

## **FONDO DI PEREQUAZIONE 2002**

***Camera di commercio di Torino***

*In collaborazione con CO.AL.VI.(Consorzio  
di Tutela della Razza Bovina Piemontese)  
Laboratorio della Camera di Commercio*

**“CARATTERIZZAZIONE E TUTELA DELLE PRODUZIONI ZOOTECNICHE DI  
QUALITA’: LA TRACCIABILITA’ DI FILIERA GARANTITA DALL’ANALISI DEL DNA  
A COSTI SOSTENIBILI”.**

## **FINALITÀ e OBIETTIVI del PROGETTO**

Le produzioni zootecniche di qualità sono da sempre un vanto del Piemonte: innumerevoli sono i prodotti di indiscussa eccellenza.

Tali produzioni sono già adeguatamente valorizzate in termini di immagine ed è crescente l'interesse dei consumatori nei confronti di questi prodotti di qualità, ottenuti con tecniche di allevamento e di produzione che rispettano i valori della tradizione.

La valorizzazione e la tutela di tali realtà sono strettamente collegate alla possibilità di tracciare i prodotti, affinché si possano dare informazioni al consumatore in merito all'origine di ciò che ha acquistato e sia possibile evitare che vengano immessi sul mercato con un definito marchio o denominazione (costato anni di lavoro, serietà e rigore) prodotti che nulla hanno a che fare con l'"originale".

La tracciabilità delle produzioni è realizzata utilizzando moderni mezzi informatici e le informazioni relative ai prodotti sono riportate su documenti, schede, timbri, tatuaggi ed etichette che accompagnano il prodotto sino al punto vendita.

Tali sistemi hanno tuttavia bisogno di una verifica e di una validazione: in altre parole è necessaria una prova inconfutabile che ciò che è dichiarato su documenti ed etichette sia "la verità". A tale scopo è possibile ricorrere alla consultazione di un codice che è riportato "nel" prodotto e non "sul" prodotto, un codice assolutamente non modificabile e specifico per ciascun individuo: il codice genetico, decifrabile con l'analisi del DNA.

Grazie a un progetto finanziato da Unioncamere Piemonte e realizzato dal Laboratorio Chimico della Camera di Commercio di Torino (LCCIAA) in collaborazione con l'Associazione Provinciale Allevatori di Torino (APA), è stato possibile mettere a disposizione di tutti gli operatori della filiera carne bovina un sistema che consente di verificare l'origine della carne in qualsiasi punto della filiera.

Il presente progetto ha coinvolto il CO.AL.VI, organizzazione di assoluta eccellenza a livello regionale e nazionale; tale consorzio, con numerose verifiche relative all'alimentazione ed al benessere degli animali, già garantisce un prodotto sano e di qualità.

Nell'ambito del presente progetto è stata prevista una estesa applicazione dello strumento "analisi DNA" ad allevamenti e punti vendita facenti parte del consorzio, siti nella provincia di Torino, allo scopo di valorizzare e tutelare al meglio le carni di razza Piemontese prodotte nella provincia stessa.

Sono stati inoltre effettuati alcuni controlli relativi ad aspetti ancora non pienamente indagati, come, ad esempio, la presenza di OGM nei mangimi: tali verifiche sono finalizzate sia alla tutela

degli allevatori nei confronti di contaminazioni accidentali che potrebbero causare seri problemi dal punto giudiziario, sia alla salvaguardia dei consumatori.

## **ARTICOLAZIONE DEL PROGETTO**

1 - Progettazione: definizione degli allevamenti e dei punti vendita in cui effettuare i prelievi.

2 - Fase operativa:

- Registrazione e conservazione di 1600 campioni di pelo, prelevati da CO.AL.VI in allevamenti del consorzio siti nella provincia di Torino;
- 90 verifiche della tracciabilità (confronto pelo/carne) in punti vendita della provincia stessa (prelievi a cura di CO.AL.VI).

3 - Analisi ed elaborazione dei risultati.

## **REALIZZAZIONE DEL PROGETTO**

### **Raccolta del materiale biologico di confronto (1600 campioni di pelo) da parte del CO.AL.VI e identificazione dei campioni mediante bar code.**

Ogni prelievo è stato eseguito nel rispetto delle istruzioni predisposte nell'ambito del sistema certificato.

