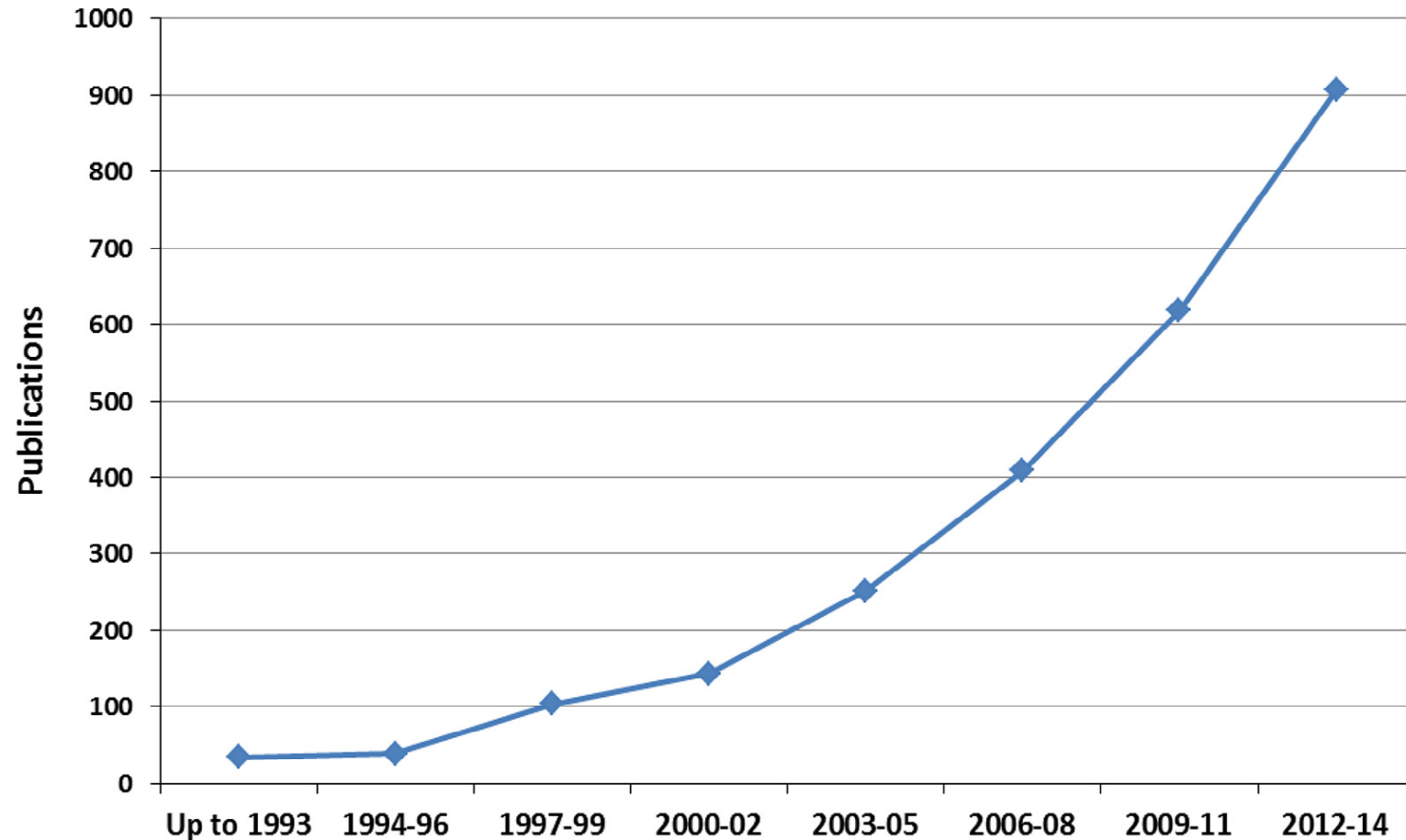
AUTORITÀ DI CONTROLLO che necessitano di metodiche analitiche in grado di verificare il rispetto della legislazione



