



**STUDIO DI FATTIBILITA' PER LA REALIZZAZIONE DI
UN'UNITA' OPERATIVA REGIONALE PER GARANTIRE
LA TRACCIABILITA' DELLE CARNI BOVINE
ATTRAVERSO L'IDENTIFICAZIONE GENETICA**

Andrea Lombardo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

Sezione di Firenze

Via di Castelpulci, 43 - 50018 - Scandicci (FI).

Tel: +39 055 721.308

Fax: +39 055 73.11.323

e-mail: lombardo.andrea@yahoo.it

Direttore: Dott. Giovanni Brajon

SOMMARIO

1. INTRODUZIONE	6
1.1 LE TAPPE SOCIO-CULTURALI CHE HANNO CONDOTTO AL CONCETTO DI TRACCIABILITA' E RINTRACCIABILITA' DELLE CARNI.	6
1.2. LA TRACCIABILITA' ORDINARIA NEL COMPARTO ALIMENTARE: STORIA E BASI NORMATIVE	8
1.3. TRACCIABILITA' ORDINARIA NELLA FILIERA BOVINA.	13
1.3.1. Identificazione dei capi ed etichettatura delle carni in Italia	13
1.3.2. Etichettatura con codici a barra: UCC/EAN 128.....	20
1.3.3. I consorzi e la tracciabilità ordinaria nel comparto bovino in Toscana	23
1.4 TRACCIABILITA' ED IDENTIFICAZIONE ELETTRONICA DEGLI ANIMALI: I TRASPONDERS	28
1.4.1. Trasponder iniettabile	29
1.4.2. Il bolo ruminale	32
1.4.3. La marca auricolare elettronica	33
1.4.4. Progetto IDEA	33
1.4.5. Progetto OARSS: <i>"Ogni animale racconta se stesso: sistema di controllo a distanza per animali di specie diverse"</i>	35
1.5 LA TRACCIABILITA' GENETICA: PRESUPPOSTI SCIENTIFICI E APPLICAZIONI NELLE FILIERE DELLA CARNE BOVINA.....	38
1.5.1. Generalità.....	38
1.5.2. La biologia molecolare applicata alla tracciabilità: evidenze scientifiche e basi biomolecolari	40

1.5.3. Microsatelliti.....	42
1.5.4. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)	44
1.5.5. Applicazione di Microsatelliti e SNPs nella specie bovina	46
1.5.6. Le possibili matrici.....	48
1.5.7. Esperienze ed esempi applicativi di tracciabilità genetica della filiera carne bovina in Italia	53
1.6 TRACCIABILITA' GEOGRAFICA E ANALISI GENETICA	60
1.7 TRACCIABILITA' GENETICA: RIFLESSIONI SU POTENZIALI APPLICAZIONI.....	61
1.8. ALTRI SISTEMI DI TRACCIABILITA': LA TRAMA VASCOLARE RETINICA.....	62
2. OBIETTIVI DELLA RICERCA.....	63
3. MATERIALI E METODI	63
3.1. CENSIMENTO DELLE FILIERE CARNE	64
3.2. SCELTA DELLA MATRICE BIOLOGICA E CAMPIONAMENTO ANTE-MORTEM.....	65
3.3. CAMPIONAMENTO POST MORTEM: MODALITÀ DI PRELIEVO, TRASPORTO E SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA DEL CAMPIONE.....	66
3.4. ELABORAZIONE DI POSSIBILI SOLUZIONI PER LO SVOLGIMENTO DELLE ANALISI BIO- MOLECOLARI	67
3.5. SPECIFICHE TECNICHE DEL SISTEMA INFORMATIVO	67
3.6. ANALISI DEI COSTI.....	68
3.7. VALUTAZIONE DEL GRADO DI INTERESSE DELLE AZIENDE PRESENTI SUL TERRITORIO	68
3.7.1 Interviste ai consorzi	69
3.7.2. Indagine sulle aziende.....	70
4. RISULTATI	73
4.1. CENSIMENTO DELLE FILIERE CARNE	73

4.2. CAMPIONAMENTO ANTE MORTEM	82
4.2.1 Scelta della matrice biologica più idonea	82
4.2.2 Campionamento ed invio al laboratorio.....	83
4.2.3 Archivio dei campioni	84
4.3. CAMPIONAMENTO POST MORTEM	84
4.3.1 Significatività statistica	84
4.3.2 Campionamento ed invio al laboratorio.....	86
4.4 ANALISI BIOMOLECOLARI	86
4.5. SPECIFICHE DEL SISTEMA INFORMATIVO	87
4.5.1 Scenari di utilizzo	87
4.5.2 Requisiti	87
4.5.3 Strutture dati.....	90
4.6 ANALISI DEI COSTI	97
4.6.1 Analisi dei costi nell'ipotesi di 5.000 capi aderenti al progetto.....	99
4.6.2 Analisi dei costi nell'ipotesi di 10.000 capi aderenti al progetto.....	100
4.6.3 Analisi dei costi nell'ipotesi di 20.000 capi aderenti al progetto.....	100
4.7 VALUTAZIONE DEL GRADO DI INTERESSE DELLE FILIERE	102
4.7.1 Interviste ai consorzi.....	102
4.7.2 Indagine sulle aziende	103
5. DISCUSSIONE.....	105
5.1. TRACCIABILITA' DELLE CARNI BOVINE ATTRAVERSO L'IDENTIFICAZIONE GENETICA: STRUMENTO AGGIUNTIVO COGENTE O VOLONTARIO?.....	105
5.2. APPLICAZIONE DELLA TRACCIABILITA' GENETICA NELLA FILIERA CARNE TOSCANA: L'IPOTESI ORGANIZZATIVA	108

5.3 APPLICAZIONE DELLA TRACCIABILITA' GENETICA NELLA FILIERA CARNE TOSCANA:	
L'INDAGINE NEGLI OPERATORI DI FILIERA.....	109
5.4 ANALISI DEI COSTI.....	110
6. CONCLUSIONI.....	112
7. RINGRAZIAMENTI	114
8. BIBLIOGRAFIA.....	115

