

**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](mailto: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](http://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 <sup>a, 1</sup>, L. Tinacci <sup>a, 1</sup>, F. Costanzo <sup>a</sup>, D. Azzarelli <sup>a</sup>, P. D'Amico <sup>a</sup>, G. Tasselli <sup>b</sup>,  
A. Magni <sup>b</sup>, A. Guidi <sup>a</sup>, D. Nucera <sup>c</sup>, A. Armani <sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> *FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Viale delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy*

<sup>b</sup> *Border Inspection Post of Livorno-Pisa, Ministry of Health, Via Indipendenza 20, 57100, Livorno, Italy*

<sup>c</sup> *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»

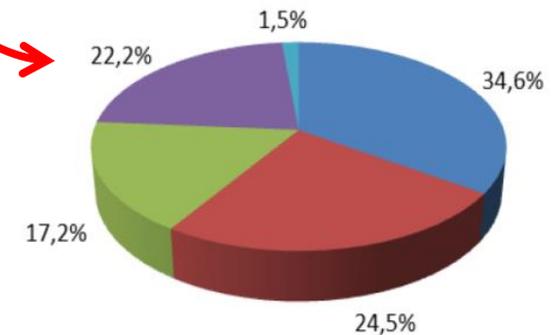
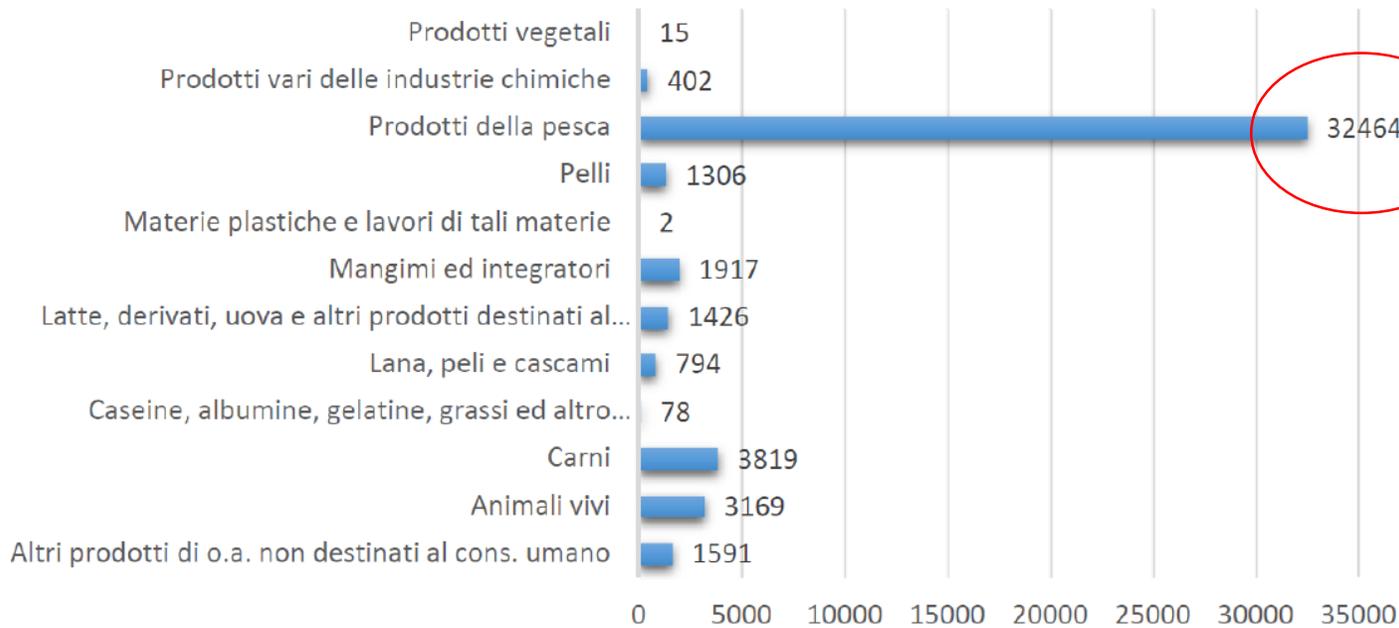
Reg. (CE) 882/2004



# LE IMPORTAZIONI PRESSO I PIF NAZIONALI

2015

Quasi il 70% sul totale



- 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

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

# 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)**

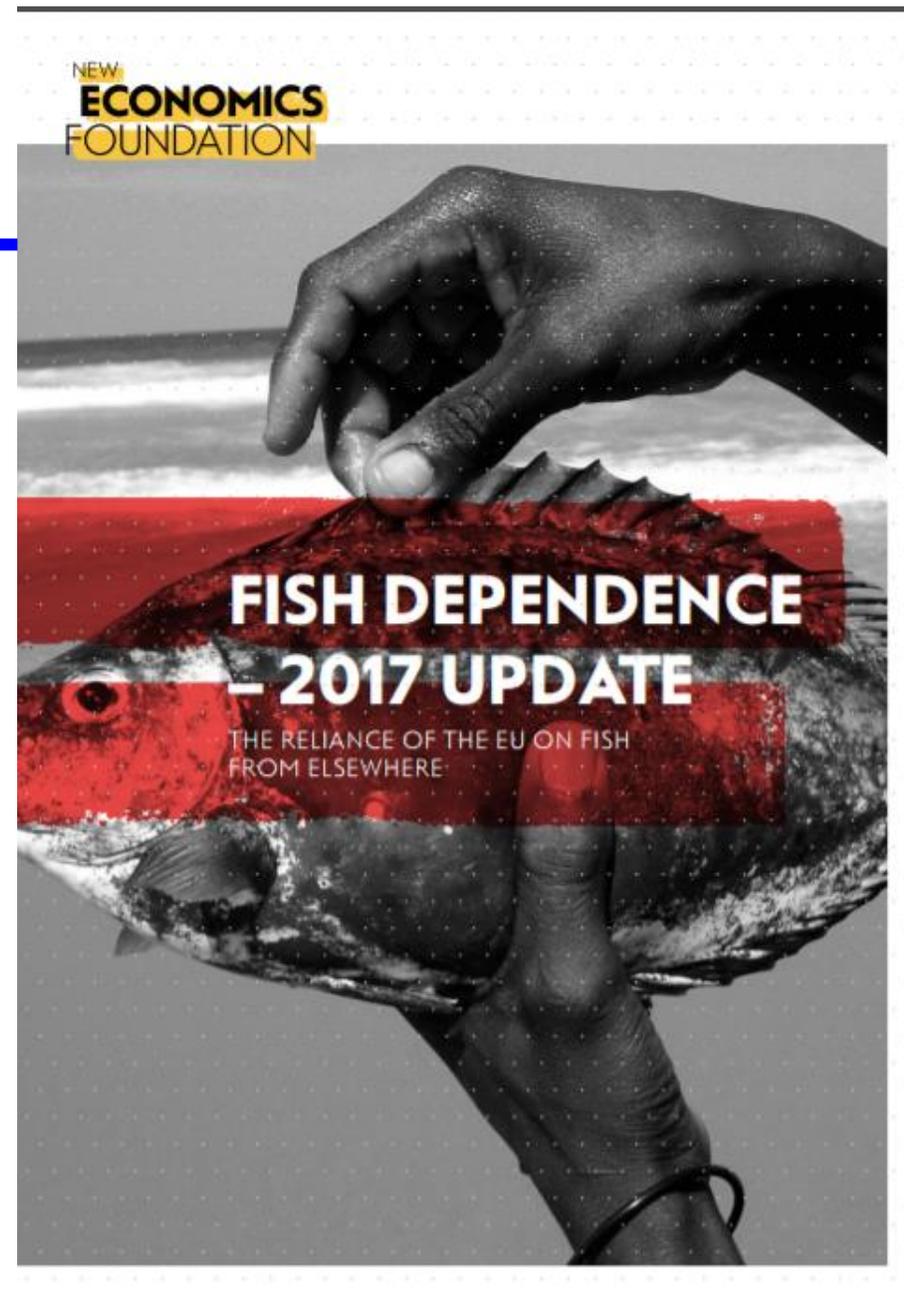
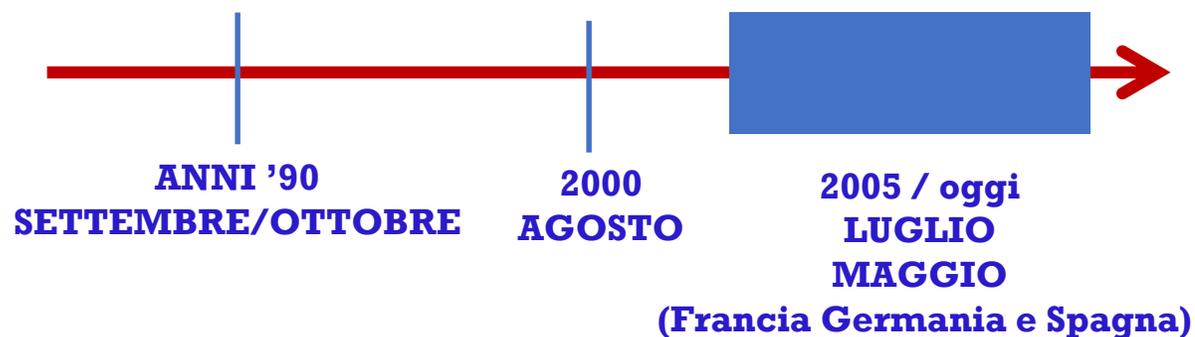
**> ESPORTATORI IN EU: CINA E VIETNAM**



# 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)**

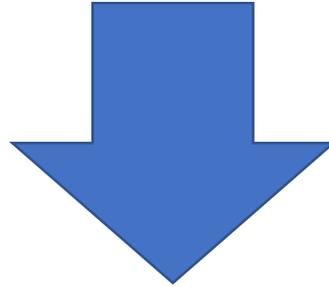




# FRODI ITTICHE

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**



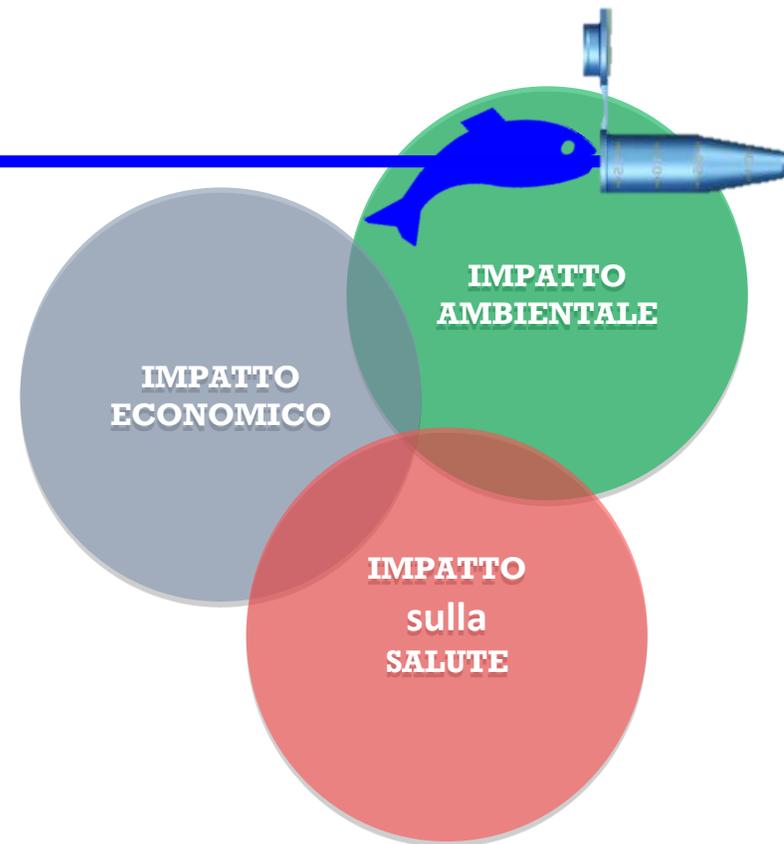
# INTRODUZIONE



Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

## Food Control

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodcont](http://www.elsevier.com/locate/foodcont)



