



## IEF: University, Esselunga supermarkets and Altroconsumo

The research project refers to the "VI triennial project of Fishing and Aquaculture" of the Ministry of the Agricultural and Forest Policies "Improvement of food safety, quality and information of the consumer in the seafood production process" in compliance with the Ministerial Decree 5/8/2003. The project coordinated by Prof. Camillo Secchi of the Department of Animal Pathology and Veterinary Public Health - University of Milan finds involved amongst the various partners the Department of Public Health, Comparative Pathology and Veterinary Hygiene - University of Padua, the Department of Animal Pathology, the Aquatilia Association, the University of Turin, the company Esselunga S.p.A. and the Consumers' Association Altroconsumo.

The current project is characterizing with analytical IEF the sarcoplasmic proteins of approximately 200 seafood species commonly found on the Italian market and is creating, through an appropriate computer program, an archive of the tracings obtained. The database will be used to compare IEF tracings of unknown samples with the standard tracings to obtain the identification of the belonging species of the unknown sample.

Eurofishmarket collects in an interview the motivations and the objectives of the different project partners

### Interview to the Universities

#### Which are the three Universities involved in the project?

The University of the Studies in Milan; the University of the Studies in Turin - Department of Animal Pathology and the University of Padua - Department of Public Health, Comparative Pathology and Veterinary Hygiene.

#### Who are the contact points of the single faculties?

Prof. Camillo Secchi of the University of the Studies in Milan is the scientific administrator in charge of the project and of the line of research carried out at the Animal

## LA PAROLA AI PARTECIPANTI AL PROGETTO IEF

# IEF: Università, Esselunga ed Altroconsumo

*Perché dei partners così diversi hanno scelto di unirsi e partecipare ad un progetto comune finalizzato all'identificazione delle specie ittiche lavorate in tranci e filetti*

**E'** in fase di svolgimento il progetto di ricerca afferente al VI Piano triennale della Pesca e dell'Acquacoltura" del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali "Miglioramento della sicurezza alimentare, qualità e informazione del consumatore nella filiera ittica" approvato ai sensi del D.M. 5/8/2003. Il progetto coordinato dal Prof. Camillo Secchi del Dipartimento di Patologia Animale e Sanità Pubblica Veterinaria - Università di Milano vede coinvolti tra i vari partners il Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria Università di Padova, Dipartimento di Patologia Animale, l'Associazione Aquatilia, l'Università di Torino, la ditta Esselunga S.p.a. e l'Associazione di Consumatori Altroconsumo.

Il presente progetto sta caratterizzando con IEF analitica le proteine sarcoplasmatiche di circa 200 specie ittiche presenti comunemente sul mercato Italiano e sta creando, mediante un apposito programma per computer, un archivio dei tracciati ottenuti. Il data-base verrà usato per confrontare i tracciati IEF di campioni ignoti con i tracciati degli standard in modo da ottenere l'identificazione della specie di appartenenza del campione sconosciuto. Eurofishmarket raccoglie in un' intervista le motivazioni e gli obiettivi dei vari partners del progetto.

### Intervista alle Università

**Quali sono le tre Università coinvolte nel progetto?**

L'Università degli Studi di Milano; l'Università degli Studi di Torino - Dipartimento di Patologia Animale e l'Università di Padova - Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria.

#### Chi sono i referenti delle singole facoltà considerate?

Per l'Università degli Studi di Milano il Prof. Camillo Secchi è il responsabile scientifico del progetto e della linea di ricerca svolta presso il Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria. Per l'Università degli Studi di Torino, la Prof.ssa Tiziana Civera è responsabile della linea di ricerca

svolta presso Dipartimento di Patologia Animale. Infine, per l'Università di Padova il Prof. Giaccone Valerio è responsabile della linea di ricerca svolta presso il Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria.