1. INTRODUZIONE

1.1 LE TAPPE SOCIO-CULTURALI CHE HANNO CONDOTTO AL CONCETTO DI TRACCIABILITA' E RINTRACCIABILITA' DELLE CARNI.

Negli ultimi decenni il comparto agro-alimentare ha subito una vera e propria rivoluzione, focalizzata principalmente sui sistemi di distribuzione e commercializzazione dei prodotti. Tale cambiamento è stato dettato da molti fattori, quali la globalizzazione e le condizioni di crescente competitività, l'applicazione di nuove tecnologie per la trasformazione e conservazione degli alimenti, lo sviluppo delle infrastrutture, dei mezzi di trasporto e comunicazione, l'aumento della grande distribuzione organizzata. Questi fattori hanno determinato un cambiamento nel rapporto tra venditore e consumatore. Prima esisteva una stretta relazione tra luogo di produzione e punto di vendita, tra clientela e commerciante; la spesa si faceva nei negozi di fiducia o al mercato rionale, dove venditori e produttori spesso coincidevano nella stessa persona fisica. Il consumatore, per i propri acquisti, faceva riferimento alla propria conoscenza dei prodotti locali ed alle tradizioni familiari. Al contrario, oggi i prodotti possono percorrere grandi distanze ed il rapporto diretto tra produttore e acquirente sta progressivamente scomparendo.

Dunque l'informazione sull'origine dei prodotti alimentari non si avvale più dell'esperienza personale e/o della tradizione, ma a seguito di alcuni eventi di notevole impatto mediatico, quali le crisi BSE (1990-1996), diossina (1999-2000), afta epizootica (2001), influenza aviaria e suina hanno portato a costruire un sistema di informazioni "organizzate" per i consumatori (Coltelli et al., 2004).

Inoltre, proprio a seguito delle crisi sopradette, si è registrato negli ultimi anni un trend negativo del consumo di carne pure dovuto al progressivo interesse verso prodotti dietetici (Cozzi e Ragno, 2003). Infatti, la carne prodotta oggi evidenzia perdite di gusto, aroma e tenerezza, probabilmente dovute alla ridotta marezza (Kerry e Ledward, 2002; Seideman et al., 1987).

Vi è pure da segnalare che i consumatori oggi sono più sensibili e consapevoli riguardo ai problemi ecologici; la domanda di prodotti biologici ottenuti in sistemi eco-sostenibili è in aumento (Opara e Mazaud, 2001) e la concentrazione della produzione in aree vocate rende laborioso il sistema di controllo sui processi di produzione (Ajmone-Marsan et al., 2004).

Tutte queste ragioni hanno contribuito alla realizzazione di un sistema di tracciabilità delle filiere alimentari. Nella comunità scientifica è ancora aperto il dibattito circa il miglior metodo per garantire il percorso dei prodotti; certamente un metodo efficace parte dalla corretta identificazione degli animali e deve essere al contempo efficiente, efficace ed in grado di evitare ed identificare eventuali frodi.

Sono stati implementati numerosi sistemi a riguardo: dall'identificazione tradizionale mediante marche auricolari ed etichettature, fino agli identificativi elettronici ed infine, l'identificazione genetica. Fondamentale è poi l'impatto economico per la scelta di una o dell'altra soluzione (Meuwissen et al., 2003).

1.2. LA TRACCIABILITA' ORDINARIA NEL COMPARTO ALIMENTARE: STORIA E BASI NORMATIVE

L'Unione Europea (EU) ha da sempre dedicato grande attenzione alla sicurezza alimentare, per il grande peso economico che riveste tale settore. L'EU è il più grande produttore di prodotti alimentari al mondo (Eur. Comm., 2000), con un traffico complessivo di circa 600 miliardi di Euro, e nel Trattato di Roma (1957) stabilì tra i suoi obiettivi "il raggiungimento di un alto livello di protezione sanitaria".

Prima dello scoppio del caso BSE, la legislazione per i controlli sulla sicurezza alimentare era di tipo verticale, ossia esistevano norme specifiche per ogni filiera agroalimentare; tali norme erano caratterizzate da un elevato grado di dettaglio e prevedevano un'attività di controllo sui prodotti finiti, poco improntata sull'analisi del rischio e dunque poco efficace.

Le successive modifiche sono state improntate su un approccio orizzontale, sul quale le norme delineano regole applicabili a più filiere affini, con una forte responsabilizzazione dei diversi attori che operano nelle filiere alimentari (OSA). Come risultato di questa politica sono stati pubblicati, prima, il "Libro Verde sui principi della legislazione Europea in materia alimentare" (1997) e, successivamente, il "Libro Bianco sulla sicurezza alimentare" (2000).

Il "Libro Verde" si compone di sei parti che riguardano differenti aspetti della sicurezza alimentare, quali la legislazione dei singoli stati membri e la semplificazione/ottimizzazione del quadro normativo comunitario.

Nel "Libro Bianco" vengono rese note le strategie per la riforma normativa: l'istituzione di una Autorità Alimentare Europea Autonoma (che prenderà corpo nell'EFSA), l'adozione

dell'analisi del rischio come unico strumento per la sicurezza alimentare, il principio di massima precauzione, l'informazione verso i consumatori ecc.

Inoltre, viene sancito il concetto di filiera, intesa come “l'insieme definito degli operatori, con i relativi flussi di materiali che concorrono alla produzione, distribuzione e commercializzazione di un prodotto”. E' qui che si ritrova inoltre l'idea di un sistema che consenta di seguire il percorso fatto da un prodotto alimentare durante le varie fasi della filiera, “dai campi alla tavola”. Questo percorso, a livello italiano, viene spesso identificato con due termini distinti: tracciabilità e rintracciabilità, che si riferiscono a due distinti processi; per *tracciabilità*, infatti, si intende il processo che segue un dato prodotto “da monte a valle” della filiera, e per *rintracciabilità* il processo che risale a ritroso, “da valle a monte”.

Tracciare, in altri termini, significa stabilire quali informazioni devono essere identificate per ogni anello della filiera; rintracciare significa trovare lo strumento più efficiente per ricostruire a ritroso quelle stesse informazioni.