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



Xiong Xiong<sup>1</sup>, Lisa Guardone<sup>1</sup>, 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:

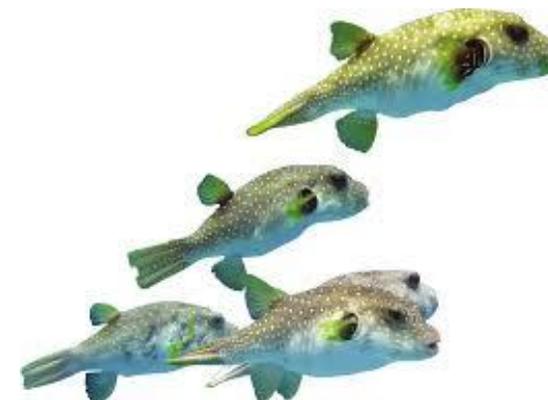
DNA barcoding  
Seafood mislabeling  
Xue  
Cod  
Gadiformes  
Pufferfish  
鳕

### ABSTRACT

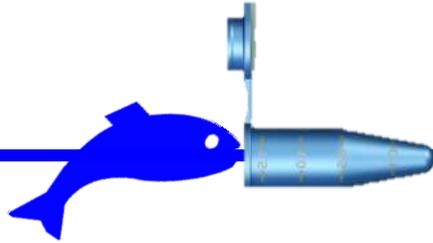
The increasing rate of seafood frauds, especially in the case of highly priced species, highlights the need of verifying the identity of fish products. This paper describes the application of DNA barcoding to the identification of 52 products commercialized with the Chinese term 鳕 (Xue, Cod) in supermarkets (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.**

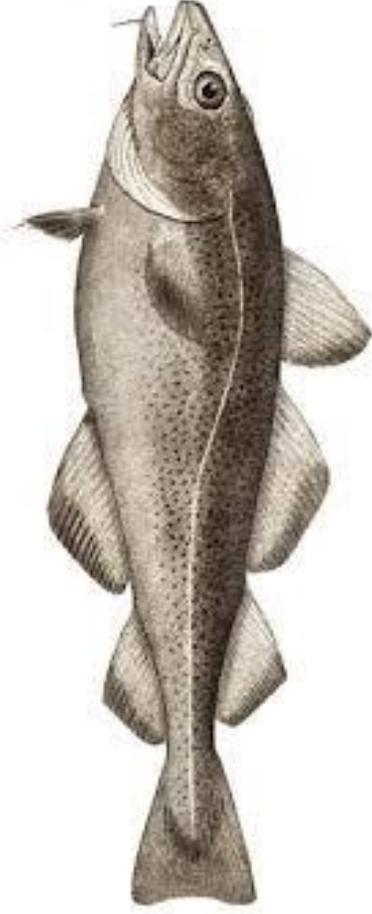
© 2015 Published by Elsevier Ltd.



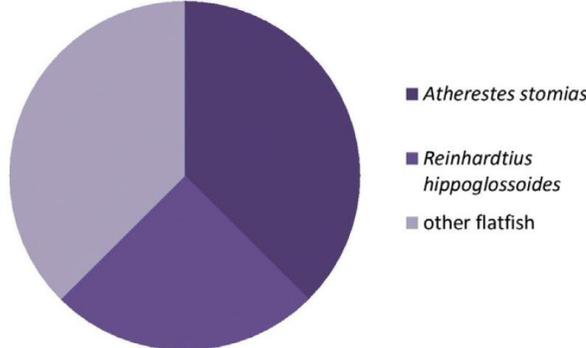
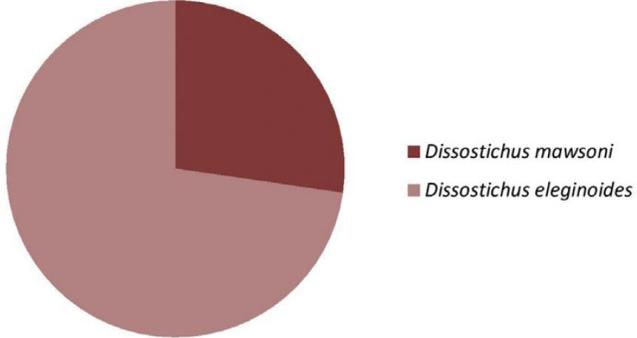
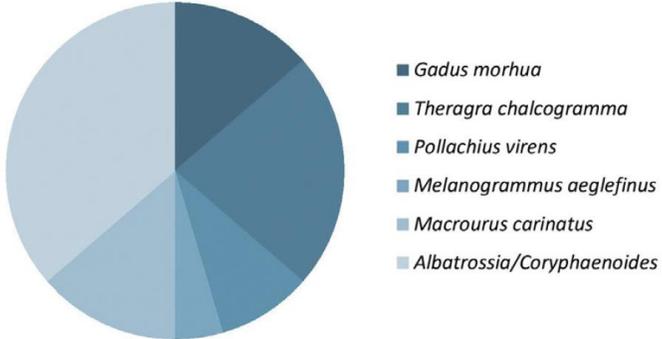
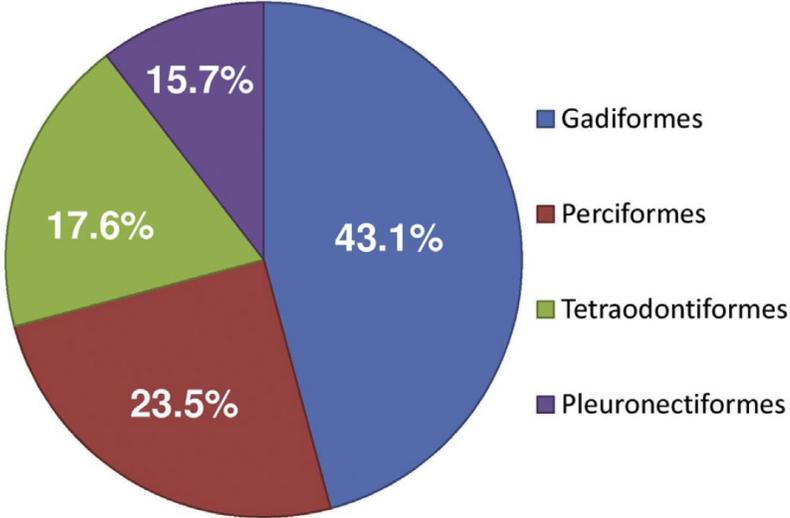
# INTRODUZIONE



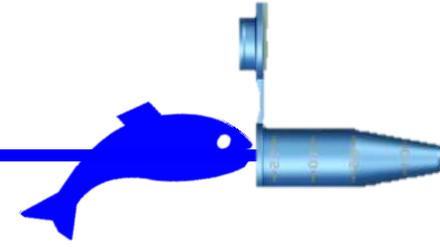
Chinese term 鱈 (Xue, Cod)



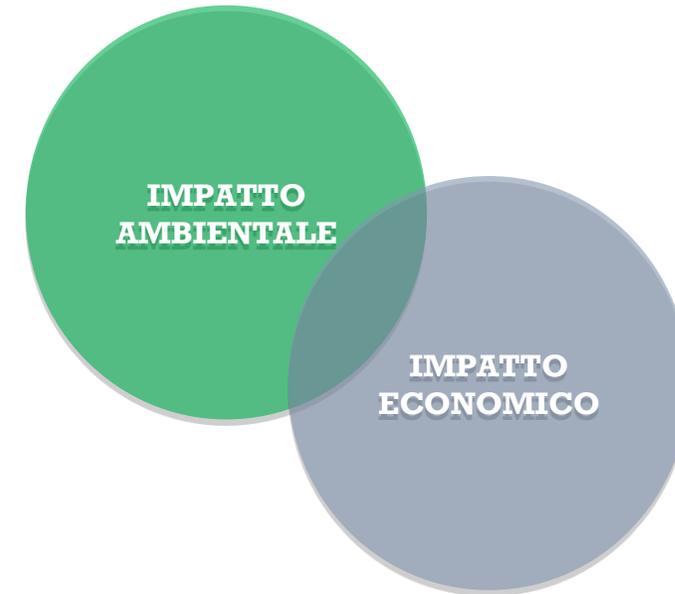
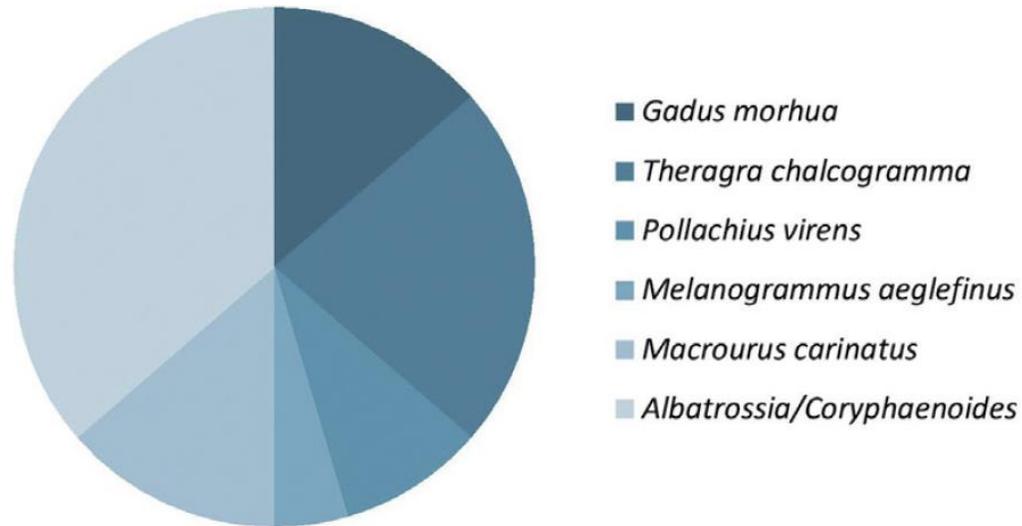
## COMPOSIZIONE ORDINI



# INTRODUZIONE



## ORDINE GADIFORMES

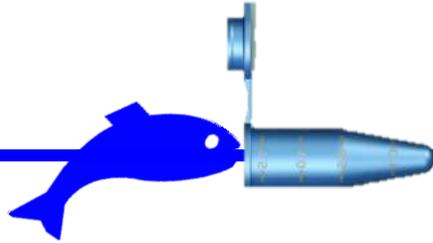


Macrouridae (*M. carinatus*, *C. acrolepis*, *A. pectoralis*), sono specie di fondale catturate come by-catch durante la pesca di profondità.