Food Standards Agency

INTRODUZIONE

Articoli scientifici relativi a metodiche per l'autenticazione degli alimenti



➔ **409 tra il 2006 ed il 2008**

➔ **907 tra il 2012 ed il 2014**

FAIR

TRADE

UNFAIR

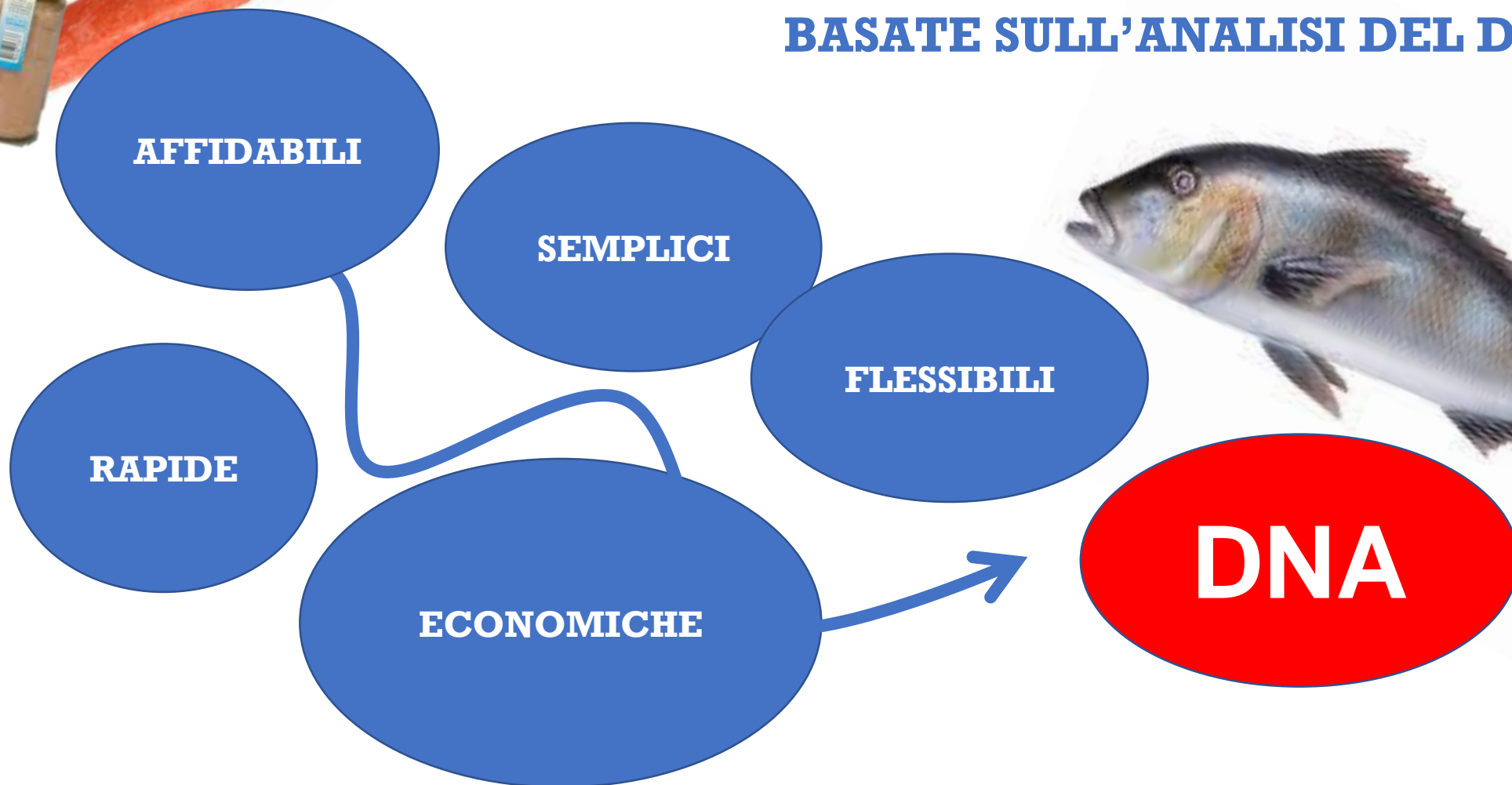


FRODE

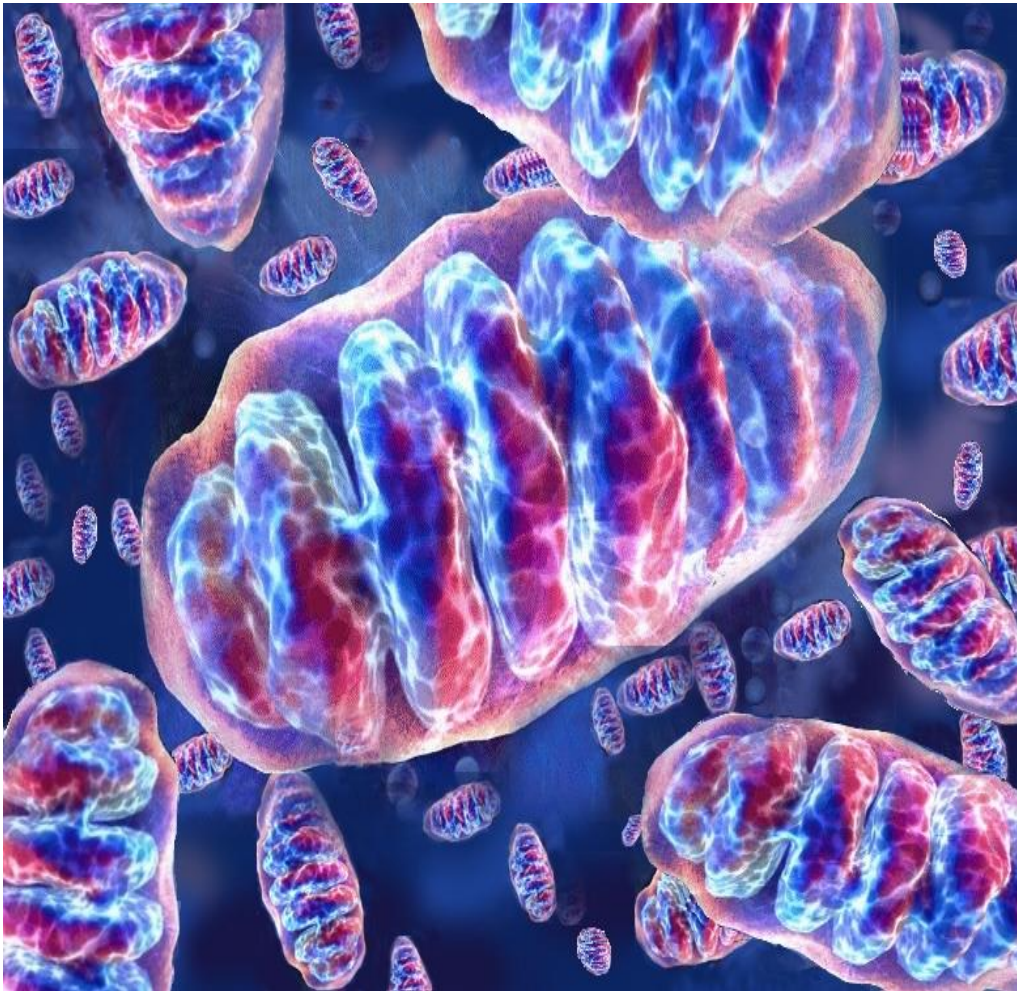
l'analisi degli acidi nucleici al fine di individuare le differenze di specie all'interno delle sequenze genomiche risulta la tecnica d'elezione per l'identificazione di specie in ambito ispettivo



VANTAGGI DELLE METODICHE BASATE SULL'ANALISI DEL DNA



IL DNA MITOCONDRIALE VIENE PIÙ UTILIZZATO NELL'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE DEI PRODOTTI DELLA PESCA



Elevato numero di mitocondri presenti nel citoplasma cellulare: il numero di copie di un gene localizzato sul DNA mitocondriale è molto superiore al numero di copie di un gene localizzato sul DNA nucleare

Maggiore resistenza al tempo e agli stress termici (prodotti che hanno subito trattamenti tecnologici spinti)

Elevata variabilità dovuta ad una frequenza di mutazione fino a 10 volte maggiore rispetto a quella del DNA nucleare

Ereditato esclusivamente per via materna (assenza di eventi di ricombinazione genetica, cioè scambi di materiale genetico tra cromosomi)

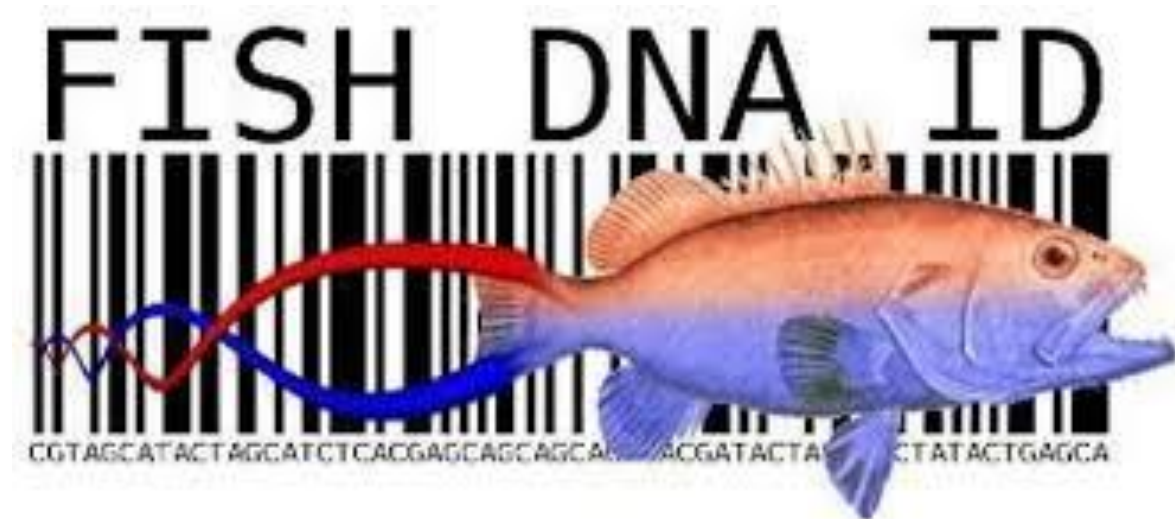
INTRODUZIONE - DNA BARCODING

Ideato da un genetista dell'università canadese nel 2003

Nuovo metodo per accelerare il processo di identificazione delle specie: utilizzare brevi sequenze di DNA in modo analogo ai codici a barre dei supermercati (c.d. DNA Barcoding).

ogni specie potrebbe essere “etichettata” con una sequenza nucleotidica di DNA univocamente associata a quella specie, da utilizzare come riferimento per comparare la sequenza di DNA di una potenziale nuova specie

SELEZIONATO IL GENE *COI*



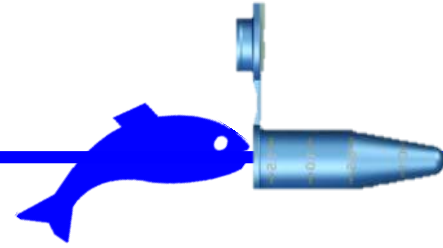
INTRODUZIONE - DNA BARCODING



I database principali che attualmente svolgono questa funzione sono il Barcode of Life Data System (BOLD) (www.boldsystems.org) e GenBank, realizzato dal National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

The image shows the homepage of the Barcode of Life Data System (BOLD) website. The header is black with the BOLD SYSTEMS logo in orange and white on the left. On the right, there are navigation links: DATABASES, IDENTIFICATION, TAXONOMY, WORKBENCH, RESOURCES, LOGIN, and a search icon. The main content area has a teal background with a world map and various animal silhouettes. The text "BARCODE OF LIFE DATA SYSTEM v4" is prominently displayed in white, with "v4" in orange. Below it, the tagline "Advancing biodiversity science through DNA-based species identification." is written in white. At the bottom center, there is an orange button with the text "EXPLORE THE DATA" in white.

INTRODUZIONE - DNA BARCODING



Results Summary							Download
Query ID	Best ID	Search DB	Tree	Top %	Graph	Low %	
unlabeled_sequence	<i>Gadus chalcogrammus</i>	COI SPECIES DATABASE		100.00		99.69	

Query: unlabeled_sequence
Top Hit: Chordata Actinopterygii - Gadiformes - *Gadus chalcogrammus* (100%)

Search Result:

The submitted sequence has been matched to *Gadus chalcogrammus*. This identification is solid unless there is a very closely allied congeneric species that has not yet been analyzed. Such cases are rare.