Secondo le norme standard ISO 8402, la tracciabilità è definita come “la capacità di stabilire l'origine, la storia, l'uso e la provenienza del processo di un prodotto, facendo riferimento a documentazione scritta” (ISO, 1994), ma senza definire quali parametri debbano essere misurati.

Un sistema di tracciabilità dovrebbe essere caratterizzato dalla sua larghezza, profondità e precisione (Golan et al. 2004).

La larghezza dipende dalla quantità di informazioni registrate (es. regime alimentare, informazioni genealogiche, dettagli sui trattamenti veterinari ...); la profondità consiste in “quanto lontano” il sistema produttivo vada tracciato (es: dalla nascita in azienda fino al banco di macelleria); infine, la precisione è il grado di sicurezza con cui il sistema può

definire con precisione i movimenti di un particolare prodotto, che deve essere definito in base ad un margine di errore accettabile.

Il primo accenno al concetto di tracciabilità delle filiere agroalimentari in Italia è già presente nel DL n°189/1992, dove all'articolo 13 si prescrive che ogni prodotto debba riportare in etichetta l'indicazione del lotto o della data di produzione. In questo modo si pongono le basi per un sistema capace di rintracciare quei prodotti che possano presentare un rischio sanitario e di risalire esclusivamente all'impresa finale che ha messo in distribuzione il prodotto stesso; non consente però di risalire lungo tutta la filiera e di individuare tutti i soggetti coinvolti direttamente o indirettamente nel flusso produttivo. L'indicazione del numero di lotto non consente cioè di stabilire la causa del rischio, ma consente solo di evitare che gli effetti prodotti da una situazione di rischio si diffondano. Tracciabilità e rintracciabilità sono poi riprese dal Dlgs n° 155/1997 che all'art. 3 comma 4 impone al responsabile dell'industria agroalimentare il ritiro dal mercato dei prodotti che presentano un rischio immediato per la salute.

Nel Reg. CE 1760 del 17 luglio 2000, che riguarda la rintracciabilità delle carni bovine, si arriva alla definizione di un concetto di rintracciabilità molto elevato, che impone di fornire precise garanzie ai consumatori.

Infine nel Reg. CE 178 del 28 gennaio 2002 la tracciabilità è "la possibilità di ricostruire e seguire il percorso di un alimento, di un mangime, di un animale destinato alla produzione alimentare o di una sostanza destinata o atta ad entrare a fare parte di un alimento o di un mangime attraverso tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione". A partire dal 1 gennaio 2005 ogni operatore della filiera alimentare è obbligato a ricostruire l'intero percorso del prodotto ai diversi livelli. L'art. 18 di detto regolamento riporta quanto segue;

- al comma I, si stabilisce che i prodotti sottoposti all'obbligo della rintracciabilità sono alimenti, mangimi, materie prime agricole sia vegetali che animali, e gli ingredienti e additivi che fanno parte di un alimento o di un mangime. I soggetti obbligati sono tutti gli operatori della filiera che producono, trasformano e commercializzano i prodotti primari e quelli ottenuti successivamente.
- al comma II si stabilisce che tutti i soggetti coinvolti devono essere capaci di indicare i propri fornitori per ciascun prodotto oggetto di una fornitura. Non si richiede ad un soggetto di risalire all'origine della materia fornita, ma solo di risalire all'ultimo fornitore. In particolare, gli strumenti sono rimessi alle scelte dei soggetti obbligati che potranno adottare sistemi di archiviazione dei dati diversi e legati alla struttura aziendale. Ogni operatore, quindi, deve essere in grado di fornire ogni elemento utile a risalire al proprio fornitore.
- Il comma III impone, sempre ai soggetti obbligati, di completare la rintracciabilità di filiera fornendo i dati per individuare gli operatori, ai quali hanno consegnato anche i loro prodotti. Anche in questo caso il soggetto obbligato non è tenuto a fornire tutti i passaggi che possono comprendere le diverse fasi di trasformazione e distribuzione, ma solo quello successivo al suo, senza indicare gli strumenti per adempiere a questo obbligo.
- Il comma IV stabilisce che i prodotti devono essere opportunamente etichettati. L'etichetta è un documento ufficiale per fornire al consumatore tutte le garanzie sulla filiera. Per l'Italia il Dlgs 109/1992, in materia di etichettatura stabiliva le modalità di fornire indicazioni sulle etichette apposte alle confezioni dei prodotti agroalimentari, con particolare riguardo al lotto di produzione.

- Il comma V prescrive che qualunque disposizione applicativa riguardante il principio della rintracciabilità nei prodotti alimentari e nei mangimi è dettato a livello comunitario.

In definitiva, gli obblighi previsti dal Reg. CE n° 178/2002 non riguardano la ricostruzione all'interno dello stabilimento del percorso della materia prima, ma riguardano solo la registrazione di ogni operatore della filiera ed il movimento dei materiali. Nel 2004 sono stati promulgati i Reg. CE n° 852/2004, Reg. CE n° 853/2004, Reg. CE n° 854/2004 e Reg. CE n° 882/2004 (così detto "Pacchetto Igiene"); che hanno ripreso l'importanza del concetto di tracciabilità e del bisogno di controllo di filiera.

A livello extracomunitario, altri Paesi hanno previsto norme che regolano la materia; tra questi Canada, Australia e Nuova Zelanda hanno implementato un sistema di tracciabilità basato su marche auricolari per bovini ed etichettatura delle carni (2001). Nello stesso anno anche in Giappone, Brasile ed Argentina sono state adottate simili misure per la salvaguardia della tracciabilità nelle filiere carne. Negli Stati Uniti è stato proposto un sistema di tracciabilità, sebbene non obbligatorio (Marchant, 2002; Smith et al., 2005). Inoltre, negli ultimi anni, la discussione sulla identificazione e registrazione di organismi geneticamente modificati (OGM) tra EU e USA ha contribuito all'aumento delle garanzie di tracciabilità e di trasparenza della catena produttiva.