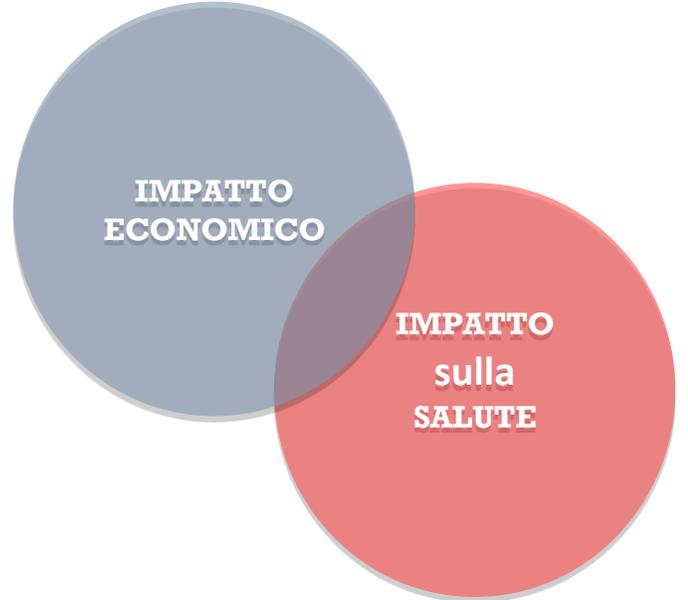
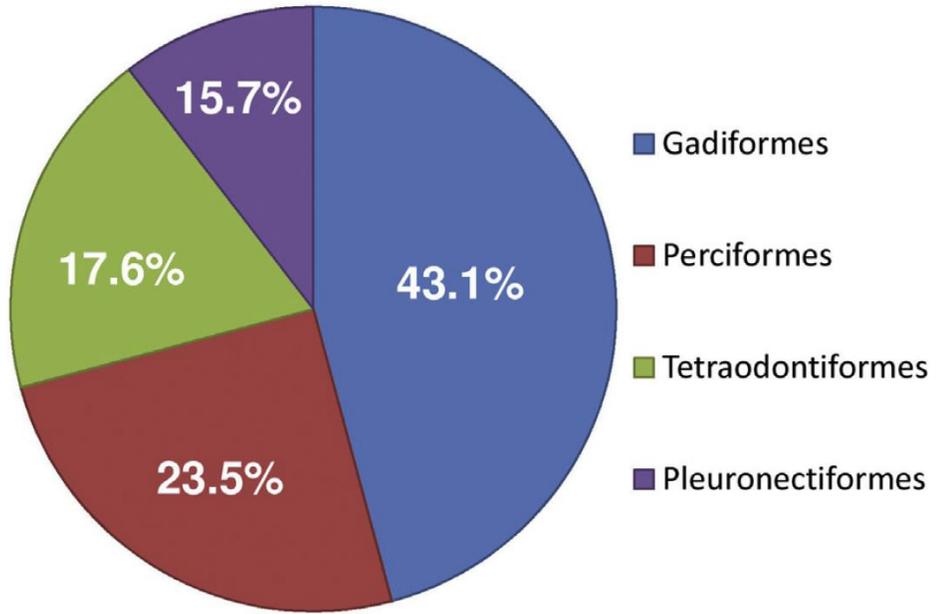
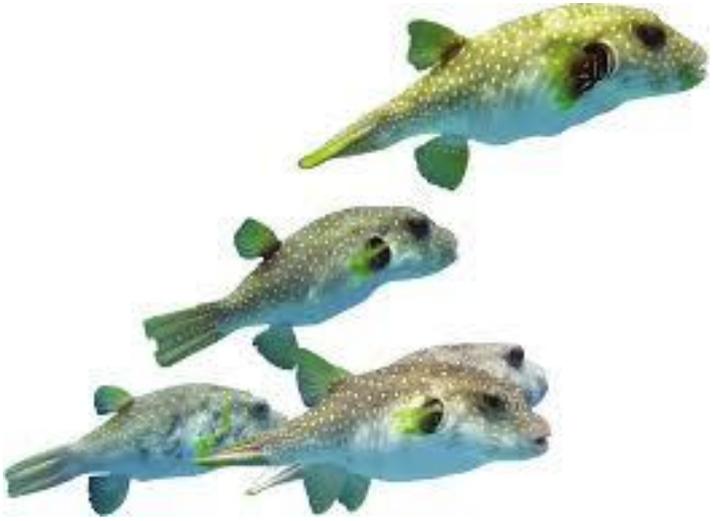
Per le piccole dimensioni e le caratteristiche delle carni (unpalatable) vengono solitamente utilizzate per la produzione di mangimi per pesci.

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

# INTRODUZIONE



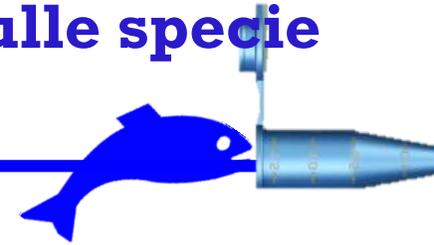
## ORDINE TETRAODONTIFORMES



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 <sup>a</sup>  , Laura Gasperetti <sup>b</sup>, Andrea Maneschi <sup>a</sup>, Enrica Ricci <sup>b</sup>, Francesca Susini <sup>b</sup>, Alessandra Guidi <sup>a</sup>, Andrea Armani <sup>a</sup>

<sup>a</sup> FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Via delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy

<sup>b</sup> 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

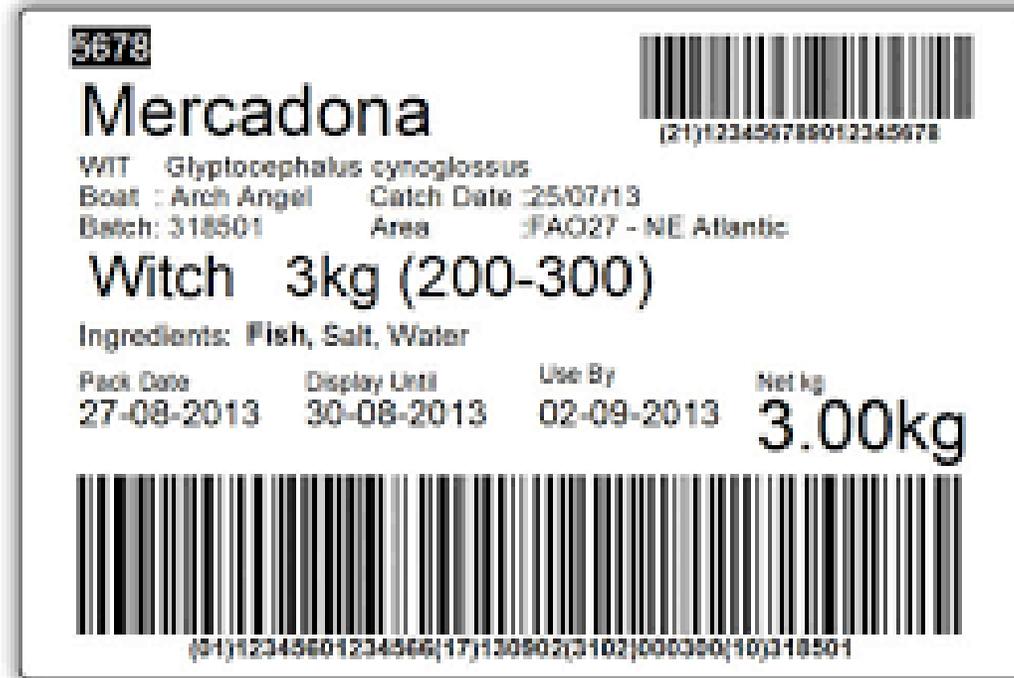
A. Giusti <sup>a</sup>, E. Ricci <sup>b</sup>, M. Guarducci <sup>b</sup>, L. Gasperetti <sup>b</sup>, N. Davidovich <sup>c</sup>, A. Guidi <sup>a</sup>, A. Armani <sup>a</sup>  

<sup>a</sup> FishLab, Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Via Delle Piagge 2, 56124, Pisa, Italy

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

<sup>c</sup> 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 first menu shows "Inglese", "Italiano", "Francese", and "Rileva lingua" with a dropdown arrow; the second menu shows "Italiano", "Inglese", and "Spagnolo" with a dropdown arrow. A blue "Traduci" button is positioned between the two menus. Below the first menu is a text input field containing "mislabelling" and a character count "12/5000". Below the second menu is a text output field containing "un errore di etichettatura". At the bottom of the output field, there are icons for star, copy, audio, and share, along with 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)

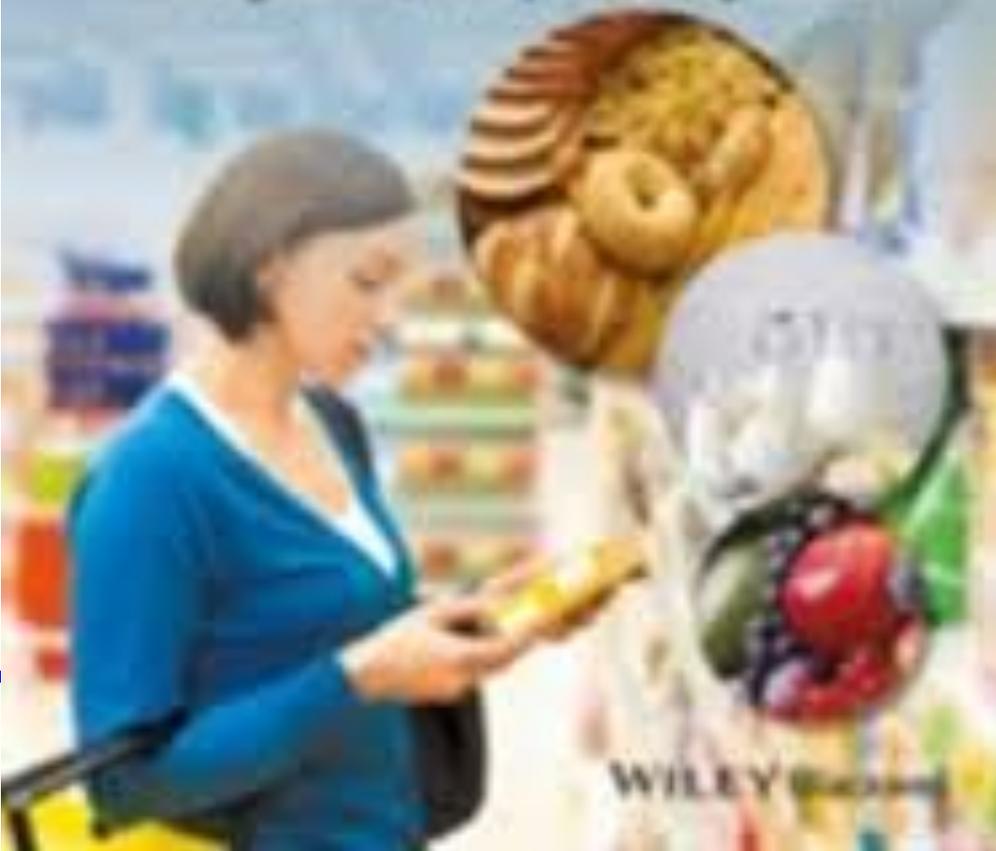
# COME IDENTIFICARE UNA SPECIE ITTICA?