A species page is available for this taxon:

[SPECIES PAGE](#)

Closest matching BIN (within 3%):

[BIN PAGE](#)

For a hierarchical placement - a neighbor-joining tree is provided:

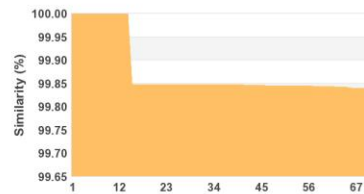
[TREE BASED IDENTIFICATION](#)



Identification Summary

Taxonomic Level	Taxon Assignment	Probability of Placement (%)
Phylum	Chordata	100
Class	Actinopterygii	100
Order	Gadiformes	100
Family	Gadidae	100
Genus	<i>Gadus</i>	100
Species	<i>Gadus chalcogrammus</i>	100

Similarity Scores of Top 99 Top 20 Matches

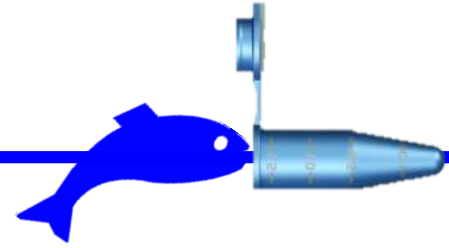


Display:

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Subspecies	Similarity (%)	Status
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗
Chordata	Actinopterygii	Gadiformes	Gadidae	<i>Gadus</i>	<i>chalcogrammus</i>		100	Published ↗

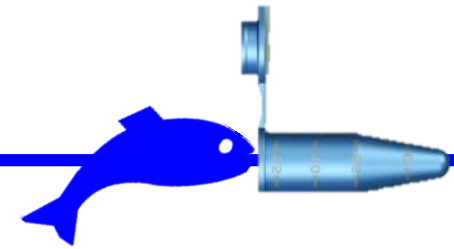
Gadus chalcogramma:
 Merluzzo d'Alaska o Pollack d'Alaska

SCOPO



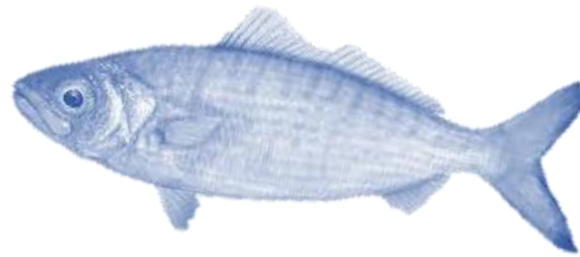
- condurre un'indagine conoscitiva, basata sull'uso del DNA barcoding, per la ricerca di non conformità commerciali e sanitarie in prodotti della pesca importati da Paesi terzi attraverso il PIF di Livorno-Pisa.
 - verificare la denominazione scientifica dichiarata nei certificati sanitari che accompagnavano le partite.
 - identificare i prodotti maggiormente a rischio di frode per sostituzione di specie, anche in funzione dei Paesi terzi produttori.
-

MATERIALI E METODI - RACCOLTA E CAMPIONAMENTO DEI TESSUTI



Totale di 277 prodotti della pesca sono stati raccolti presso il porto del PIF di Livorno-Pisa tra Aprile 2015 e Giugno 2016.

PESCI → 129



CEFALOPODI → 64;



CROSTACEI → 53

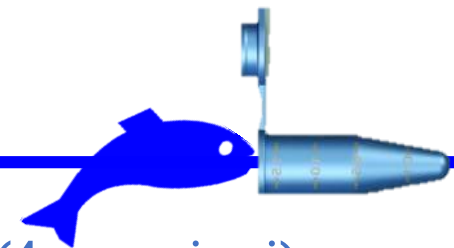


PRODOTTI MISTI DI CEFALOPODI E CROSTACEI → 6

MOLLUSCHI BIVALVI → 20



MATERIALI E METODI - RACCOLTA E CAMPIONAMENTO DEI TESSUTI



Prodotti costituiti da un massimo di 4 unità ➡ un campione di tessuto per ogni unità (4 campioni)



Prodotti costituiti da un numero di unità variabile compreso fra 5-10 ➡ 3 campioni



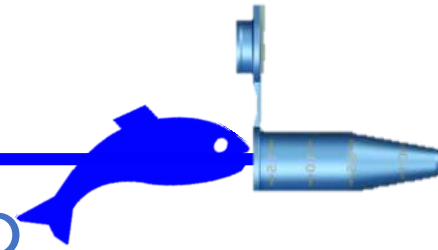
Prodotti costituiti da un numero di unità superiore a 10 ➡ almeno 5 campioni



Dei prodotti costituiti da specie differenti ➡ almeno 1 campione per ogni specie.