1.3. TRACCIABILITA' ORDINARIA NELLA FILIERA BOVINA.

1.3.1. Identificazione dei capi ed etichettatura delle carni in Italia

La rintracciabilità delle carni bovine è assicurata a livello normativo dal Reg CE n° 1760/2000, che riprende ed abroga il Reg. CE 820/1997. Tutti gli anelli della filiera sono obbligatoriamente documentati.

I capisaldi del sistema possono essere così riassunti (ARSIA, 2003):

- **Un sistema informatico per la gestione dei flussi informativi**, sottoforma di banca dati zootecnica nazionale (BDN), resa operativa dal 31 dicembre 1999, con obbligo di identificazione di tutti i capi nuovi nati a partire dal Gennaio 1998 in maniera conforme al regolamento stesso.

- **Un sistema di identificazione individuale dei bovini**, basato sulle marche auricolari, due per capo, che devono essere applicate entro venti giorni dalla nascita (Figure 1 e 2):

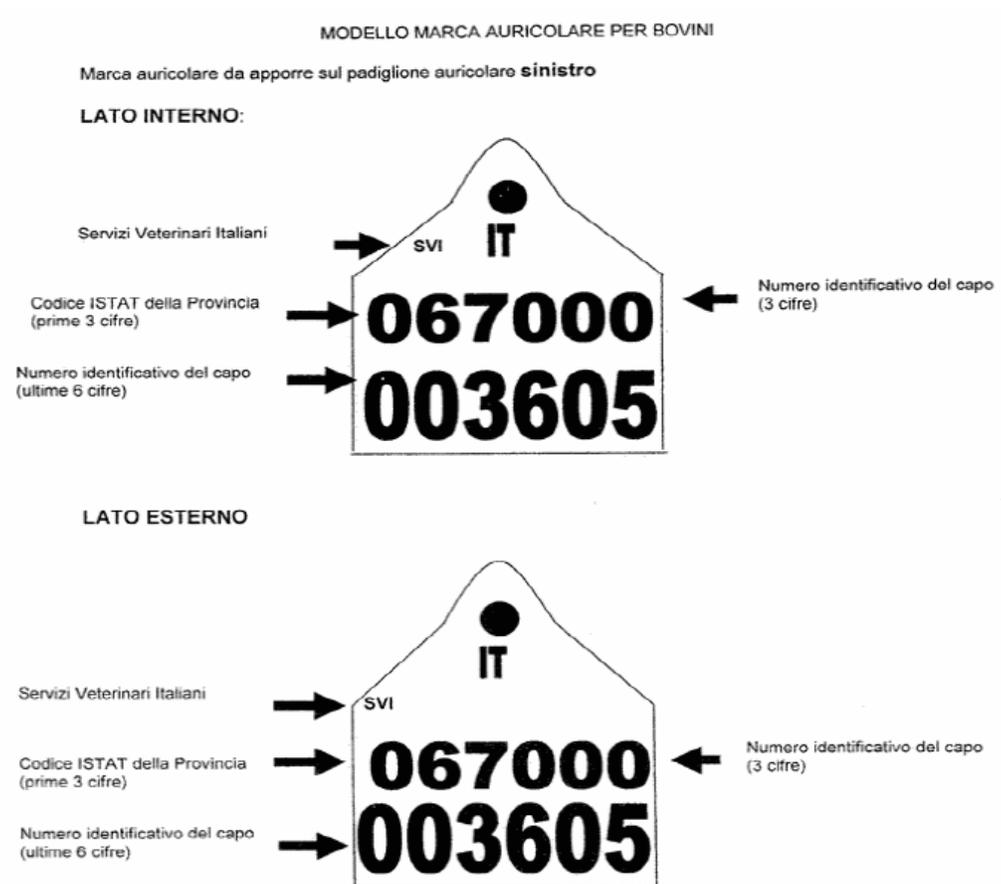


Figura 1. Marca auricolare sinistra per bovini.