#### Per quali motivi è stata scelta l'Università di Milano?

Il gruppo di ricerca del Dipartimento che prenderà parte al progetto, è attivo da molti anni in progetti di ricerca relativi alla biochimica di base e applicata in specie animali di interesse veterinario. Ha recentemente applicato la metodica di isolettrofocalizzazione (IEF) all'analisi delle proteine sarcoplasmatiche estratte dal tessuto muscolare di circa 250 specie comunemente presenti sul mercato italiano ed europeo, già adottata negli USA e che si è rivelata semplice, veloce e risolutiva. Ha già crea-

**“ Per il progetto è fondamentale un partenariato eterogeneo ”**

to un primo archivio di tracciati di IEF standard di 40 specie appartenenti agli ordini dei *Pleuronectiformes* e *Gadiformes*. I tracciati sono risultati specie-specifici e questo archivio preliminare è risultato idoneo per l'identificazione di specie, di prodotti della pesca freschi, trasformati e non più riconoscibili macroscopicamente.

#### Quali compiti avrà il gruppo dell'Università di Milano?

Il Dipartimento scelto si occuperà delle fasi di reperimento di un elenco di campioni, riferiti alle specie ittiche commercializzate in Italia, e identificazione macroscopica delle specie; dello sviluppo e standardizzazione di un idoneo metodo di estrazione delle proteine sarcoplasmatiche; dell'analisi dei campioni con IEF su gel di poliacrilamide; dell'analisi dei tracciati e della costruzione di un archivio di tracciati standard.

Oltre ad essere il laboratorio di riferimento per le analisi, a cui saranno inviate, tramite internet, le immagini dei tracciati eseguite dai laboratori consociati, avrà anche il compito di conservare e gestire l'archivio dei tracciati standard.

#### Come viene risolto il problema del polimorfismo?

Lo scopo finale è quello di ottenere un solo tracciato IEF di riferimento per ogni

specie analizzata. Poiché una possibile fonte di variabilità, il polimorfismo intra-specifico appunto, non può essere a priori esclusa, per ottenere uno standard affidabile saranno analizzati il numero più alto possibile di campioni per ogni specie.

#### Mentre, per quanto riguarda l'Università di Torino?

Il Dipartimento che collaborerà nel progetto ha già lavorato sulle sequenze di alcuni geni al fine del riconoscimento di specie nell'ambito degli *Sgomberides*, che comprende specie normalmente commercializzate, trattate termicamente e conservate sott'olio. Questo gruppo di ricerca avrà il compito di mettere a

“**La ricerca applicata a beneficio dell'industria e del consumatore**”

punto una reazione di PCR specifica applicabile anche alle conserve (prodotti che hanno subito trattamento termico, che sono conservati sott'olio o che hanno subito un processo di affumicamento), dove la frammentazione del DNA impone analisi di frammenti di lunghezza inferiore a 300 bp. Con un lavoro preliminare di sequenziamento completo di due geni e allineamento delle sequenze si cercheranno le zone a variabilità inter-specifica escludendo quelle con variabilità intra-specifica. In questa fase il riconoscimento avverrà quindi mediante confronto delle intere sequenze dei due geni. Sulla base del-

Pathology Department, Hygiene and Public Veterinary Health. Prof. Tiziana Civera of the University of the Studies in Turin is responsible of the line of research carried out at the Department of Animal Pathology. Finally, Prof. Valerio Giaccone of the University of Padua is responsible of the line of research carried out at the Department of Public Health, Comparative Pathology and Veterinary Hygiene.

#### Why the University of Milan has been chosen?

The research group of the Department that will take part to the project has been actively working for many years in research projects concerning basic and applied biochemistry in animal species of veterinary interest. The group has recently applied the isoelectric focussing (IEF) method to sarcoplasmic proteins analysis extracted from the muscular tissue of approximately 250 species commonly present on the Italian and European market. This method, already adopted in the USA, resulted to be simple, fast and decisive. A first archive of IEF standard tracings of 40 species belonging to the *Pleuronectiformes* and *Gadiformes* orders has already been created. The tracings turned out to be species-specific and this preliminary archive has proved to be suitable for the identification of species, of fresh seafood products, transformed and no longer macroscopically recognizable.