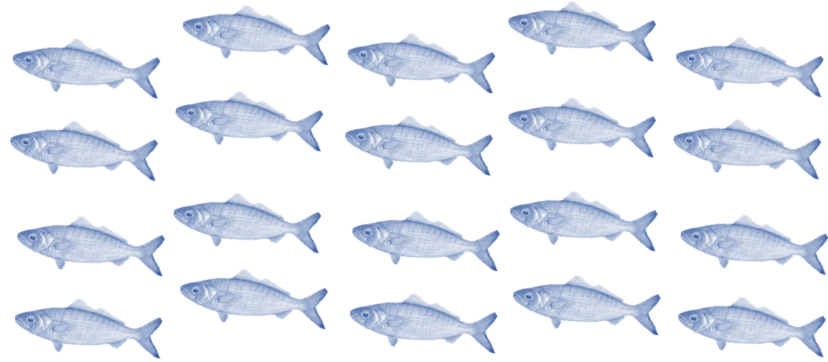


MATERIALI E METODI - RACCOLTA E CAMPIONAMENTO DEI TESSUTI

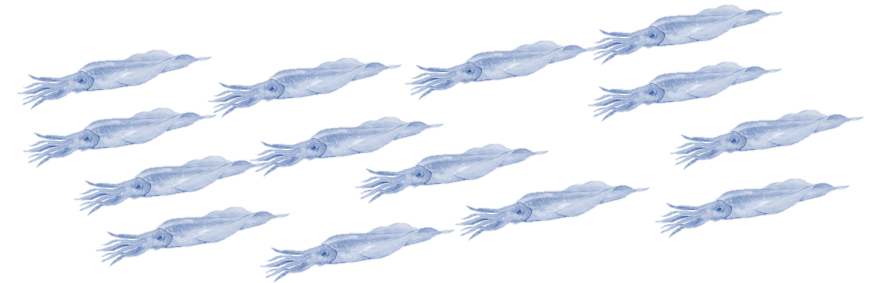


277 PRODOTTI → SONO STATI OTTENUTI 1.010 CAMPIONI DI TESSUTO

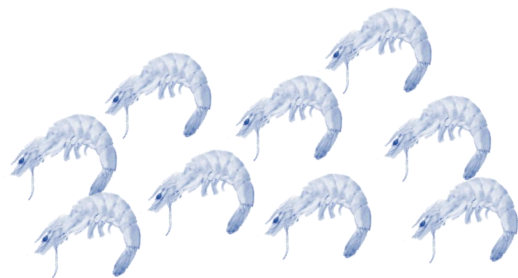
387 campioni di pesce

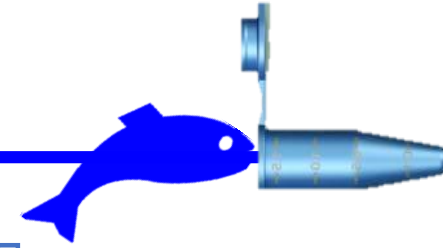


310 campioni di cefalopodi



214 campioni di crostacei



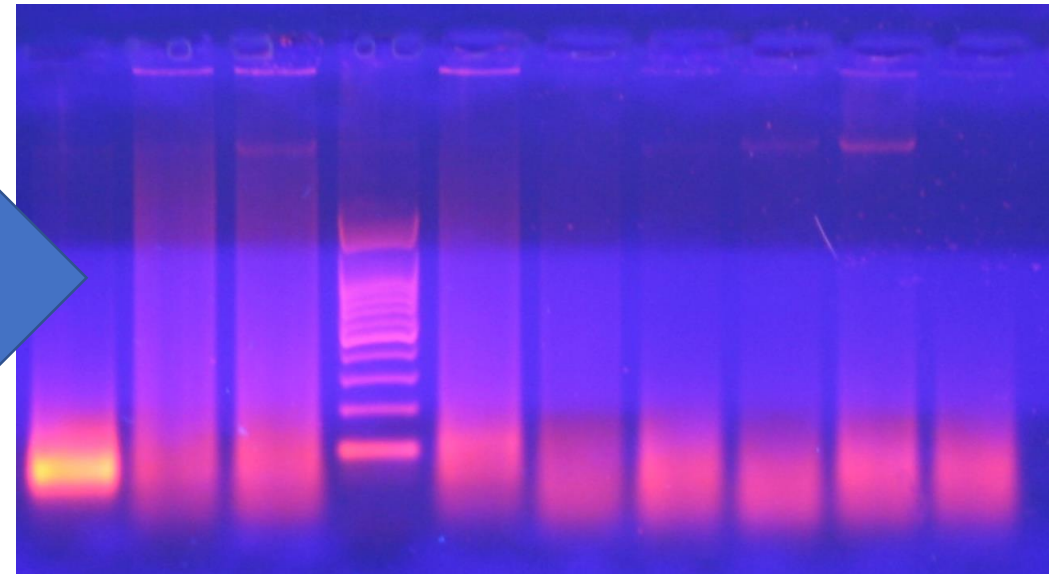
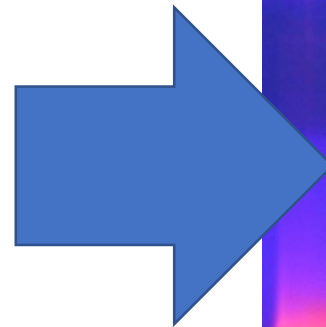


ESTRAZIONE DEL DNA, VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ E DELLA CONCENTRAZIONE

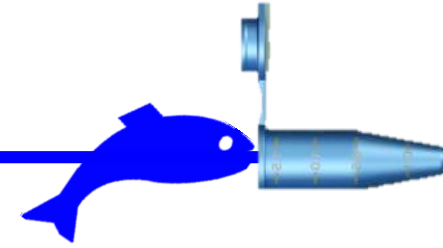
L'estrazione del DNA totale è stata effettuata per tutti i campioni partendo da 100 mg di tessuto come descritto da Armani A. et al. (2014).

La qualità e quantità di DNA sono state determinate con uno spettrofotometro NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, US).

CORSA ELETTROFORETICA PER
VALUTARE IL LIVELLO DI
DEGRADAZIONE DEL DNA
TOTALE



MATERIALI E METODI – ANALISI MOLECOLARI

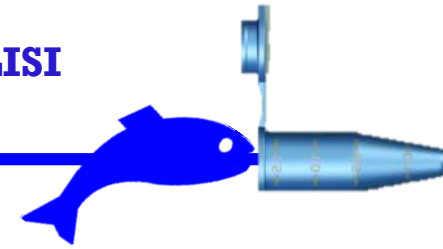


AMPLIFICAZIONE DEL DNA E SEQUENZIAMENTO

Differenti coppie di primer, per l'amplificazione dei geni mitocondriali e nucleari, sono state scelte sulla base delle categorie di prodotti (pesci, molluschi, crostacei, anfibi) e sul livello di degradazione del DNA.

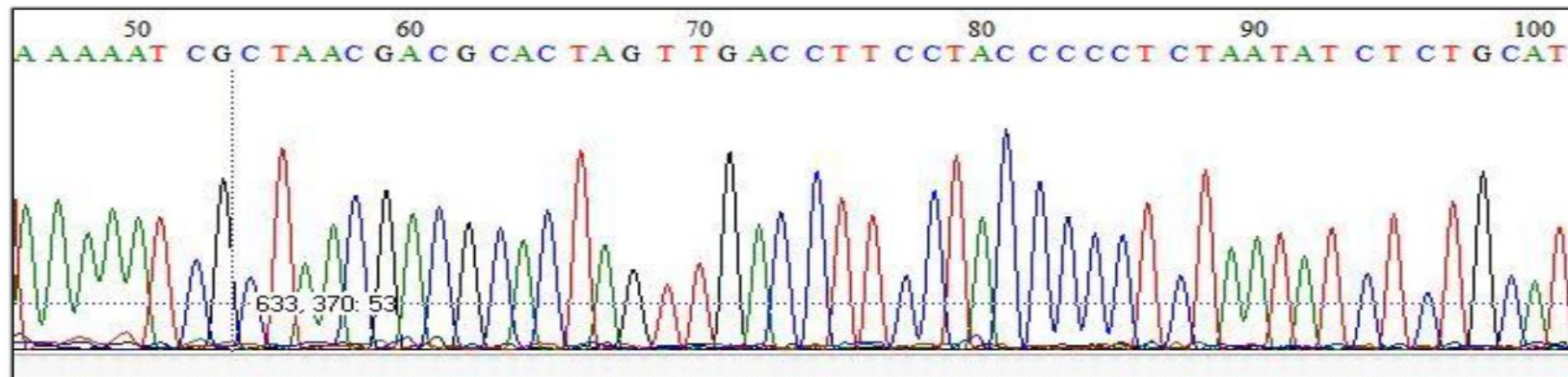
Codice dei primer	Gene target	Riferimenti bibliografici	Condizioni di ciclaggio ^a (40 cicli) Temperatura/tempo (s.)	Sequenza dei primer (5'-3')	PL (bp)	AL con e senza primer	
FISHCOILBC _{ts} ^b	COI	Handy S.M. <i>et al.</i> , 2011	94°C / 30	CACGACGTTGTA AAACGACTCAACYAATCAYAAAAGATATYGGCAC	45(27)	705/655	
FISHCOIHBC _{ts} ^b			53°C / 30	GGATAACAATTT CACACAGGACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA	43(23)		
COIFALT			72°C / 35	ACAAATCAYAARGAYATYGG	20		
COIRALT		Mikkelsen P.M. <i>et al.</i> , 2006	94°C / 30	47°C / 30	TTCAGGRTGNCCRAARAAYCA	21	698/650
LCO1490		72°C / 30	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	25			
HCO2198		Folmer O. <i>et al.</i> , 1994	94°C / 30	46°C / 30	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	26	710/659
REVshort1 ^b		72°C / 40	GGATAACAATTT CACACAGGGGYATNACTATRAAGAAAATTATTAC	46(26)	192/139 ^c		
16sar-L		16S rRNA	Palumbi S.R., 1996	94°C / 25	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	20	≈630/588 ^d
16sbr-H				57.5 °C / 15	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	22	
FOR16S-2				72 °C / 2	CTTMGGTTGGGGCGACC	17	
REV16S-2	Armani A. <i>et al.</i> , 2015 c		94°C / 30	53°C / 20	CTGTTATCCCTAGGGTAACT	20	≈152 /117 ^d
PEPCK for2	72°C / 20		GCAAGACCAACCTGGCCATGATGAC	25	644/598		
PEPCK rev3	PEPCK	Tsang L.M. <i>et al.</i> , 2008	94°C / 30	59°C / 30	CGGGYCTCCATGCTSAGCCARTG	23	
			72°C / 35				

MATERIALI E METODI – AMPLIFICAZIONE SEQUENZIAMENTO E ANALISI DELLE SEQUENZE



CORSA ELETTROFORETICA

SEQUENZIAMENTO DAL HIGH-THROUGHPUT GENOMIX CENTRE (WASHINGTON, USA)



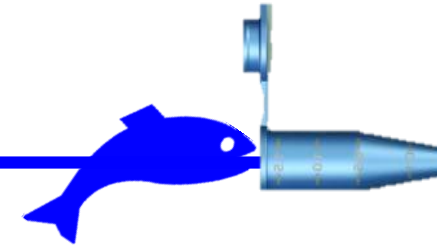
BOLD

GeneBANK

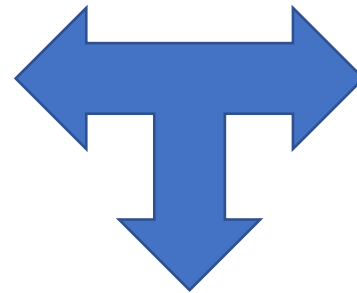


COI	>98%
PEPCK	>99%
16S rRNA	>99%

MATERIALI E METODI – CONFRONTO TRA I RISULTATI MOLECOLARI E IL NOME SCIENTIFICO RIPORTATO SUL CERTIFICATO SANITARIO



RISULTATI DELL'ANALISI MOLECOLARE



DENOMINAZIONE SCIENTIFICA RIPORTATA SUI CERTIFICATI SANITARI

BOLDSYSTEMS Databases | Taxonomy | Identification

Specimen Identification Request

▼ Query: `unlabeled_sequence`

Search Result:

The submitted sequence has been matched to *Todarodes pacificus*, species that has not yet been analyzed. Such cases are rare.