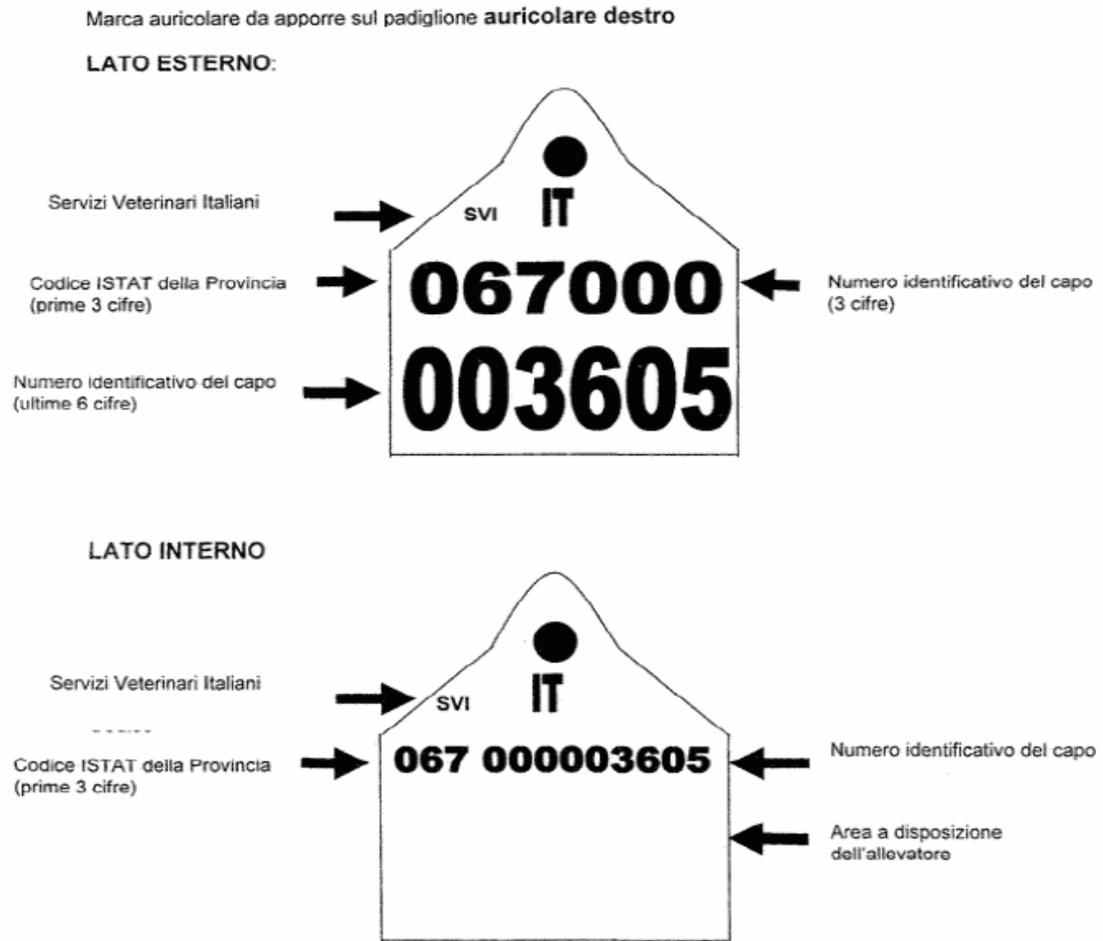


Figura 2. Marca auricolare destra per bovini

Le marche auricolari devono essere costituite da materiale plastico flessibile, progettate in modo da rimanere fissate all'orecchio dell'animale senza nuocerli e applicate tra le due vene apprezzabili sulla faccia concava del padiglione; devono essere a prova di manomissione e di facile lettura per tutta la vita dell'animale. Non devono poter essere riutilizzate. Le marche auricolari vengono acquistate dagli allevatori inoltrando una richiesta di un determinato quantitativo di codici

identificativi per animali della specie bovina, direttamente dalla Banca Dati Nazionale o tramite un operatore delegato (Aziende Sanitarie Locali, associazioni professionali o di categoria, veterinario aziendale riconosciuto ecc).

Il fornitore autorizzato delle marche auricolari, ricevuti i codici identificativi, validati dal Servizio Veterinario territorialmente competente, procede alla produzione ed alla spedizione delle marche stampate e le invia presso il luogo indicato dal richiedente. Le marche auricolari non possono essere utilizzate in allevamenti diversi da quello per il quale sono state rilasciate.

Contestualmente all'applicazione delle marche auricolari, l'allevatore deve compilare e firmare la corrispondente cedola identificativa (figura 3).

CEDOLA IDENTIFICATIVA DEL BOVINO			
<small>(da compilarsi al momento dell'apposizione del marchio all'animale e da consegnare od inviare all'indirizzo riportato sul retro)</small>			
Nuova identificazione <input checked="" type="checkbox"/>	Sostituzione <input type="checkbox"/>	CODICE A BARRE	
CODICE IDENTIFICATIVO			
	067000000100		
Codice azienda		Codice del marchio della madre	
		IT 020 AT 054 B 126	ET ⁽⁴⁾
Codice del marchio applicato in precedenza all'animale ⁽¹⁾		Sesso (MF) <input checked="" type="checkbox"/>	
Data di nascita dell'animale	11/07/1998	Data di applicazione del marchio	15/08/199
Data ingresso in stalla	10/08/1999	Nato in azienda <input type="checkbox"/>	Razza BRUNA ALPINA
Origine dell'animale:	Paesi Terzi <input checked="" type="checkbox"/>	(3) Paese di provenienza: POLONIA	
Detentore (cognome, nome):	ROSSI MARIO	Cod. fiscale:	RSSMR12S20F345
Proprietario (cognome, nome) (2):	BIANCHI CARLO	Cod. fiscale:	BNCCRL10L54423B
Dichiaro sotto la mia responsabilità che le informazioni da me riportate nel presente atto rispondono a verità:			
Data di compilazione	27/08/1999	Firma	Rossi Mario
<small>(1) Da compilare in caso di animali nati in Paesi Terzi o per sostituire marche perse nei soli casi consentiti da normative vigenti</small>			
<small>(2) Dati riferiti al proprietario, da compilarsi se diverso dal detentore</small>			
<small>(3) Indicare il Paese Terzo di provenienza</small>			
<small>(4) Barre nel caso di animale nato a seguito di trasferimento transfrontaliero</small>			

Figura 3. Cedola identificativa.

Dopo aver applicato correttamente le marche auricolari e compilato la cedola identificativa, l'allevatore deve aggiornare il registro aziendale di carico e scarico, riportando il marchi di identificazione, la razza, il sesso, il codice identificativo della madre, la data di nascita ecc. (Figura 4).

REGISTRO DI CARICO E SCARICO AZIENDALE PER BOVINI																
Allegato IV																
N° Ordine	Marchio di identificazione	Razza	Sesso (M / F)	Marchio precedente	Codice della madre	CARICO O NASCITA					SCARICO O MORTE				Data Nome firma organismo di controllo	
						Plato in azienda (inserire N) o acquistato (inserire A)	Data di nascita	Data ingresso	Provenienza (1) (3)	Estremi modello 4	Destrazione (2)	Morto in azienda (inserire M) se venduto (inserire V)	Data di morte o di vendita	Estremi modello 4 (4)		Osservazioni

Figura 4. Registro di carico-scarico aziendale.

Entro sette giorni l'allevatore invia o consegna la cedola identificativa del capo al Servizio Veterinario territorialmente competente che, dopo aver verificato la completezza delle informazioni, ne provvede alla registrazione in Banca Dati Nazionale.

Nel caso in cui l'allevatore registri direttamente in Banca Dati Nazionale le nascite dei vitelli, è obbligato ad effettuare tali operazioni entro sette giorni dall'applicazione delle marche ma non deve inviare la cedola identificativa.

Il rilascio di passaporto per tutti i nuovi nati (Figura 5):

▪ **Etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carni bovine.**

L'etichettatura delle carni comprende indicazioni obbligatorie ed altre facoltative.