#### Which tasks will the group of the University of Milan have?

The chosen Department will take care of the phases concerning finding a list of samples referred to the seafood species marketed in Italy, and macroscopic identification of the species; of the development and standardization of a suitable method of extraction of sarcoplasmic proteins; of the analysis of the samples with IEF on polyacrylamide gel; of the analysis of the tracings and the creation of standard tracings archives. In addition to being the reference laboratory for the analyses, to which the images of the tracings carried out by the partner laboratories will be sent via Internet, it will also have the task of keeping and managing the archives of the standard tracings.

#### How do you find a solution to the polymorphism problem?

The final aim is to obtain a single IEF reference tracing for each analyzed species. Since it represents a possible source of variability, the intra-specific polymorphism cannot be excluded a priori. The highest number of samples for each species will



a) Platessa *Pleuronectes platessa*



b) Passera *Plathichtys flesus flesus*

a)



b)



A confronto i tracciati isoelettroforetici di a) Platessa (*Pleuronectes platessa*) e di b) Passera (*Plathichtys flesus flesus*). I tracciati isoelettroforetici delle due specie risultano chiaramente differenti.

Comparison of isoelectro-phoretic drawings of a) Plaice (*Pleuronectes platessa*) e di b) Flounder (*Plathichtys flesus flesus*). The isoelectro-phoretic drawing of the two species result clearly different.

be analyzed to obtain a reliable standard. **And what about the University of Turin?** The Department that will collaborate to the project has already worked on the sequences of some genes to identify the species within the *Sgomeridae* family that includes species normally marketed, thermally treated and preserved in oil. This research group will be in charge of finalizing a specific PCR reaction applicable also to preserves (heat treated products, preserved in oil or smoked), where the DNA fragmentation imposes the analysis of fragments inferior to 300 bp in length. With a preliminary job of complete sequencing of two genes and the alignment of the sequences they will look for the areas with inter-specific variability by excluding those with intra-specific variability. During this phase the identification will happen by comparing the entire sequences of the two genes. On the base of the analysis of the results, primers species-specific able to originate an amplified of small dimensions will be designed.

**And finally, which role does the University of Padua hold?**

The research group at the Department of Public Health, Comparative Pathology and Veterinary Hygiene of the University of Padua will have to validate the reproducibility of the IEF method, by analyzing standard or unknown samples received from the other participants to the project. It will also carry out preliminary tests with PCR methodologies on fish samples heat treated and preserved in oil. The tests will obviously be "in the dark", meaning that the different operators will not know which species is being analyzed. The results will then be evaluated and statistically analyzed to assess the precision of the method of secure identification of the species. It is believed that the results of a correct identification will exceed 90%.

**On this subject, which is the position of the association Aquatilia?**

The Scientific Association Aquatilia, represented by Dr. Valentina Tepedino, will take care of a capillary information to all the Bodies in charge of the control (fraud prevention and repression) and to the Press Offices of the seafood field, to the Organizations of the interested categories (producers, traders, consumers' associations) on the methodical availability of a standardized and validated IEF to correctly identify and name the fish species. The association will prepare an explanatory handbook of the methodology with pictures to identify all the analyzed species, whether as

l'analisi dei risultati, saranno disegnati primers specie-specifici che danno origine ad un amplificato di piccole dimensioni.

**Infine l'Università di Padova che ruolo ricopre?**

Il gruppo di ricerca diretto dal Prof. Valerio Giaccone, Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria dell'Università di Padova dovrà validare la riproducibilità del metodo IEF, analizzando campioni standard o ignoti ricevuti dagli altri partecipanti al progetto. Effettuerà anche prove preliminari con metodologie di PCR su campioni di pesce trattati al calore e conservati sott'olio. Le prove saranno ovviamente "al buio", nel senso che i diversi operatori non saranno a conoscenza di quale specie stanno analizzando. I risultati verranno quindi valutati e analizzati statisticamente in modo da valutare la precisione del metodo nell'identificazione certa delle specie. Si pensa di ottenere risultati di identificazione esatta che superino il 90%.