A species page is available for this taxon: [Species Page](#)

Closest matching BIN (within 3%): [BIN Page](#)

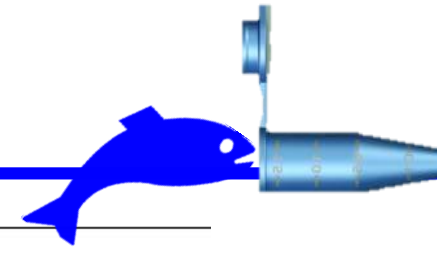
INDIVIDUARE
EVENTUALI
SOSTITUZIONI DI
SPECIE

MISLABELING

1.25 Commodities certified for/ Mercce certificate per: Human consumption/ Consumo umano <input type="checkbox"/>						
1.26.			1.27. For import or admission into EUP or l'importazione/ammmissione nell'UE <input type="checkbox"/>			
1.28. Identification of the commodities/ Identificazione della merce						
Species (scientific name) Specie(nome scientifico)	Nature of commodity Natura della merce	Treatment type of establishment Tipo di trattamento	Approval number/ N. di riconoscimento dello stabilimento	Manufacturing plant Impianto di fabbricazione	Number of packages Numero di colli	Net weight Peso netto
TODARODES PACIFICUS	WILD ORIGIN	FROZEN	F70002B42	FISHING PLANT	1000 COLLI	**17850KGS (WITHOUT GLAZE)

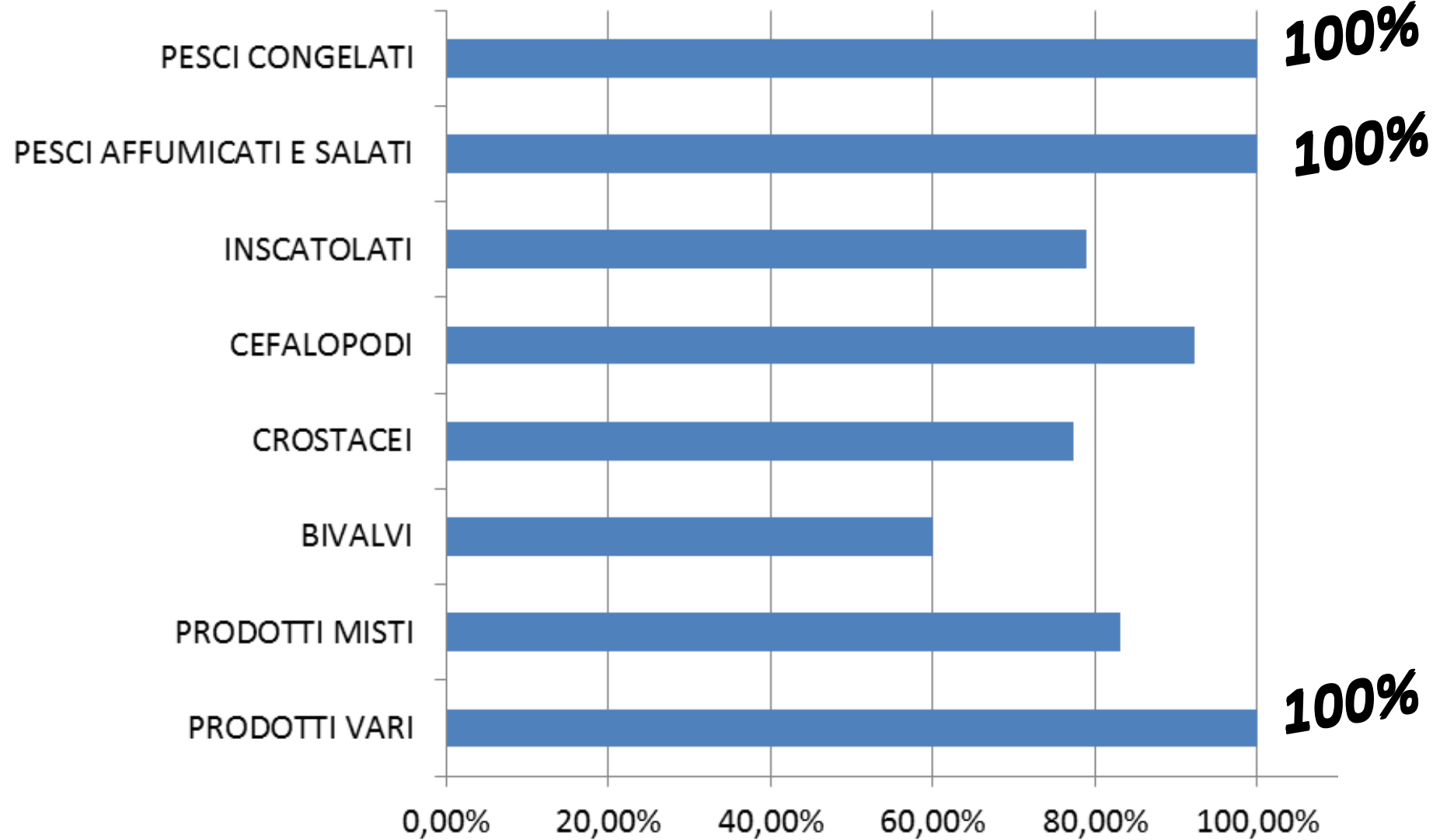
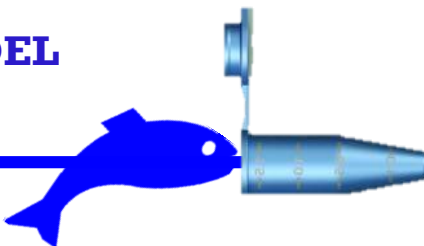


RISULTATI E DISCUSSIONI – CAMPIONAMENTO DEI PRODOTTI



PESCI	CEFALOPODI	CROSTACEI	PRODOTTI MISTI	BIVALVI	PRODOTTI VARI
129 prodotti	64 prodotti	53 prodotti	6 prodotti	20 prodotti	5 prodotti
74 filetti 13 interi decapitati 12 tranci 11 esemplari interi 19 inscatolati 2 interi affumicati 1 filetto salato	31 esemplari interi 14 anelli e ciuffi 6 porzioni di mantello 3 solo ciuffi	31 code sgusciate 7 esemplari interi 6 code non sgusciate 6 porzioni di chele zampe o carapace 3 polpa	4 spiedini 2 confezioni	12 con guscio 8 senza guscio	2 uova di pesce 1 cosce di rana 1 sushi <i>ready to eat</i> 1 pelle di pesce

RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MOLECOLARE: ESTRAZIONE DEL DNA, VALUTAZIONE AMPLIFICAZIONE E SEQUENZIAMENTO



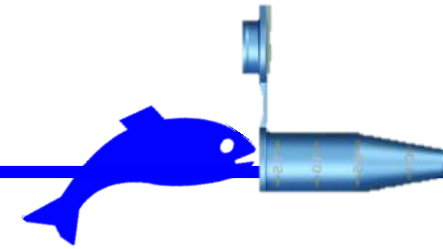
RISULTATI E DISCUSSIONI – CONFRONTO DEI RISULTATI MOLECOLARI CON IL NOME SCIENTIFICO RIPORTATO SUL CERTIFICATO SANITARIO: VALUTAZIONE DEL LIVELLO DI MISLABELING