Le indicazioni obbligatorie comprendono:

1. Numero o codice di riferimento (evidenzia il legame fra le carni e l'animale o il lotto di animali); l'indicazione del numero di marca auricolare del bovino o di altro codice che identifichi singolarmente l'animale non è obbligatorio, ma è previsto dai disciplinari di alcuni consorzi o marchi certificativi.
2. Numero di approvazione del macello
3. Numero di approvazione del laboratorio di sezionamento
4. Paese di nascita
5. Paese di ingrasso
6. Paese di macellazione

Le indicazioni facoltative:

7. Data di macellazione
8. Peso netto in Kg
9. Razza
10. Categoria (vitello, toro, manzo, vacca, giovenca)
11. Data di nascita
12. Età (mesi)
13. Allevamento di provenienza

14. Conformazione (percentuale carne magra presente nella carcassa: superiore, eccellente, ottima...)
15. Stato d'ingrassamento (molto scarso, medio, abbondante...)
16. Tipo d'allevamento (stabulazione fissa, brado...)
17. Tipo d'alimentazione (senza grassi animali aggiunti, non OGM...)

La tracciabilità così concepita si affida dunque a documenti cartacei e/o elettronici, che accompagnano il bovino “dalla nascita alla tavola”.

1.3.2. Etichettatura con codici a barra: UCC/EAN 128

Dato l'alto grado di complessità della filiera bovina, spesso vengono adottati standard di codifica per le registrazioni universalmente riconosciuti. Dal 1987 UN/EDIFACT (United Nations Electronic Data Interchange For Administration, Commerce & Trade), di cui fanno parte più di 50 nazioni e numerose organizzazioni internazionali (EAN international, SWIFT, IATA, la Commissione Europea, ISO) ha sviluppato raccomandazioni e standard per lo scambio di documenti elettronici tra le aziende.

L'EAN (European Article Number) /UCC (Uniform Code Council omologo per USA e Canada) ha messo a disposizione uno sistema per la codifica dei prodotti, denominato UCC/EAN-128, di cui *Indicod* cura la diffusione in Italia, per abbinare ad ogni lotto di produzione una carta d'identità elettronica in cui ogni azienda può inserire un'ampia serie di informazioni (dalla provenienza delle materie prime, al processo produttivo o al prodotto finito) destinate ad accompagnare il prodotto lungo il suo percorso e di estrema utilità in caso di ritiro di merci dal mercato.

L'informazione chiave è costituita dall "SSCC", *Serial Shipping Container Code*, numero seriale (fino a 48 caratteri alfanumerici) assegnato all'unità logistica (singoli prodotti o unità commerciali di qualsiasi composizione creato per il trasporto e/o l'immagazzinamento che deve essere gestito attraverso la filiera) in modo univoco (anche se può essere riutilizzato dodici mesi dopo lo smantellamento dell'unità logistica cui era attribuito). L'"SSCC" permette di fornire informazioni utili per l'identificazione dell'unità logistica e del suo contenuto, misure, quantità, date (produzione, imballaggio, scadenza, ecc.) e il lotto di produzione dei prodotti.

La standardizzazione della codifica offre l'opportunità di realizzare un'ampia gamma di applicazioni quali l'inoltro e il ricevimento automatizzato delle spedizioni, in modo da consentire al cliente/distributore di sapere quali caratteristiche hanno le carni che sono in arrivo prima ancora di averle ricevute e ridurre così sia i tempi di movimentazione (compresi quelli di richieste di preventivo, individuazione degli ordini, fatturazione ...) sia gli errori al momento della presa in carico dei prodotti. Per quanto ne sia consigliabile l'utilizzo, l'applicazione di tale codice non è attualmente cogente (<http://www.ean-int.org>).

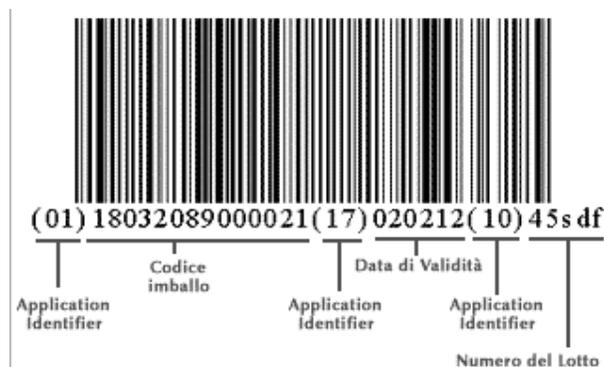


Figura 6. Esempio di tipologia di codice a barra utilizzato per l'etichettatura delle carni.

In figura 7 è schematizzato un esempio di come viene applicata la simbologia UCC/EAN-128 al comparto carne bovina:

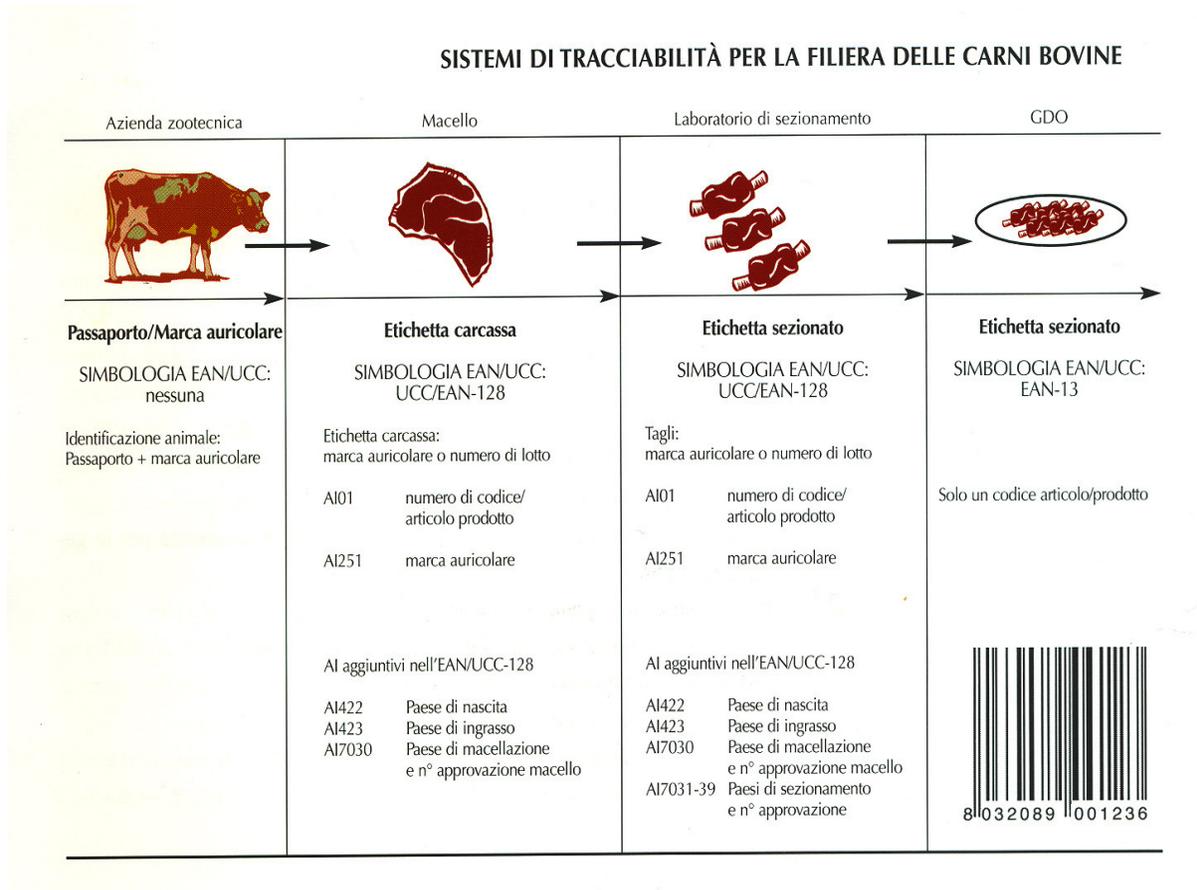


Figura 7. Simbologia UCC/EAN 128 e filiera carne bovina.

1.3.3. I consorzi e la tracciabilità ordinaria nel comparto bovino in Toscana

I maggiori consorzi di carne bovina in Toscana con le loro caratteristiche sono riassunti di seguito:

1.3.3.1. Sistema di tracciabilità Eti-AIA.



Il settore dell'Associazione Italiana Allevatori (AIA) addetto ai servizi per la Sicurezza alimentare nel corso dell'anno 2003 si è impegnato nell'azione di divulgazione del sistema di tracciabilità ed etichettatura delle carni bovine, provvedendo al miglioramento e all'aggiornamento della procedura informatica denominata *Eti AIA* che attraverso il web gestisce le informazioni e la documentazione della tracciabilità del prodotto carne lungo la filiera. Tutte le informazioni che tracciano il prodotto vengono registrate dai singoli attori della filiera attraverso l'uso di una procedura sul sito internet dell'AIA e vanno ad implementare la banca dati per la produzione dell'etichetta che accompagnerà il prodotto finito carne. Tale procedura permette:

- la rintracciabilità di ogni singolo lotto di carne
- la gestione dei trasferimenti tra gli operatori dei singoli soggetti e/o lotti di carne
- la produzione dei documenti necessari per la identificazione di ogni singolo bovino

Tra le funzioni ultimamente implementate sono da segnalare :

- Trasferimento dei dati alla Banca dati anagrafe regionale e/o nazionali
- Interrogazione diretta via internet da parte degli operatori (grande distribuzione organizzata, ristorazione, consumatore) per l'acquisizione di informazioni complete sul singolo animale presente in banca dati lungo il processo produttivo, dall'allevamento al punto vendita.

Per completare la tracciabilità della carne fino al consumatore sono stati stipulati accordi con le ditte produttrici di bilance più diffuse sul territorio nazionale: *Italiana Macchi®*, *Omega Bilance®*, *Bizerba®*, *Berkel®*. Ciascuna ditta, sulla base di indicazioni tecniche fornite dall'AIA, ha provveduto a realizzare il software per la gestione delle bilance elettroniche attraverso un sistema di lettura ottica dei codici a barre che dunque registrano carico e scarico delle quantità di carne in vendita. La bilancia produce uno scontrino/etichetta da apporre sul prodotto venduto al consumatore e riporta, oltre a tutte le informazioni di tracciabilità della carne, anche il nome del Consorzio o APA a cui appartiene l'animale e la denominazione del punto vendita.

1.3.3.2. **CCBI** (Consorzio Produttori Carne Bovina Pregiata delle Razze Italiane).



Nato nel 1982 per iniziativa di un gruppo di produttori con lo scopo di tutelare e promuovere la commercializzazione delle carni derivate dai bovini delle cinque razze italiane pregiate (Chianina, Marchigiana,

Romagnola, Maremmana e Podolica), il C.C.B.I., già chiamato "5R", è un Ente senza scopo

di lucro riconosciuto con decreto Ministeriale del 5 luglio 1984. Il Consorzio tutela la produzione degli allevatori bovini di razze pregiate italiane da carne e controlla la distribuzione attraverso macellerie convenzionate dislocate nell'Italia centro meridionale. L'etichettatura viene effettuata ai sensi del Reg. CEE 1760/2000 e consente di etichettare le carni provenienti da capi di razza Chianina, Marchigiana, Romagnola, Maremmana e Podolica nati, allevati e macellati in Italia. Il sistema di etichettatura prevede che gli animali vengano tracciati dalla nascita alla macellazione tramite una banca dati alla quale affluiscono le informazioni provenienti dal Libro Genealogico delle razze e dai rilevamenti effettuati dai tecnici del consorzio stesso. Al momento della macellazione un Ispettore incaricato dal CCBI provvede ad effettuare il controllo di identità del bovino ed alla verifica dei requisiti previsti dal disciplinare. Il capo viene dunque marchiato a fuoco con i marchi consortili e viene prodotto un supporto informatico che verrà inviato alla macelleria destinataria. Le macellerie associate sono dotate anche in questo caso di una bilancia etichettatrice che è in grado di recepire le informazioni dal supporto informatico prodotto al macello. Il processo è in sostanza analogo al precedente: la bilancia ad ogni vendita registra i quantitativi di carne in uscita e provvede all'emissione di uno scontrino contenente tutte le informazioni relative alle carni acquistate (razza, sesso, data di nascita e di macellazione, azienda di allevamento, macello, numero del documento di identità compilato dall'esperto dell'organizzazione che ha effettuato la marchiatura del capo). Una volta venduta tutta la carne, la bilancia elimina dalla sua memoria i dati del capo terminando quindi l'etichettatura. In questo modo il consumatore può accertare la provenienza delle carni acquistate. Inoltre, è stato recentemente introdotto come strumento aggiuntivo di controllo il prelievo di peli con bulbo pilifero per la formazione di