Al momento del prelievo i campioni sono stati identificati con la matricola dell'animale integrata con ulteriori dati sintetici, quali il codice univoco di stalla, il sesso, la data di nascita (mese/anno) e la razza.

I dati identificativi sono stati tradotti in codice a barre (code 128), stampati su due etichette applicate sulla confezione di ogni campione. La stampa in codice a barre, prevista dal sistema, è stata adottata con lo scopo di velocizzare l'acquisizione dei dati a valle e, soprattutto, di evitare errori di trascrizione, limitando alla sola sessione di prelievo il rischio di una lettura (e di una conseguente trascrizione) errata.

I campioni di pelo degli animali censiti nella sperimentazione sono stati consegnati dal CO.AL.VI. al Laboratorio Chimico CCIAA TO. Tutti i dati relativi ai campioni di pelo (numero di matricola dell'animale, sesso, razza, data di nascita e codice dell'allevamento) sono stati inseriti nel database della "Banca del DNA bovino" mediante scansione con lettore di bar code delle etichette apposte su ciascun campione. Il sistema informatico ha assegnato automaticamente numeri progressivi interni univoci.

I campioni sono stati quindi conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## **Verifica dei sistemi di tracciabilità utilizzati dal CO.AL.VI.: prelievo ed analisi di 90 campioni di carne**

Nel periodo settembre – dicembre 2004 il CO.AL.VI ha prelevato i 90 campioni di carne per la verifica dei sistemi di tracciabilità.

Le verifiche sono state condotte in 15 luoghi tra **punti vendita (macellerie e grande distribuzione) e laboratori di sezionamento.**

I campioni di carne, sigillati ed identificati con la matricola dell'animale, il punto vendita e la data di prelievo, sono stati consegnati dal Consorzio al LCCIAA per la verifica della corrispondenza con il campione di pelo, precedentemente prelevato ed archiviato nella "Banca del DNA bovino".

All'arrivo in LCCIAA, una volta verificata la presenza delle matricole dei bovini nella banca del DNA, si è proceduto alla registrazione dei campioni ed alla associazione degli stessi con i campioni di riferimento.

In merito alle modalità di gestione della banca del DNA bovino e di accettazione e registrazione dei campioni sono state seguite le apposite procedure certificate.

I campioni sono stati sottoposti a **caratterizzazione genetica**, mediante determinazione del polimorfismo allelico di 11 **microsatelliti** del DNA bovino, al fine di accertare l'uguaglianza tra il campione di carne e il corrispondente campione di pelo e quindi dimostrare la correttezza della dichiarazione effettuata dal punto vendita.

In merito ad alcuni dettagli tecnici dell'analisi eseguita, i microsatelliti sono regioni non codificanti presenti nei cromosomi, costituite da un numero variabile di unità mono-, di-, tri- o tetra-nucleotidiche ripetute (ad es. AAAAAA; CACACACA; TACTACTACTACTAC; AGCTAGCTAGCTAGCTAGCT rispettivamente). Tali regioni sono caratterizzate da un notevole polimorfismo (elevato numero di alleli per ogni singolo microsatellite) e si prestano pertanto ad essere utilizzate per la caratterizzazione genetica degli individui.

Nel caso dei bovini, gli 11 microsatelliti considerati, per altro suggeriti dall'ISAG (International Society of Animal Genetics), sono: TGLA227 (cromosoma 18), BM2113 (cromosoma 2), TGLA53 (cromosoma 16), ETH10 (cromosoma 5), SPS115 (cromosoma 15), TGLA126 (cromosoma 20), TGLA122 (cromosoma 21), INRA23 (cromosoma 3), ETH3 (cromosoma 19), ETH225 (cromosoma 9) e BM1824 (cromosoma 1).

Pertanto, ai fini di verificare la provenienza o meno di due o più campioni biologici da un medesimo capo bovino (confronto pelo/carne per verificare se provengono dallo stesso capo), viene determinata la taglia (lunghezza) degli alleli dei microsatelliti prescelti (11 microsatelliti e quindi 22

alleli) e sono confrontate tra loro le lunghezze degli alleli determinate: i campioni provengono dallo stesso individuo se presentano il medesimo polimorfismo allelico per tutti i microsatelliti.

In pratica l'analisi prevede in primo luogo l'estrazione del DNA da campione (carne o bulbi piliferi) e quindi l'amplificazione mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) dei microsatelliti prescelti, utilizzando una reazione multiplex.