I dati ottenuti dal confronto tra i risultati molecolari e le informazioni dichiarate sui certificati sanitari sono stati classificati in categorie differenti:

identificazione specifica	<ul style="list-style-type: none">• specie identificata = specie dichiarata• specie identificata \neq specie dichiarata
NO identificazione specifica	<ul style="list-style-type: none">• risultati molecolari = genere specie dichiarata• risultati molecolari = famiglia specie dichiarata• risultati molecolari NON specifici \rightarrow individuazione MISLABELING• confronto non possibile per assenza di sequenze di riferimento

RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MISLABELING



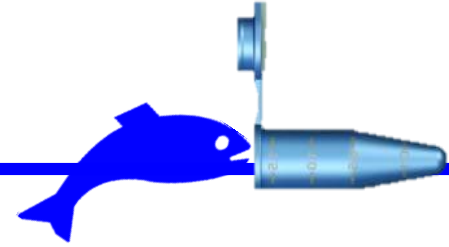
INTRA-GENERE SOSTITUZIONI PROBABILMENTE INVOLONTARIE O CASUALI

Per le specie appartenenti allo stesso genere che presentano elevate affinità morfologiche, aree di distribuzione sovrapposte e habitat condivisi, l'erronea identificazione di specie può essere la diretta conseguenza di un operatore poco esperto o non correttamente formato.

PESCI	CEFALOPODI	CROSTACEI
<p><i>Psettodes belcheri</i> ? <i>P. bennetti</i> <i>Epinephelus areolatus</i> ? <i>E. bleekeri</i> <i>Merluccius paradoxus</i> ? <i>M. capensis</i> <i>Mustelus mustelus</i> ? <i>M. punctulatus</i> <i>Synaptura cadenati</i> ? <i>S. lusitanica</i></p>	<p><i>Loliolus japonica</i> ? <i>L. beka</i> <i>Sepia officinalis</i> ? <i>S. hierreda</i> <i>Sepiella japonica</i> ? <i>S. inermis</i> <i>Uroteuthis chinensis</i> ? <i>U. edulis</i> / <i>U. duvauceli</i></p>	<p><i>Metapenaeus monoceros</i> ? <i>M. affinis</i></p>



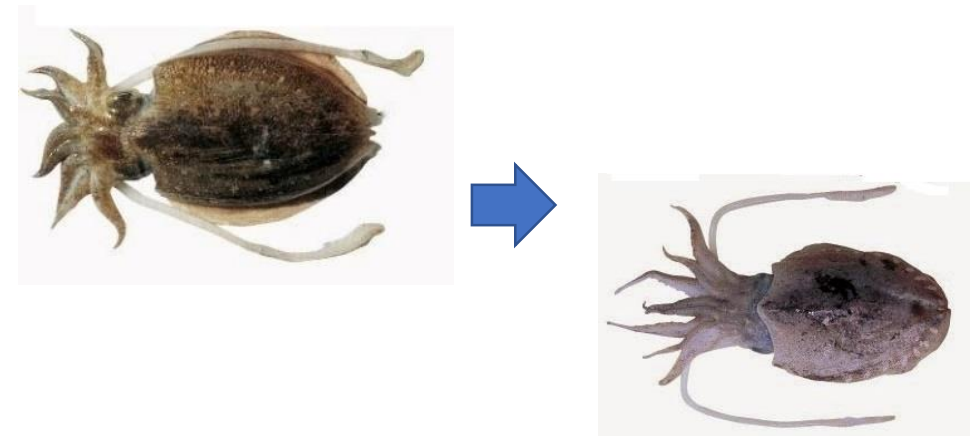
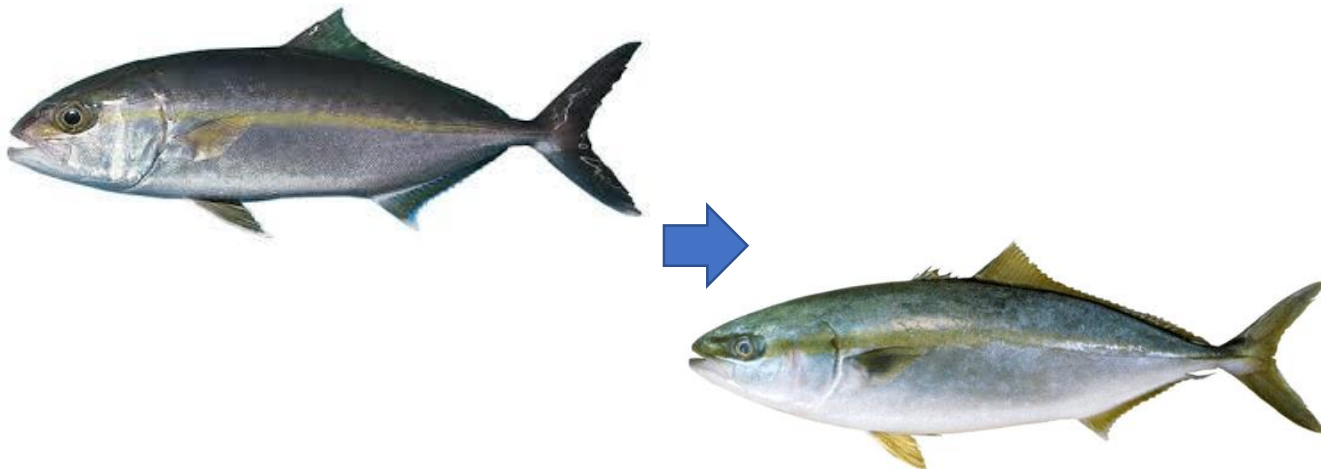
RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MISLABELING



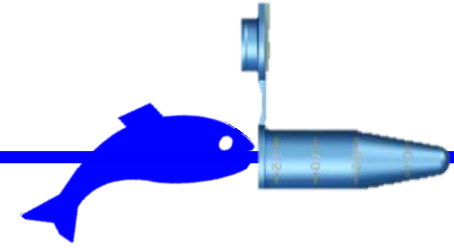
INTRA-GENERE

SOSTITUZIONI PROBABILMENTE VOLONTARIE

PESCI	CEFALOPODI
<i>Seriola dumerilii</i> <i>Seriola quinqueradiata</i>	<i>Sepia aculeata</i> <i>Sepia pharaonis</i>



RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI DEI CASI DI MISLABELING

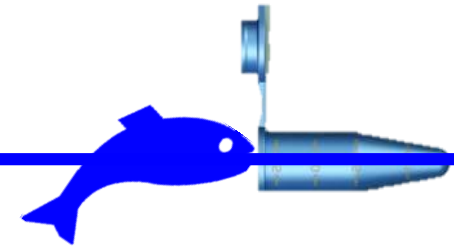


PERCENTUALI DI MISLABELING:

- 14.0% (95% CI 8.7-21.9) per i pesci congelati,
- **43.8% (95% CI 32.3-55.9) per i prodotti a base di cefalopodi,**
- 17% (95% CI 9.2-29.2) per i prodotti a base di crostacei,
- 66.7% (95% CI 30.0-90.3) per i prodotti costituiti da un mix di cefalopodi e crostacei,
- 5% (95% CI 0.9-23.6) per i bivalvi.