Edited by CONSTANTINOS A. GEORGIOU  
and GEORGIOS P. DANEZIS

# FOOD AUTHENTICATION

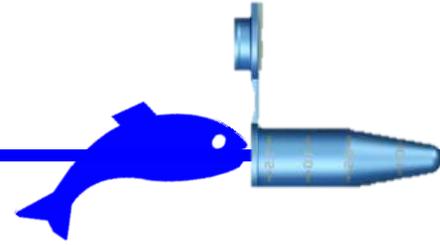
Management, Analysis & Regulation



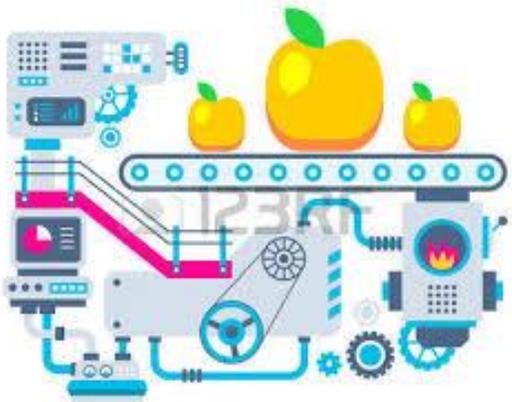
L'autenticazione degli alimenti è quel processo che mira a verificare se quanto contenuto in un prodotto è in conformità con quanto descritto in etichetta.

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

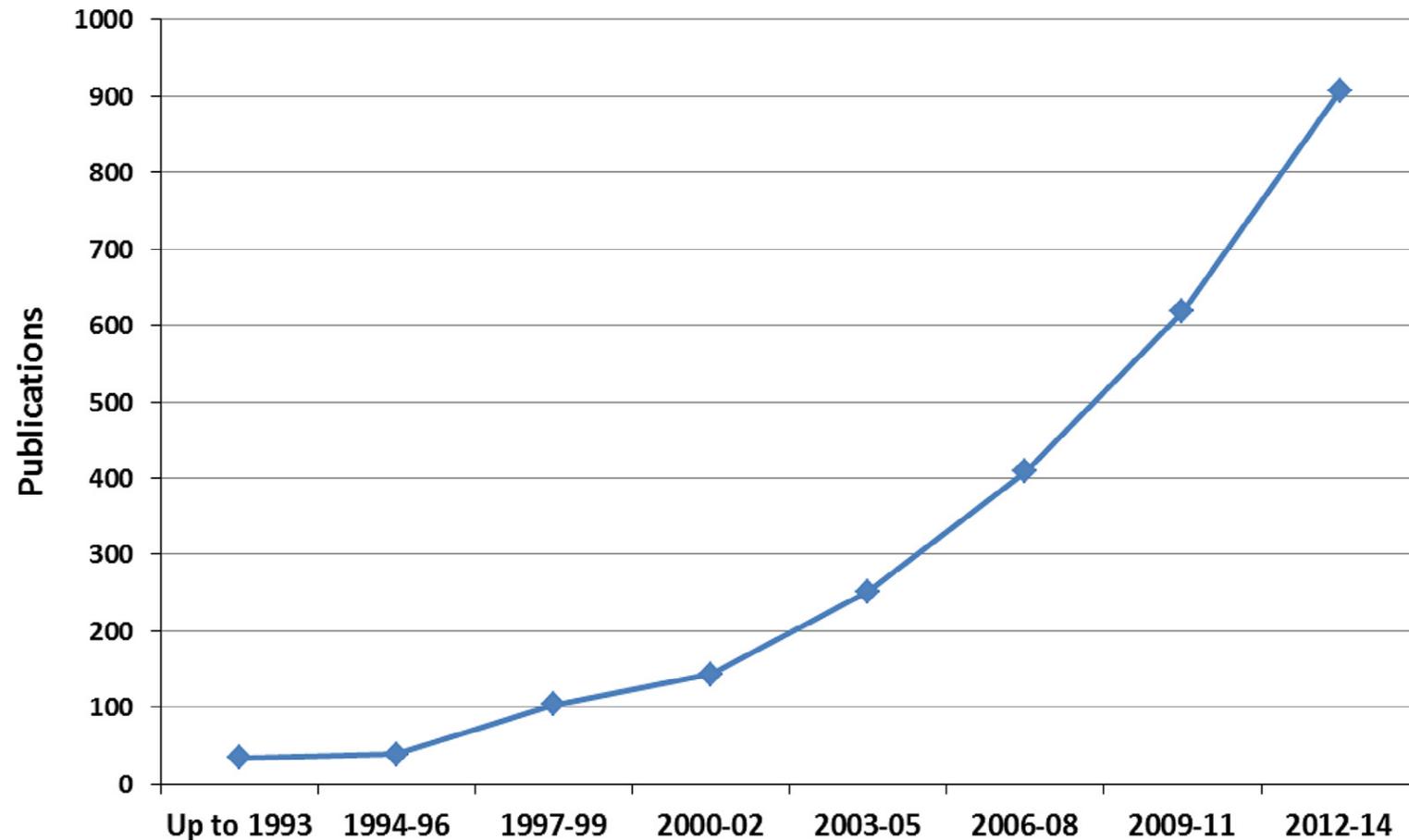
**AUTORITÀ DI CONTROLLO** che necessitano di metodiche analitiche in grado di verificare il rispetto della legislazione



**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**

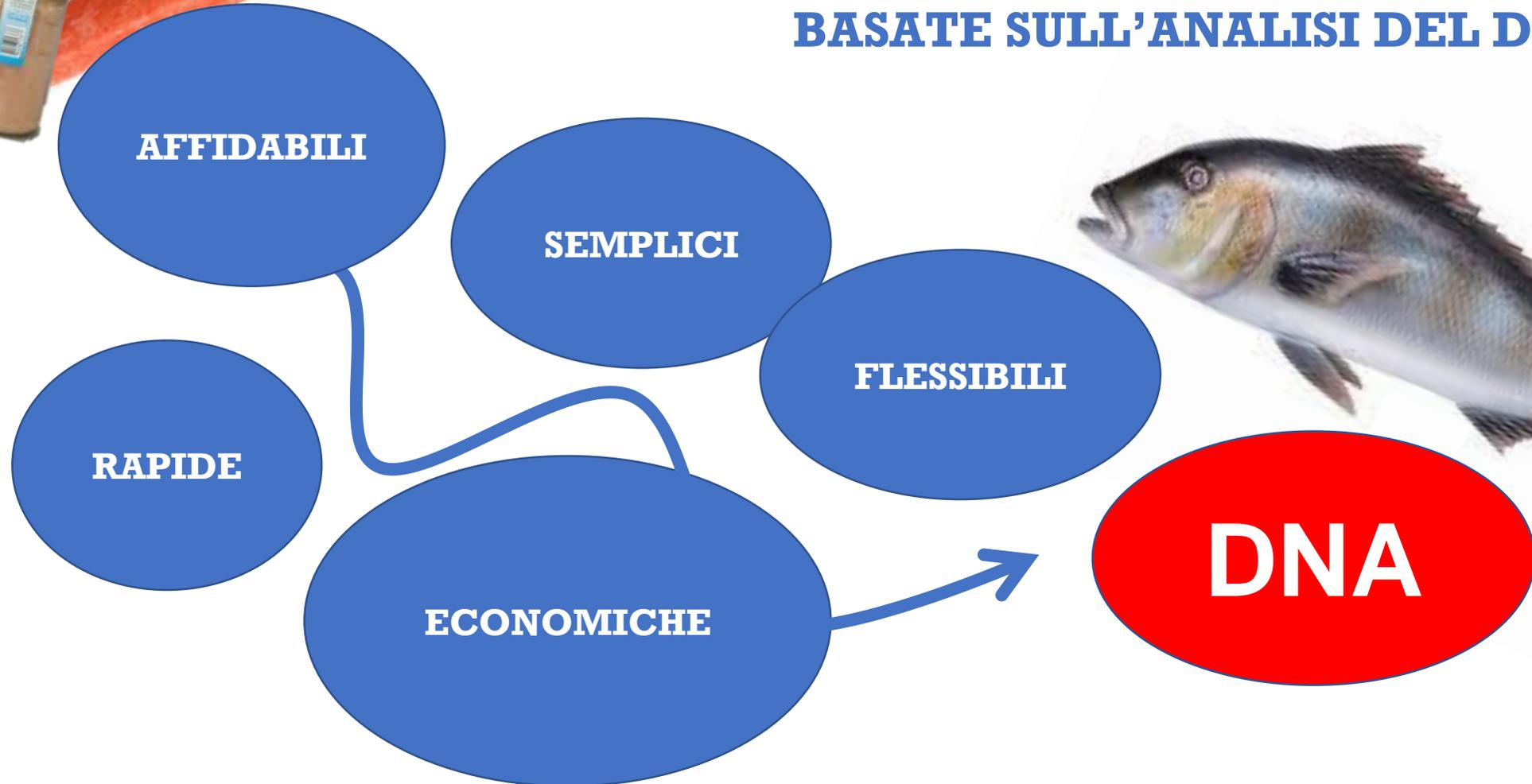


**PRODE**

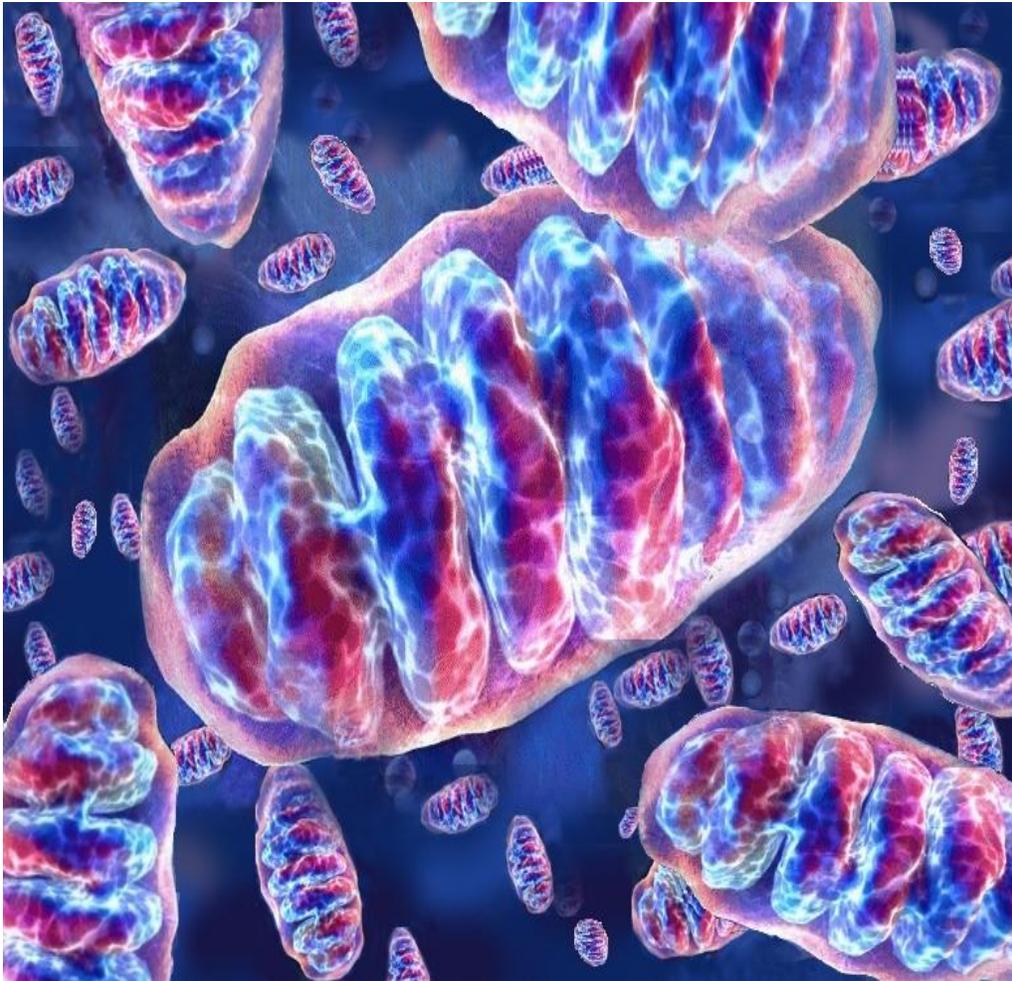
l'analisi degli acidi nucleici al fine di individuare le differenze di specie all'interno delle sequenze genomiche risulta la tecnica d'elezione per l'identificazione di specie in ambito ispettivo