La determinazione della taglia degli ampliconi è eseguita mediante elettroforesi capillare, impiegando lo strumento 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

I prodotti dell'amplificazione vengono separati mediante corsa elettroforetica in un capillare in silice da 36 cm caricato con un particolare polimero di separazione (POP-4™); la "detection" si basa sulla marcatura dei frammenti di amplificazione con molecole fluorescenti di differente colore (uno dei primer impiegati nella PCR è marcato con fluorofori, che nel caso specifico sono 5FAM™, JOE™, NED™), mentre la determinazione della taglia è ottenuta aggiungendo in ogni singolo campione amplificato un opportuno marcatore di peso molecolare anch'esso marcato (fluoroforo ROX™).

Lo strumento è dotato di un laser che eccita i fluorofori utilizzati per le marcature, i quali emettono una fluorescenza ad una determinata lunghezza d'onda (colore). Lo strumento utilizza un sistema di dispersione ottica ed un detector a CCD camera per acquisire i dati.

I dati sono poi elaborati con il software Genemapper™ (Applied Biosystems).

L'affidabilità del test è molto elevata: la diversità tra due individui è sicura al 100%; l'identità è certa con un grado di probabilità ("degree of confidence") molto alto: esiste infatti solamente una probabilità su 25 miliardi che due campioni che presentano identico profilo allelico siano in realtà provenienti da individui differenti (MPR = Matching Probability of 2 unrelated individuals).

Le prove di identificazione genetica (MI 1592 rev.0 e MI1593 rev.1) eseguite dal LCCIAA sono accreditate da Sinal (Sistema Italiano di Accreditamento dei Laboratori).

## **RISULTATI**

### **Tracciabilità carni**

Nelle verifiche della corrispondenza tra i 90 campioni di carne prelevati ed i relativi campioni di riferimento (campioni di pelo depositati nella "banca del DNA bovino") sono state rilevate in totale 8 non conformità.

Per contro non sono state rilevate non conformità nell'ambito dei 40 campioni prelevati nelle macellerie.

In merito alle non conformità rilevate, l'analisi del DNA ha tuttavia consentito di individuare, per 7 degli 8 casi di non corrispondenza, il corretto campione di riferimento: le carni in realtà provenivano da animali sempre commercializzati nell'ambito dell'organizzazione stessa.

## CONCLUSIONI

I risultati ottenuti nel progetto hanno consentito di mettere in evidenza **l'estrema efficacia e l'elevata potenzialità del sistema di verifica della tracciabilità delle carni bovine mediante l'analisi del DNA** e, più in generale, le grandi potenzialità offerte dalle analisi del DNA per la gestione del settore "carne bovina".

Grazie a questa tecnologia è stato possibile avere una concreta valutazione dell'efficacia del sistema di **tracciabilità di filiera** messo a punto dal consorzio CO.AL.VI.

La sperimentazione condotta rappresenta ovviamente una applicazione limitata a pochi punti vendita e ad un numero di animali ristretto; tuttavia, in base ai risultati di corrispondenza genetica ottenuti nelle verifiche condotte sui campioni di carne analizzati, è innanzitutto da rilevare come i sistemi di tracciabilità ed etichettatura delle carni sviluppati dal Consorzio si siano rivelati molto efficaci.

In base ai risultati ottenuti nella sperimentazione condotta, è possibile quindi trarre le seguenti considerazioni conclusive:

- il sistema di verifica della tracciabilità mediante l'analisi del DNA si è rivelato affidabile ed ha mostrato tutte le sue potenzialità;
- la verifica con il DNA è risultata molto utile per integrare e verificare l'efficacia dei sistemi di tracciabilità elettronici/cartacei messi in atto dal Consorzio; tali sistemi hanno per altro mostrato una buona affidabilità;
- risulta indispensabile estendere la copertura del servizio, avere cioè tutti gli animali allevati dal consorzio in banca dati (campione di pelo prelevato da tutti gli animali), in modo da poter effettuare qualsiasi tipo di verifica in qualsiasi punto vendita o altro punto della filiera;
- la valutazione del sistema di verifica con l'analisi del DNA non può che essere decisamente positiva: è evidente come tale sistema risulti indispensabile per tracciare, caratterizzare e quindi tutelare un prodotto di qualità, di fondamentale importanza per la Regione Piemonte.