VALORE DI MISLABELING MEDIO: 22.5% (95% CI 8-28)

RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MISLABELING



INTERNAZIONALE

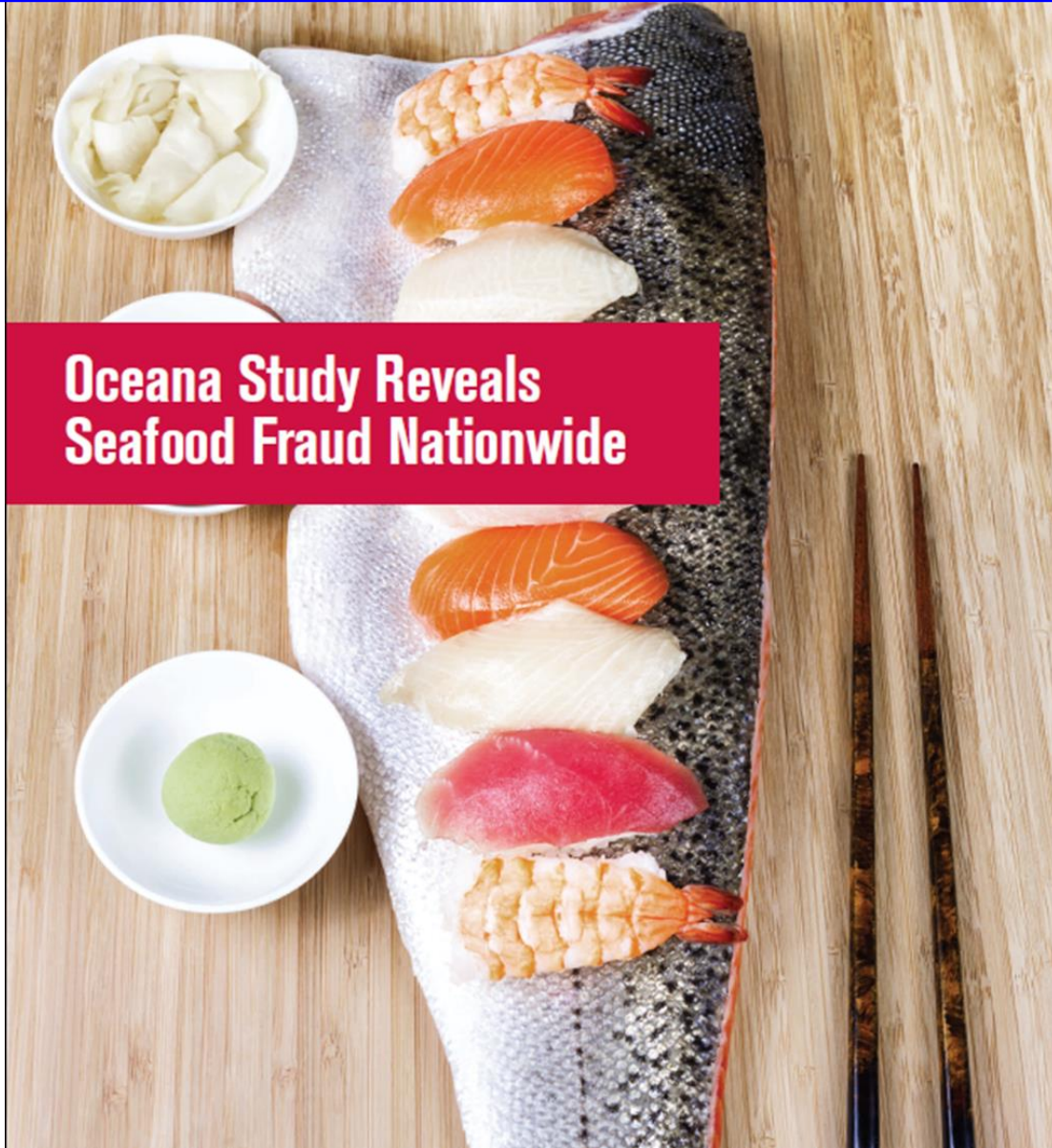


EUROPEO



NAZIONALE





**Oceana Study Reveals
Seafood Fraud Nationwide**

1215 campioni

647 punti vendita

13 stati USA

33%
MISLABELING

Misdescription incidents in seafood sector

Miguel Ángel Pardo*, Elisa Jiménez, Begoña Pérez-Villarreal

Food Research Division, AZTI. Parque Tecnológico de Bizkaia, Astondo bidea 609, 48160 Derio, Bizkaia, Spain



51 articoli scientifici - 2010-2015 - 4500 campioni

- Range campioni esaminati negli studi considerati (5-386)
- Origine geografica dei campioni esaminati:
- Principalmente Europa 60% (UK 20%, Spagna 16%, Italia 13%)
- North America 14%
- Africa 13%

33%
MISLABELING

2016

INTERNAZIONALE

**Deceptive Dishes:
Seafood Swaps Found Worldwide**



Dati provenienti da più di 200 studi

55 paesi

25000 campioni

OCEANA Protecting the
World's Oceans

20%
MISLABELING

fino a qualche anno fa [?] circa il 40% dei prodotti venduti nel territorio comunitario risultava non corrispondente alla specie dichiarata in etichetta o al banco di vendita (miller & mariani, 2010; miller et al., 2012)



1563 campioni
INGHILTERRA
SPAGNA
IRLANDA
PORTOGALLO
FRANCIA
GERMANIA

RESEARCH COMMUNICATIONS RESEARCH COMMUNICATIONS

Low mislabeling rates indicate marked improvements in European seafood market operations

Stefano Mariani^{1*}, Andrew M Griffiths¹, Amaya Velasco², Kristina Kappel³, Marc Jérôme⁴, Ricardo I Perez-Martin², Ute Schröder³, Veronique Verrez-Bagnis⁴, Helena Silva⁵, Sara G Vandamme¹, Belgees Boufana¹, Rogerio Mendes⁵, Marc Shorten⁶, Cat Smith⁶, Elizabeth Hankard¹, Samantha A Hook¹, Alice S Weymer¹, Daryl Gunning⁶, and Carmen G Sotelo²

Over the span of a decade, genetic identification methods have progressively exposed the inadequacies of the seafood supply chain, revealing previously unrecognized levels of seafood fraud, raising awareness among the public, and serving as a warning to industry that malpractice will be detected. Here we present the outcome of the latest and largest multi-species, transnational survey of fish labeling accuracy to date, which demonstrates an apparent sudden reduction of seafood mislabeling in Europe. We argue that recent efforts in legislation, governance, and outreach have had a positive impact on industry regulation. Coordinated, technology-based, policy-oriented actions can play a pivotal role in shaping a transparent, sustainable global seafood market and in bolstering healthier oceans.