## 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

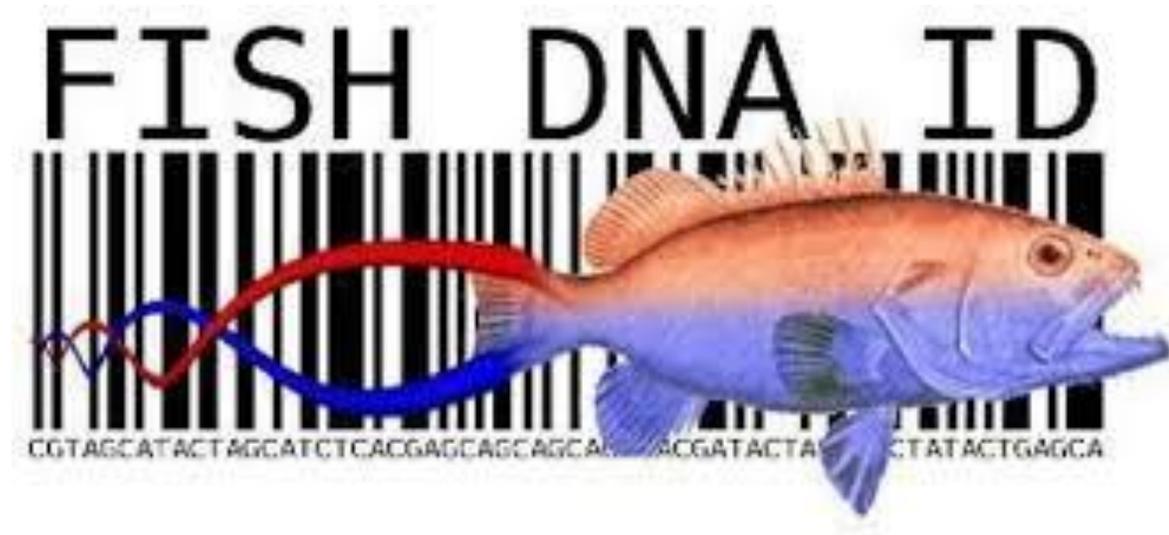
---

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***



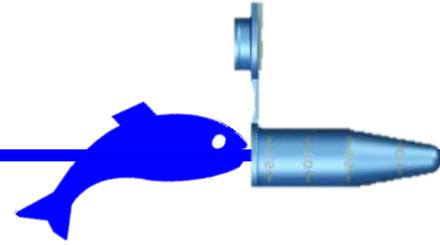
# INTRODUZIONE - DNA BARCODING



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

A screenshot of the BOLD Systems website homepage. The page has a dark blue header with the BOLD SYSTEMS logo on the left and navigation links (DATABASES, IDENTIFICATION, TAXONOMY, WORKBENCH, RESOURCES, LOGIN, and a search icon) on the right. The main content area features a world map background with various animal silhouettes. The text "BARCODE OF LIFE DATA SYSTEM v4" is prominently displayed in white, with "v4" in orange. Below this, the tagline "Advancing biodiversity science through DNA-based species identification." is written in white. An orange button with the text "EXPLORE THE DATA" is centered at the bottom of the main content area.

# INTRODUZIONE - DNA BARCODING



Results Summary							<a href="#">Download</a>
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:

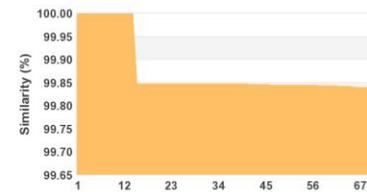
[TREE BASED IDENTIFICATION](#)



## 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



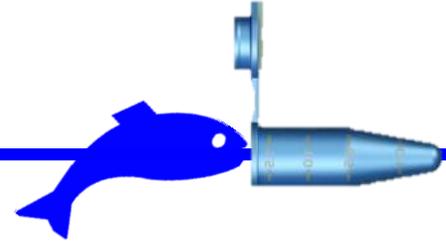
Display:

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

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

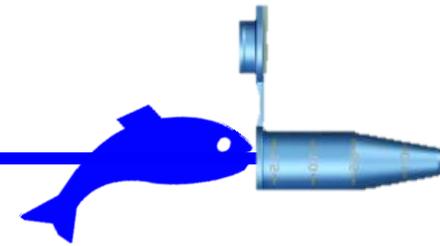
# SCOPO

---



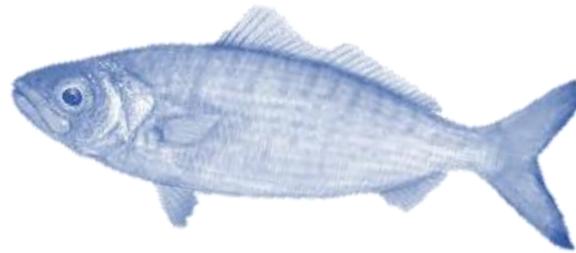
- condurre un'indagine conoscitiva, basata sull'uso del DNA barcoding, per la ricerca di non conformità commerciali e sanitarie in prodotti della pesca importati da Paesi terzi attraverso il PIF di Livorno-Pisa.
  - verificare la denominazione scientifica dichiarata nei certificati sanitari che accompagnavano 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

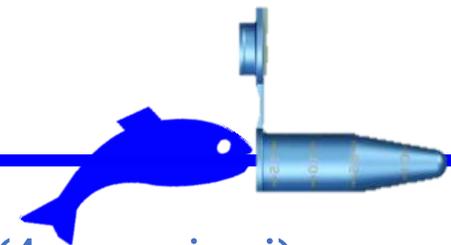


**PRODOTTI MISTI DI CEFALOPODI E CROSTACEI** → 6

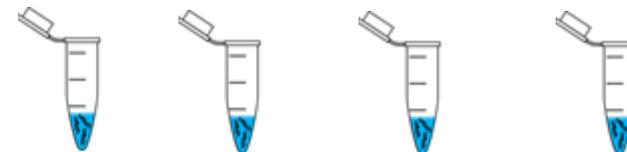
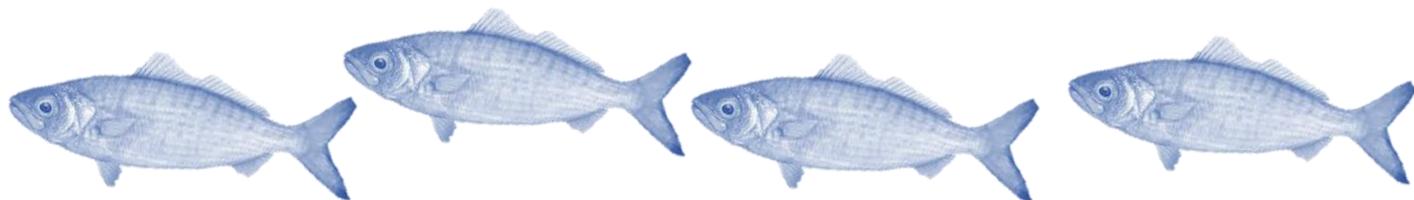
**MOLLUSCHI BIVALVI** → 20



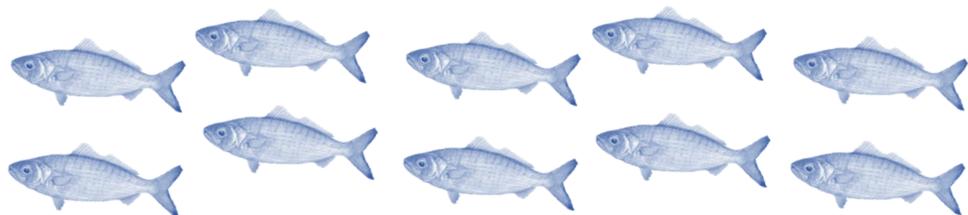
# MATERIALI E METODI - RACCOLTA E CAMPIONAMENTO DEI TESSUTI



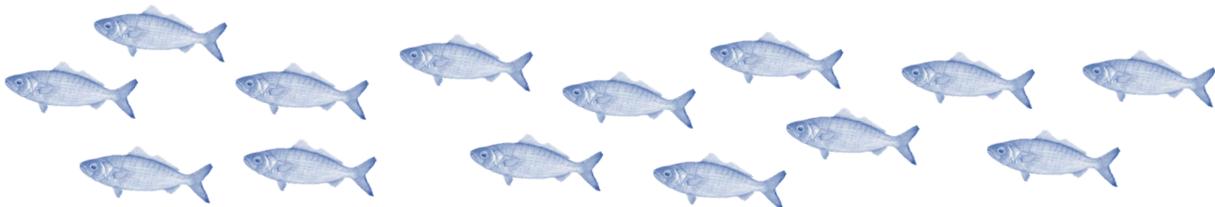
Prodotti costituiti da un massimo di 4 unità ➡ un campione di tessuto per ogni unità (4 campioni)



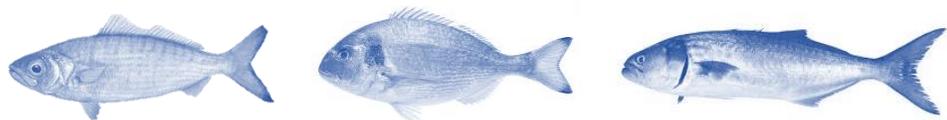
Prodotti costituiti da un numero di unità variabile compreso fra 5-10 ➡ 3 campioni



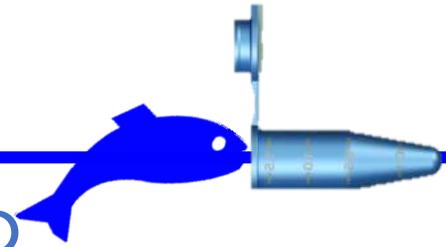
Prodotti costituiti da un numero di unità superiore a 10 ➡ almeno 5 campioni