**In questo contesto, che posizione occupa l'associazione Aquatilia?**

L'associazione Scientifica Aquatilia, nella figura della Dott.ssa Valentina Tepedino, ed in collaborazione con Eurofishmarket si occuperà di fornire un'informazione capillare a tutti gli Organi preposti al controllo (prevenzione e repressione frodi) e agli Organi di stampa del settore ittico, alle Organizzazioni delle categorie interessate (produttori, commercianti, associazioni dei consumatori) sulla disponibilità della metodica di IEF standardizzata e validata al fine di una corretta identificazione e denominazione delle specie ittiche. Realizzerà un manuale esplicativo della metodologia con foto identificative di tutte le specie esaminate, sia come soggetti interi sia come tranci o filetti e informazioni, relative a queste ultime, di carattere scientifico-commerciale e interverrà in convegni scientifici nazionali ed internazionali. Successivamente la divulgazione sarà ampliata ad un pubblico meno specifico e si cercherà in particolare di educare i consumatori ad un acquisto consapevole dei prodotti ittici, mediante la produzione e distribuzione di materiale informativo

e brochure divulgative in collaborazione con le reti di distribuzione e vendita al dettaglio.

**Intervista all'azienda Esselunga**  
**Che rilevanza strategica avrebbe tale strumento operativo per le strutture di controllo e gli operatori del mercato ittico nel monitoraggio della filiera produttiva, dall'ambiente acquatico fino al piatto del consumatore?**

La rilevanza strategica dell'applicazione della metodica è rilevante. Ha due aspetti fondamentali e legati tra loro. Il primo è che applicando l'analisi saranno premiati solamente gli operatori onesti e più bravi. Questo porterà finalmente ad un innalzamento dello stato qualitativo dei prodotti ittici, stoppando in maniera radicale le frodi per sostituzione molto comuni nell'ambito dei filetti che notoriamente sono privi o quasi delle caratteristiche morfologiche di riconoscimento. Secondo il consumatore finale vedrebbe garantita la sicurezza di non incappare in frodi e sarebbe educato

ad una ricerca sempre più spinta della qualità dei prodotti da consumare.

**Può essere definita come strumento di verifica di quanto**

**dichiarato nella documentazione d'accompagnamento?**

La metodica pur non essendo di immediata verifica (il tempo tecnico minimo per avere il risultato è infatti di almeno due giorni) rappresenta sicuramente uno strumento per verificare la correttezza documentale e la qualità del prodotto. Ci dà una grossa mano nel valutare la capacità di approvvigionamento e l'onestà dei nostri fornitori.

**Diventa così un buon mezzo di auto-certificazione?**

Direi che è un ottimo mezzo di auto-certificazione e un'ulteriore garanzia della nostra qualità.

**Avete intenzione di organizzare corsi di addestramento per il trasferimento del metodo a personale tecnico che si occuperà di eseguire le analisi dei campioni direttamente nei vostri laboratori?**

Questo progetto non è previsto in un immediato futuro ma non bisogna escluderlo dai piani a lungo termine.

“ **Ricerca, formazione e divulgazione dei risultati sono fondamentali** ”

**Come pensate di pubblicizzare l'adozione dell'IEF da parte della vostra azienda, a tutela del consumatore?**

Il nostro mensile denominato "News" rappresenta un potente mezzo per divulgare ai nostri clienti ciò che facciamo.

**Quali obiettivi vi proponete di raggiungere nei confronti dei consumatori?**

Rassicurare i nostri clienti della qualità dei nostri prodotti ittici, comunicando loro che quanto è scritto in etichetta corrisponde esattamente a ciò che in esse è dichiarato.

**Intervista all'associazione Altroconsumo**  
**Quale importanza ha l'utilizzo di una metodica, quale l'IEF, a garanzia dei consumatori?**

A garanzia dei consumatori è importante la messa a punto di metodi affidabili e riconosciuti che possano essere utilizzati nei controlli ufficiali. E' fondamentale che esistano riferimenti precisi in grado di aumentare la sicurezza alimentare.