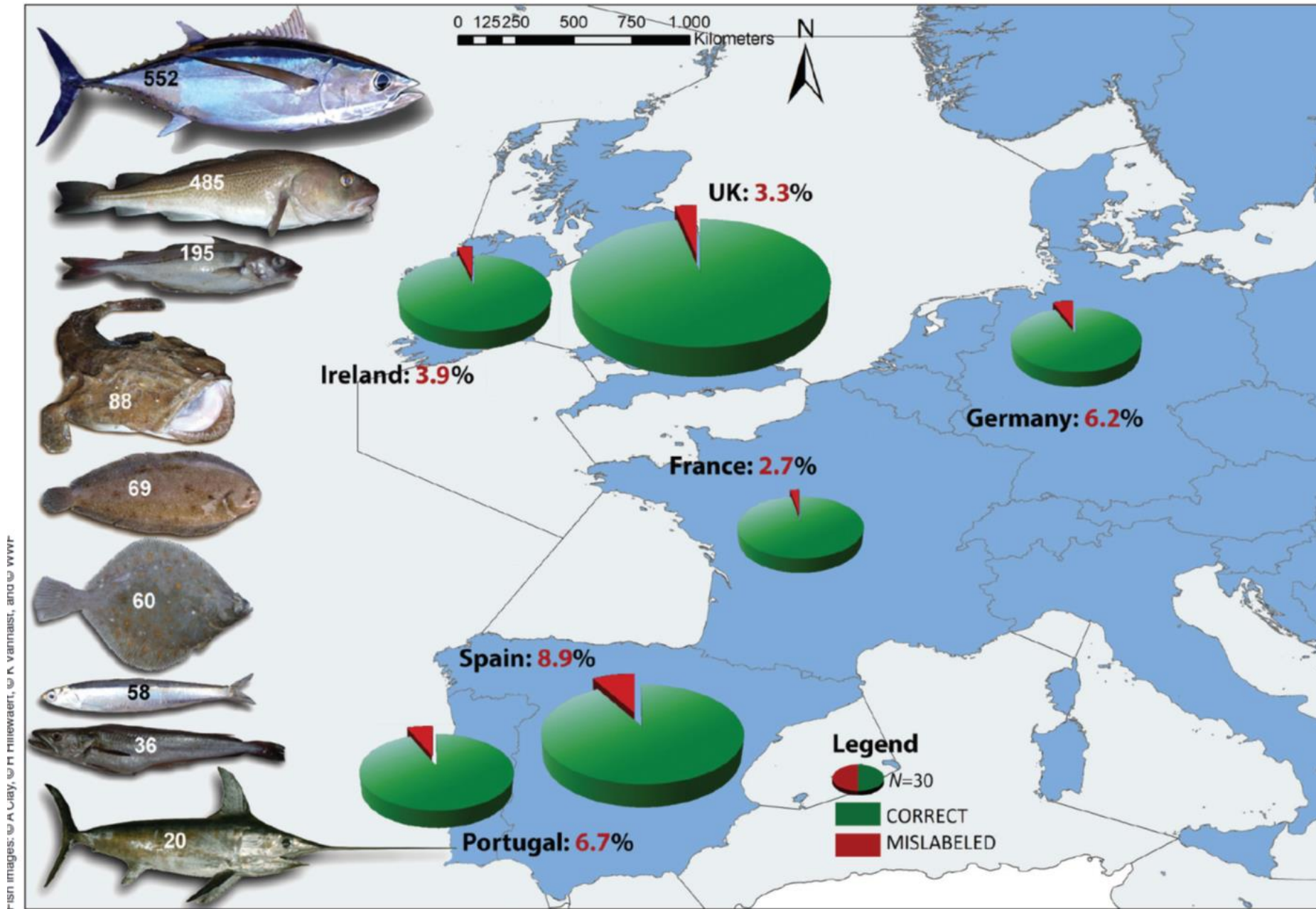


Figure 1. Map summarizing the levels of fish product mislabeling recorded in six European countries. The nine species tested are stacked to the left, with overall sample numbers imprinted on the images. Pie chart size is proportional to the number of samples screened (see chart size corresponding to a sample size of $N = 30$ in the legend). Red segments and percentages indicate mislabeled products.

COMMISSION RECOMMENDATION

of 12.3.2015

on a coordinated control plan with a view to establishing the prevalence of fraudulent practices in the marketing of certain foods

EUROPEO



Table 1 - Numbers of samples, non-compliances and category of product

Unprocessed products			Processed products			Total		
Samples	NC	% NC	Samples	NC	% NC	Samples	NC	% NC
2429	156	6%	1477	78	5%	3906	232	6%

Note: NC = non-compliant results

Table 2 - Number of samples, non-compliances and location of sampling

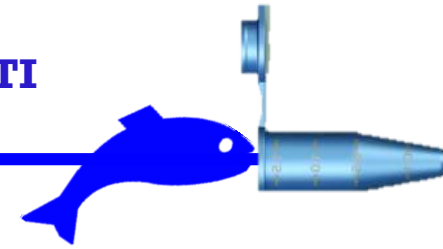
	BIP	market or trader	cold store	processing establishments	retail	mass caterer	Total
Samples tested	135	605	316	617	1762	471	3906
% of samples	3%	15%	8%	16%	45%	12%	100%
NC	9	16	14	27	129	37	232
% NC	7%	3%	4%	4%	7%	8%	

Note: NC = non-compliant results

WHITE FISH SPECIES

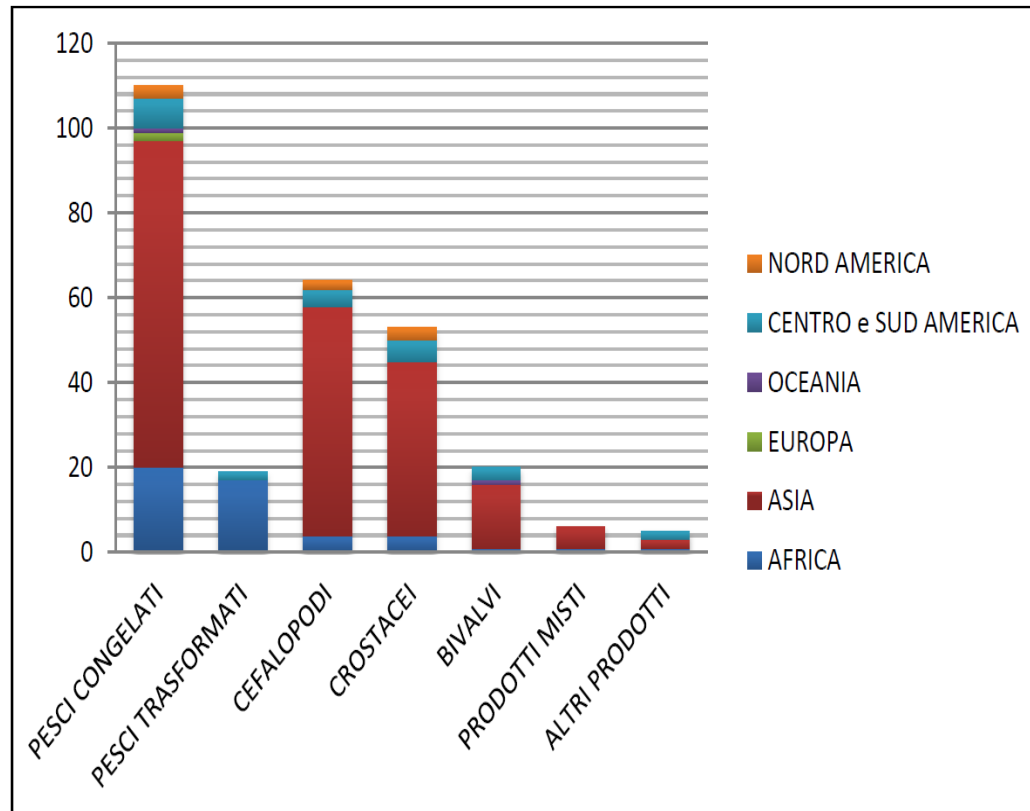
Categoria	% NC
Cernie	31%
Sogliola	24%
Scorfani	12%
Merluzzi	11%
Rana pescatrice	8%

RISULTATI E DISCUSSIONI – MISLABELING e ORIGINE DEI PRODOTTI



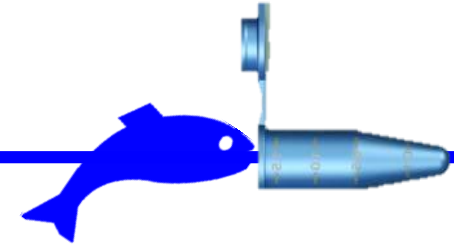
La maggior parte dei prodotti analizzati ➔ provenienza ASIA

Cina, Vietnam e Thailandia



PAESE TERZO	numero totale dei prodotti per tipologia	numero dei mislabeling riscontrati
	PESCE	
Cina	60	6
Marocco	2	1
Mauritania	3	2
Vietnam	12	3
Senegal	5	1
Sudafrica	6	1
CEFALOPODI		
Cina	12	4
Malesia	1	1
Senegal	2	1
Thailandia	12	10
Vietnam	14	9
CROSTACEI		
Cina	9	3
India	15	1
Thailandia	9	2
PRODOTTI MISTI		
India	1	1
Thailandia	2	1
Tunisia	1	1
Vietnam	2	1
BIVALVI		
Vietnam	9	1

CONCLUSIONI



La % è variabile in funzione della categoria (pesci, cefalopodi...)

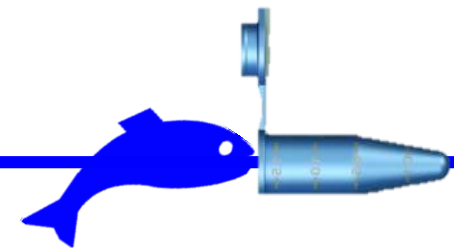
Le % più elevate si riscontrano nei prodotti preparati

Le specie “sostituenti” sono meno pregiate di quelle dichiarate

Parte delle sostituzioni potrebbero essere involontarie o accidentali, sia in relazione alla difficoltà oggettiva di distinguere le specie catturate che a problemi di formazione degli operatori, specialmente nei Paesi in via di sviluppo

Sul totale di 277 prodotti analizzati è stato riscontrato un valore medio di mislabeling pari al 20,6% (in accordo con gli ultimi dati bibliografici relativi al contesto europeo)

I dati ottenuti potrebbero essere utili per implementare i futuri controlli effettuati sulle partite provenienti da Paesi terzi e destinate ai territori dell’Unione Europea.



**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**