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

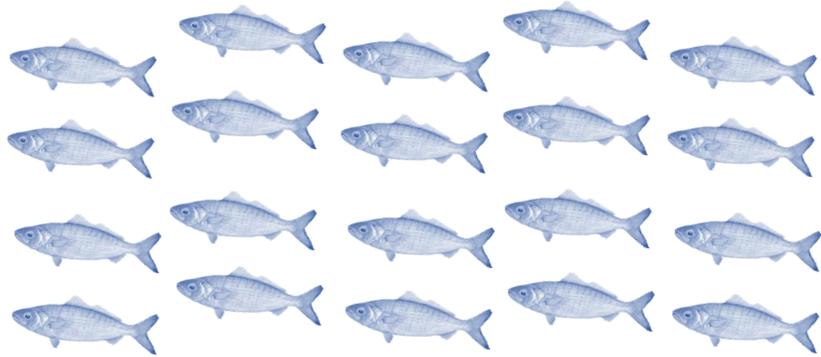


# MATERIALI E METODI - RACCOLTA E CAMPIONAMENTO DEI TESSUTI

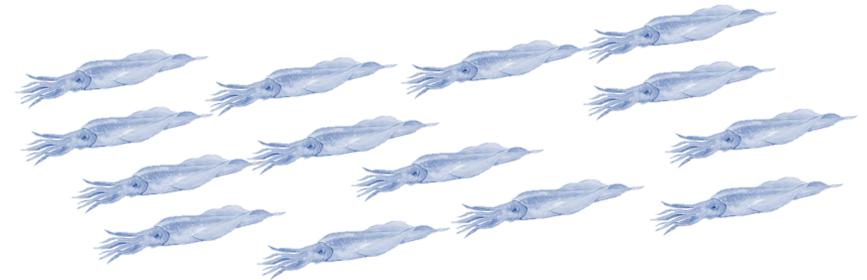


277 PRODOTTI → SONO STATI OTTENUTI 1.010 CAMPIONI DI TESSUTO

## 387 campioni di pesce



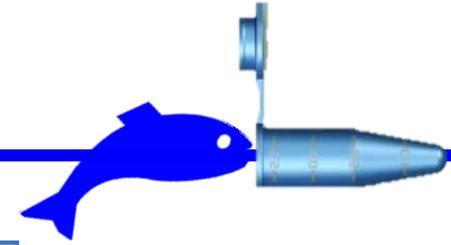
## 310 campioni di cefalopodi



## 214 campioni di crostacei



# MATERIALI E METODI – ANALISI MOLECOLARI

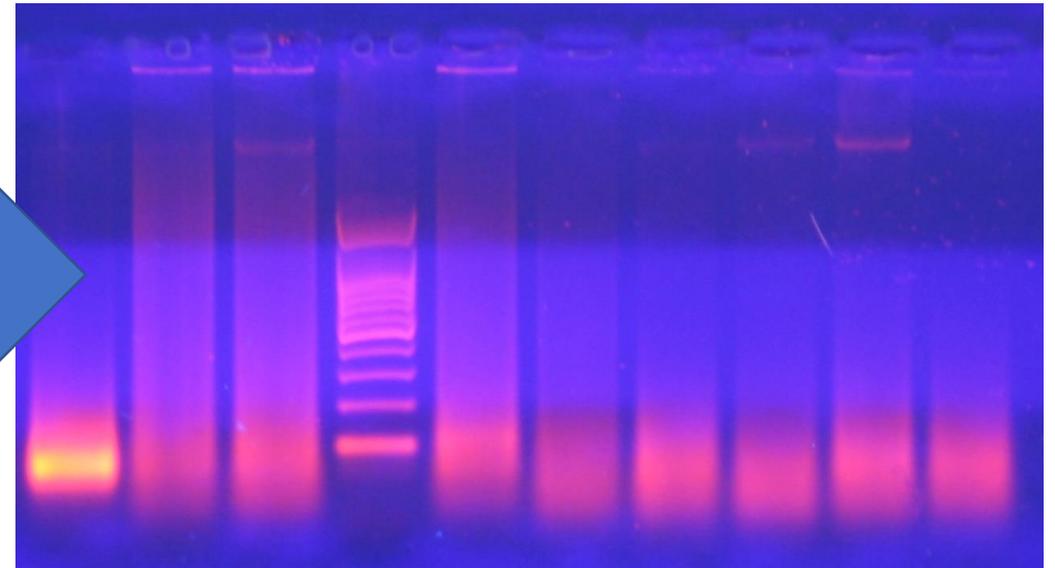
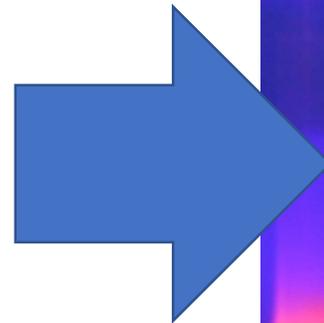


## ESTRAZIONE DEL DNA, VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ E DELLA CONCENTRAZIONE

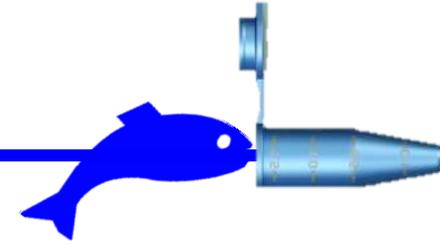
L'estrazione del DNA totale è stata effettuata per tutti i campioni partendo da 100 mg di tessuto come descritto da Armani A. et al. (2014).

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

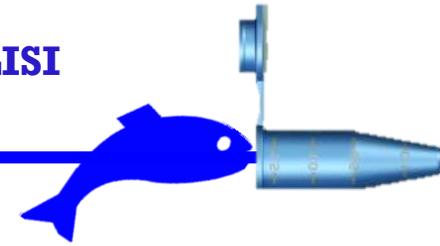


## AMPLIFICAZIONE DEL DNA E SEQUENZIAMENTO

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.

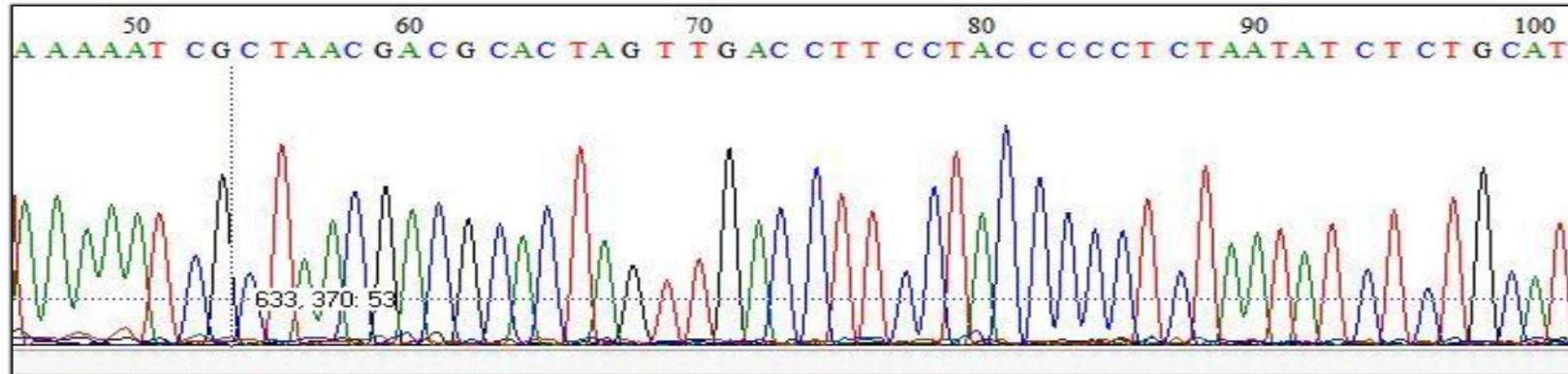
Codice dei primer	Gene target	Riferimenti bibliografici	Condizioni di ciclaggio <sup>a</sup> (40 cicli) Temperatura/tempo (s.)	Sequenza dei primer (5'-3')	PL (bp)	AL con e senza primer	
FISHCOILBC <sub>ts</sub> <sup>b</sup>	COI	Handy S.M. <i>et al.</i> , 2011	94°C / 30	<b>CACGACGTTGTA</b> AAACGACTCAACYAATCAYAAAAGATATYGGCAC	45(27)	705/655	
FISHCOIHBC <sub>ts</sub> <sup>b</sup>			53°C / 30	<b>GGATAACAATTT</b> CACACAGGACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA	43(23)		
COIFALT			72°C / 35	ACAAATCAYAARGAYATYGG	20		
COIRALT		Mikkelsen P.M. <i>et al.</i> , 2006	94°C / 30	TTCAGGRTGNCCRAARAAYCA	21	698/650	
LCO1490		Folmer O. <i>et al.</i> , 1994	47°C / 30	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	25	710/659	
HCO2198			72°C / 30	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	26		
REVshort1 <sup>b</sup>			94°C / 30	<b>GGATAACAATTT</b> CACACAGGGGYATNACTATRAAGAAAATTATTAC	46(26)		192/139 <sup>c</sup>
16sar-L			72°C / 10	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	20		
16sbr-H		Palumbi S.R., 1996	57.5 °C / 15	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	22	≈630/588 <sup>d</sup>	
FOR16S-2			72 °C / 2	CTTMGGTTGGGGCGACC	17		
REV16S-2	94°C / 30		CTGTTATCCCTAGGGTAACT	20	≈152 /117 <sup>d</sup>		
PEPCK for2	PEPCK	Tsang L.M. <i>et al.</i> , 2008	53°C / 20	GCAAGACCAACCTGGCCATGATGAC	25	644/598	
PEPCK rev3			72°C / 20	CGGGYCTCCATGCTSAGCCARTG	23		
			94°C / 30				
			59°C / 30				
			72°C / 35				

# MATERIALI E METODI – AMPLIFICAZIONE SEQUENZIAMENTO E ANALISI DELLE SEQUENZE



CORSA ELETTROFORETICA

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



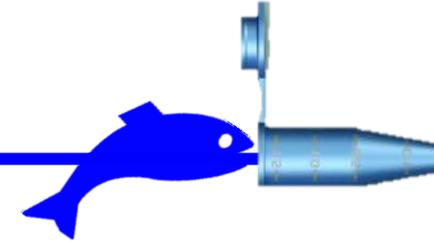
**BOLD**

**GeneBANK**

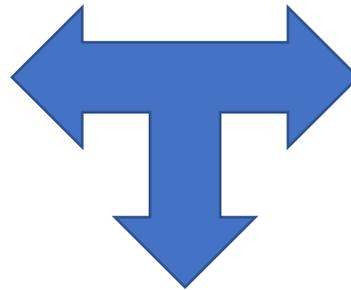


<b>COI</b>	<b>&gt;98%</b>
<b>PEPCK</b>	<b>&gt;99%</b>
<b>16S rRNA</b>	<b>&gt;99%</b>