**Che ruolo assume l'associazione Altroconsumo, nella divulgazione di nuove metodologie analitiche identificative?**

Altroconsumo è sempre stata attenta all'evoluzione di nuove metodologie analitiche in settori chiave per la sicurezza alimentare, utilizzandole e presentando i risultati nelle sue pubblicazioni.

**Da quali rischi si intende difendere il consumatore?**

Il rischio evidente per quanto riguarda questo progetto è quello delle frodi, ma ci preme sottolineare che Altroconsumo da sempre si impegna a tutelare il consumatore anche da altri tipi di rischi quali i rischi sanitari o la sicurezza dei prodotti.

**Quali obiettivi vi proponete di raggiungere nei confronti dei consumatori?**

L'obiettivo è duplice. Contribuire attivamente a rinforzare i programmi per la sicurezza alimentare nella filiera ittica, e contemporaneamente informare ed educare il consumatore per aiutarlo a scegliere in maniera critica e consapevole. 

Sara Raimondi Evalli

whole subjects, in slices or fillets, information of scientific-commercial nature and will take part to national and international scientific conventions. Subsequently, the disclosure will be widened to a less specific public and in particular we will attempt to educate the consumers towards a conscious purchase of seafood products thanks to the production and distribution of informative material and brochures in collaboration with the distribution networks and retails.

**Interview to Esselunga Supermarkets**

**Which strategic importance would such operating tool have for control structures and the people operating in the seafood market in monitoring the production chain, from the aquatic environment up to the consumer's plate?**

The strategic relevance of methodical application is important. It has two fundamental aspects linked together:

First, by applying the analysis, only the most honest and capable operators will be rewarded. This will finally raise the quality level of seafood products by radically blocking substitution frauds very common with fillets which are well-known for lacking (or almost) of the morphologic characteristics of identification.

Second, the final consumer would be safe from swindles and he would be educated to a search based on the quality of the products.

**Can it be defined as a verification tool of what declared in the accompanying documentation?**

The methodical system, although does not provide immediate verification (in fact, the minimal technical time to have results is least two days) surely represents a tool to verify the documents correctness and the quality of the product. It represents a big help in evaluating the ability to supply and the honesty of our suppliers

**Does it become, therefore, a means for self-declaration?**

I would say that it is an optimal means for self-declaration and an additional guarantee of our quality.

**Do you intend to organize training courses to transfer the method to the technical staff who will take care to carry out the analyses of the samples in your laboratories?**

This project is not foreseen in an immediate future but we should not exclude it from long term plans.

**How do you think you will publicize the adoption of IEF by your company to protect the consumer?**

Our monthly issue called "News" represents a powerful means to inform our customers about what we do.

**Which objectives do you intend to achieve with respect to consumers?**

Reassure our customers of the quality of our seafood products by communicating that what stated on the label truly corresponds to what they want to purchase.

**Interview to the Altroconsumo Association**

**Which is the importance in using a methodical approach, such as the IEF, as a guarantee to consumers?**

To provide a guarantee to consumers it is important to put in place reliable and recognized methods to be used during the official controls. It is fundamental that precise references exist to increase food safety.

**Which is the role of the Altroconsumo association in spreading new identifiable analytical methodologies?**

Altroconsumo has always paid attention to the evolution of new analytical methodologies in key sectors of food safety by using them and introducing the results in its publications.

**From which risks do you intend to protect the consumer?**

The obvious risk related to this project is frauds, but we would like to emphasize that Altroconsumo is always focussed on protecting the consumer even from other types of risks, such as sanitary risks or food safety.

**Which objectives do you intend to achieve with regard to consumers?**

The objective is twofold. To actively contribute to reinforce the programs for food safety along the seafood production chain and at the same time to inform and educate the consumer to help him to choose in a critical and conscious way.