# 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](#)

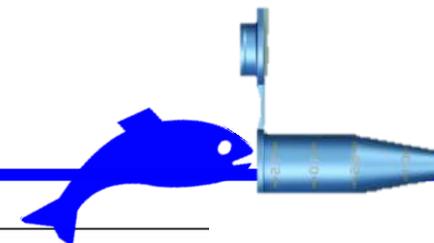
INDIVIDUARE  
EVENTUALI  
SOSTITUZIONI DI  
SPECIE

**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 FISHING PLANT	1000 1000	**17850KGS (WITHOUT GLAZE)

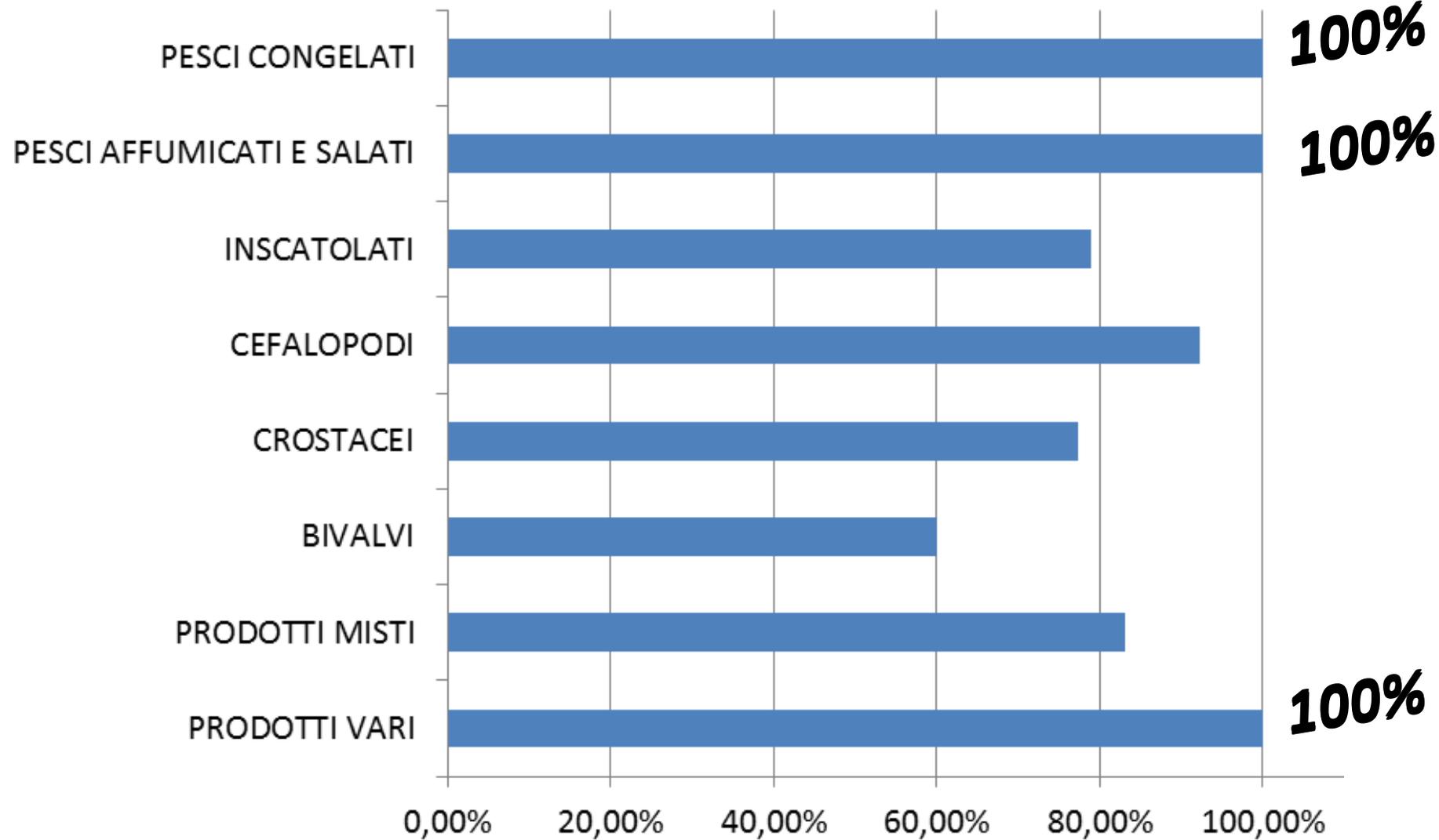
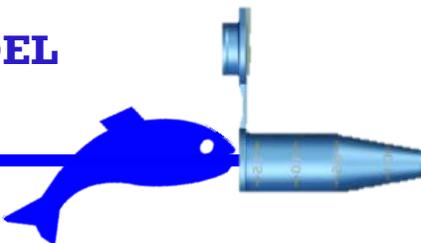


# RISULTATI E DISCUSSIONI – CAMPIONAMENTO DEI PRODOTTI



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



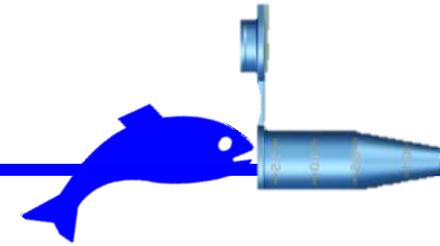
# RISULTATI E DISCUSSIONI – CONFRONTO DEI RISULTATI MOLECOLARI CON IL NOME SCIENTIFICO RIPORTATO SUL CERTIFICATO SANITARIO: VALUTAZIONE DEL LIVELLO DI MISLABELING



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

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

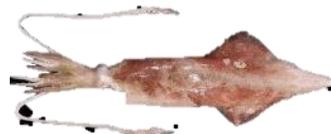
# RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MISLABELING



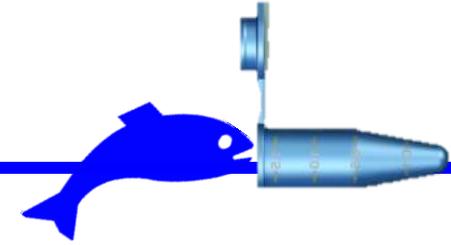
## INTRA-GENERE SOSTITUZIONI PROBABILMENTE INVOLONTARIE O CASUALI

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>



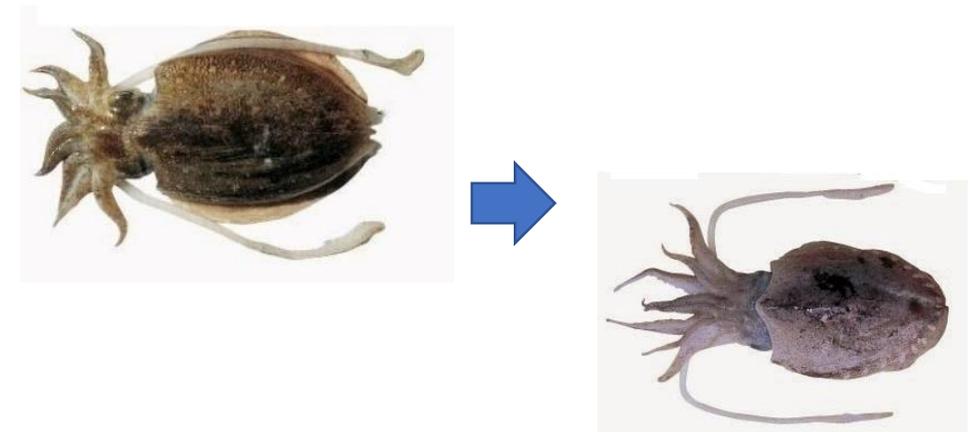
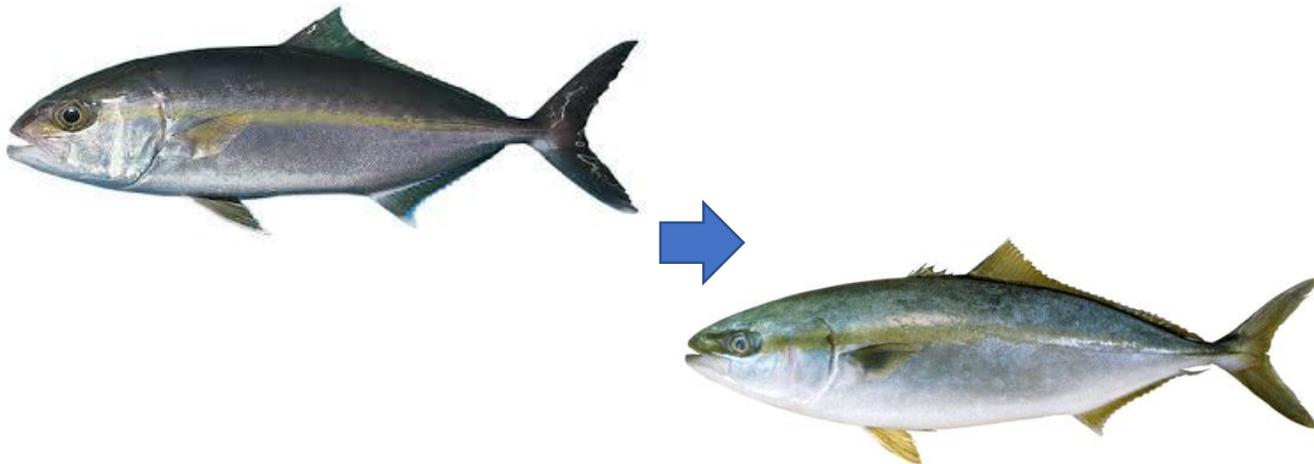
# RISULTATI E DISCUSSIONI – ANALISI MISLABELING



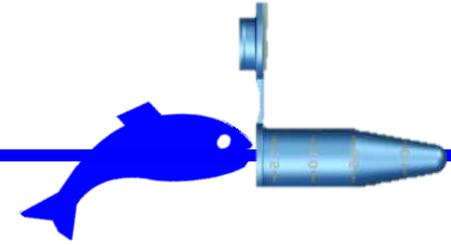
## INTRA-GENERE

### 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

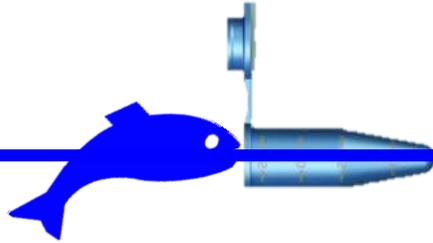


## PERCENTUALI DI MISLABELING:

- 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

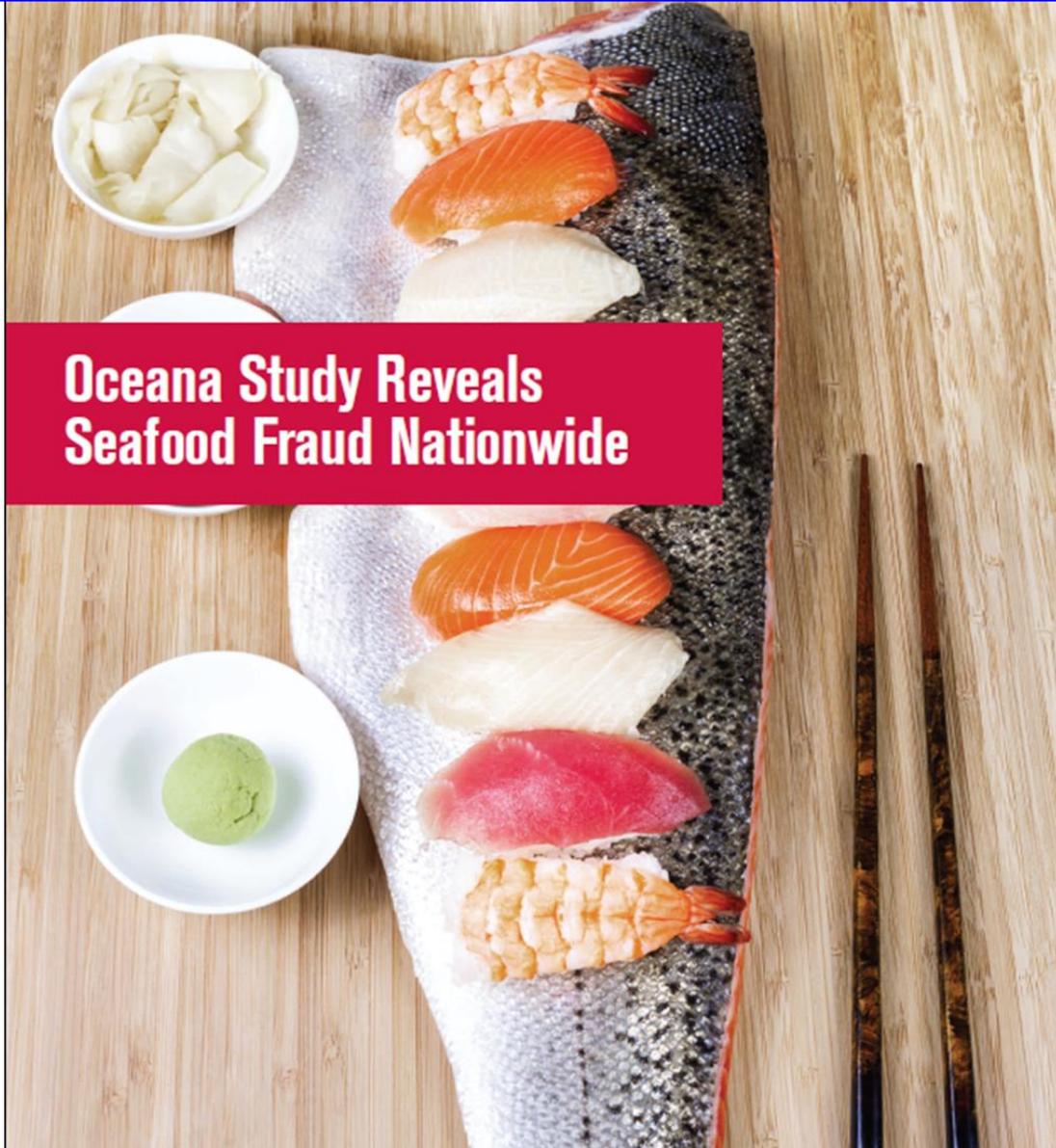


## EUROPEO



## 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**

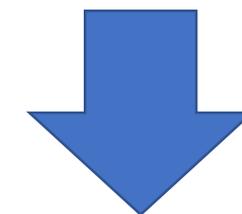
**55 paesi**

**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)



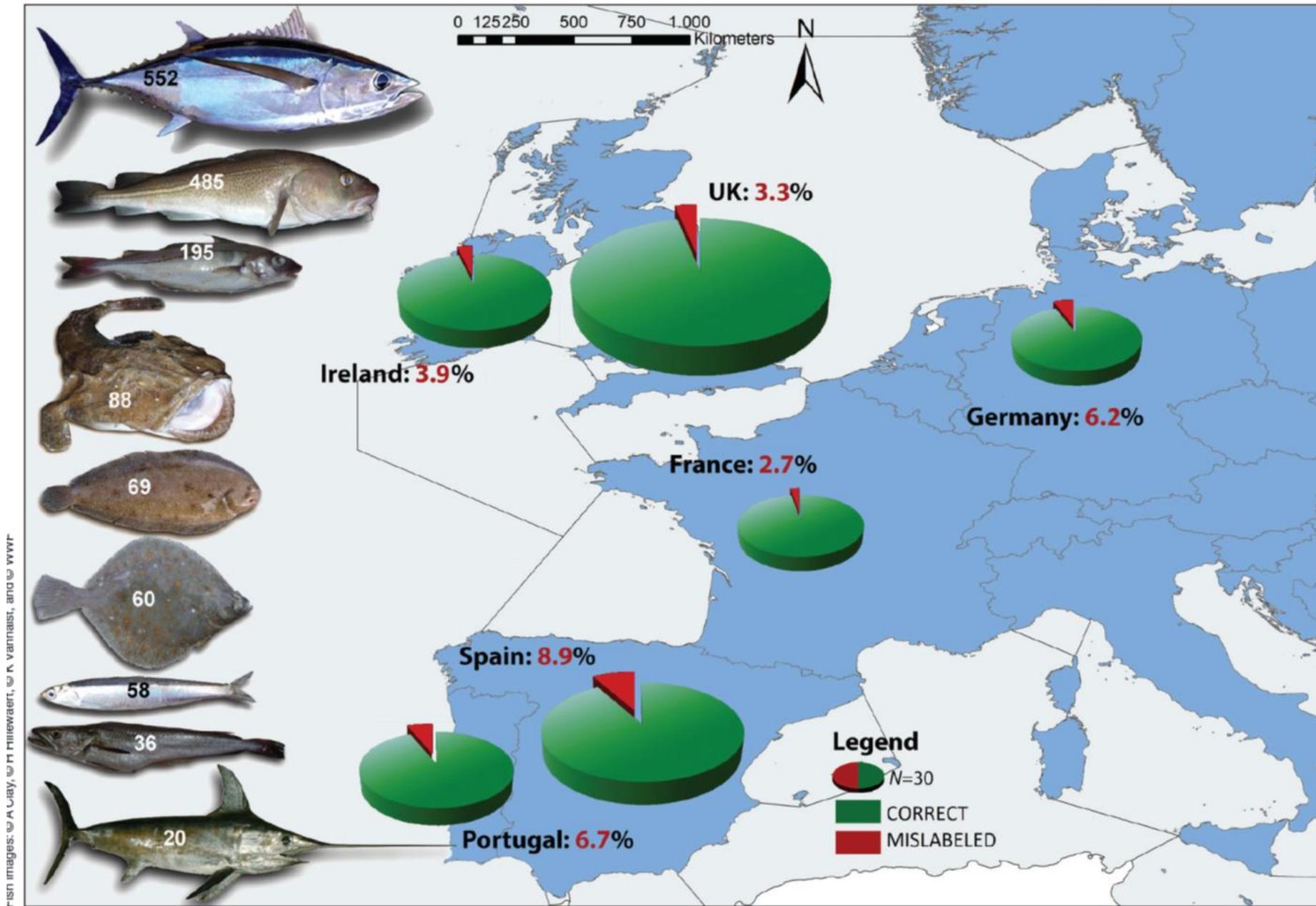
**1563 campioni**  
**INGHILTERRA**  
**SPAGNA**  
**IRLANDA**  
**PORTOGALLO**  
**FRANCIA**  
**GERMANIA**

RESEARCH COMMUNICATIONS RESEARCH COMMUNICATIONS

# Low mislabeling rates indicate marked improvements in European seafood market operations

Stefano Mariani<sup>1\*</sup>, Andrew M Griffiths<sup>1</sup>, Amaya Velasco<sup>2</sup>, Kristina Kappel<sup>3</sup>, Marc Jérôme<sup>4</sup>, Ricardo I Perez-Martin<sup>2</sup>, Ute Schröder<sup>3</sup>, Veronique Verrez-Bagnis<sup>4</sup>, Helena Silva<sup>5</sup>, Sara G Vandamme<sup>1</sup>, Belgees Boufana<sup>1</sup>, Rogerio Mendes<sup>5</sup>, Marc Shorten<sup>6</sup>, Cat Smith<sup>6</sup>, Elizabeth Hankard<sup>1</sup>, Samantha A Hook<sup>1</sup>, Alice S Weymer<sup>1</sup>, Daryl Gunning<sup>6</sup>, and Carmen G Sotelo<sup>2</sup>

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%	<b>3906</b>	<b>232</b>	<b>6%</b>

Note: NC = non-compliant results

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



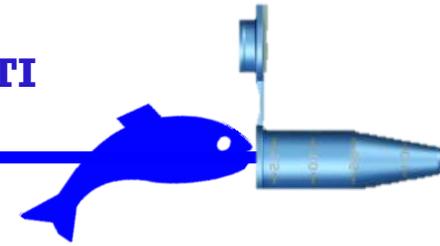
	BIP	market or trader	cold store	processing establishments	retail	mass caterer	Total
Samples tested	135	605	316	617	1762	471	3906
% of samples	3%	15%	8%	16%	45%	12%	100%
NC	<b>9</b>	<b>16</b>	<b>14</b>	<b>27</b>	<b>129</b>	<b>37</b>	<b>232</b>
% NC	<b>7%</b>	<b>3%</b>	<b>4%</b>	<b>4%</b>	<b>7%</b>	<b>8%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

Note: NC = non-compliant results

## WHITE FISH SPECIES

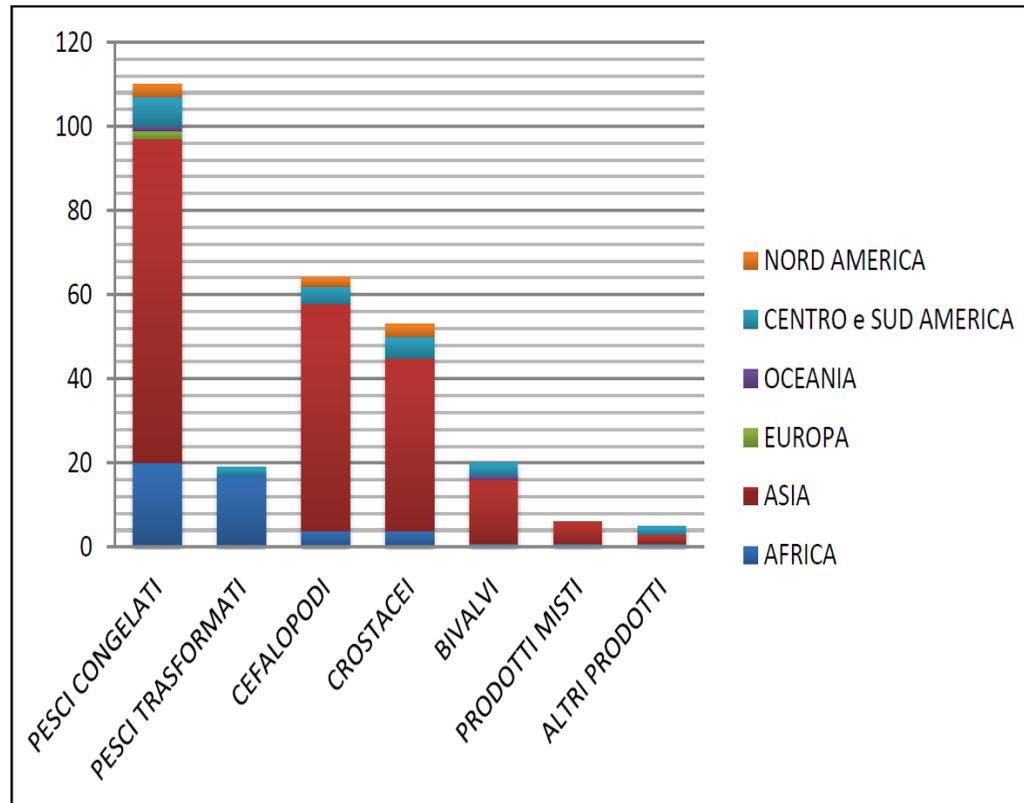
Categoria	% NC
Cernie	31%
Sogliola	24%
Scorfani	12%
Merluzzi	11%
Rana pescatrice	8%

# RISULTATI E DISCUSSIONI – MISLABELING e ORIGINE DEI PRODOTTI



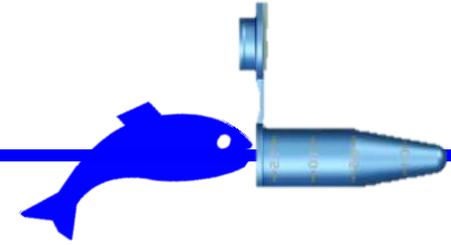
La maggior parte dei prodotti analizzati ➔ provenienza ASIA

## Cina, Vietnam e Thailandia



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

# CONCLUSIONI



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

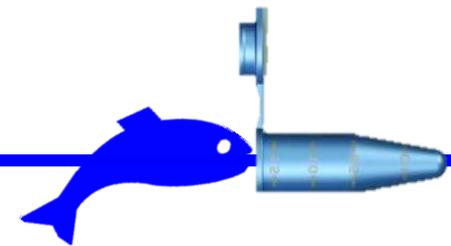
Le % più elevate si riscontrano nei prodotti preparati

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**