una tricoteca potenzialmente utilizzabile per la creazione di una banca genomica dei capi iscritti (com. pers.).

1.3.3.3. Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale IGP.



L'Indicazione Geografica Protetta (I.G.P.) "Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale" è riservata alle carni prodotte dall'allevamento bovino che risponde alle condizioni ed ai requisiti illustrati nell'apposito Disciplinare, ai sensi del Regolamento CE 510/2006. L'area geografica di produzione è rappresentata dal territorio delle province site lungo la dorsale appenninica dell'Italia centrale. Più precisamente la zona di produzione è rappresentata dai territori delle seguenti province: Bologna, Ravenna, Forlì, Rimini, Pesaro, Ancona, Macerata, Ascoli Piceno, Teramo, Pescara, Chieti, L'Aquila, Campobasso, Isernia, Benevento, Avellino, Frosinone, Rieti, Viterbo, Terni, Perugia, Grosseto, Siena, Arezzo, Firenze, Prato, Livorno, Pisa.

La carne di Vitellone Bianco dell'Appennino Centrale è prodotta da bovini, maschi e femmine, di pura razza Chianina, Marchigiana, Romagnola, di età compresa tra i 12 e i 24 mesi. Il bestiame deve risultare nato da allevamenti in selezione e regolarmente iscritto alla nascita al Registro Genealogico. Al pari di quanto è stato implementato da CCBI, è stato recentemente introdotto il prelievo di peli con bulbo pilifero per la formazione di una tricoteca potenzialmente utilizzabile per la creazione di una banca genomica dei capi iscritti (com. pers.).

1.3.3.4. CAF (Cooperativa Agricola di Firenzuola).



E' una società cooperativa a scopo mutualistico con sede a Firenzuola (FI). La CAF è stata fondata nel 1972 da un gruppo di allevatori del Comune di Firenzuola, nella provincia di Firenze, e consta attualmente di 130 aziende agricole associate (72 delle quali di bovini da carne di varie razze, prevalentemente Chianina e Limousine), di cui 17 biologiche. Le aziende socie sono dislocate nel Mugello, con conduzione prevalentemente familiare. Essere soci della Cooperativa ha rappresentato per molte piccole realtà la possibilità di proseguire l'allevamento del bovino da carne in queste zone. Infatti, durante la crisi "mucca pazza" molti tra i soci CAF non sarebbero sopravvissuti senza aderire alla Cooperativa, che ha presidiato il mercato ottenendo un legame molto forte con il proprio territorio di produzione. Negli ultimi anni la CAF ha assunto un peso sempre più rilevante in questa area territoriale, grazie ad un impegno costante rivolto al controllo della qualità dei propri prodotti. La cura di questo particolare aspetto lungo tutta la filiera produttiva ha portato la CAF a ricoprire un ruolo di primo piano nell'ambito della produzione di carni in tutta la provincia di Firenze e nelle reti di vendita della distribuzione alimentare locale. La commercializzazione dei prodotti CAF si avvale di differenti canali di distribuzione:

1. sei negozi CAF ubicati nel territorio di riferimento del Mugello e nella città di Firenze;
2. 15 fra negozi e piccoli supermercati convenzionati situati nel Mugello e nell'area fiorentina;
3. la Grande Distribuzione Organizzata: ESSELUNGA®.

1.3.3.5. Carne Bovina di Pisa.



Il Marchio collettivo “Carne Bovina di Pisa” è stato istituito dalla Associazione Provinciale Allevatori (A.P.A.) di Pisa in collaborazione con le Organizzazioni Professionali Agricole (Coldiretti, CIA, Unione Agricoltori) di Pisa, l’Azienda Sanitaria Locale n. 5, l’Università di Pisa ed il sostegno finanziario della Provincia di Pisa. Il marchio è stato istituito con il duplice scopo di promuovere la produzione locale e creare un percorso a tutela della genuinità e salubrità del prodotto finale. Vi aderiscono 21 allevatori, 3 mattatoi, 1 macelleria, 1 mensa comunale e 3 supermercati. La carne che arreca il marchio deve provenire da bovini, sia maschi che femmine, nati in Italia e allevati per almeno 6 mesi in aziende zootecniche della provincia di Pisa, di età compresa tra i 14 ed i 22 mesi, appartenenti alle razze da carne e loro incroci, alimentati con foraggi e concentrati OGM-free. Per le cure del bestiame sono privilegiate le tecniche di fitoterapia, omeopatia, isoterapia e medicina naturale. La carne, così prodotta, viene venduta presso le macellerie o altri punti vendita, che aderiscono al progetto, grazie alla esposizione di un’apposita modulistica.

1.4 TRACCIABILITA’ ED IDENTIFICAZIONE ELETTRONICA DEGLI ANIMALI: I TRASPONDERS

Data la potenziale possibilità di manomissione o smarrimento delle marche auricolari, la ricerca scientifica ha rivolto la sua attenzione verso nuovi sistemi di identificazione. Al pari di quanto viene effettuato per i cavalli o per gli animali da compagnia, l’identificazione dei capi zootecnici può essere attuata mediante dispositivi elettronici. Si ricorre infatti ad un

sistema di acquisizione dati ed identificazione automatica, la Radio Frequency Identification (RFID). (www.uniteam.it/rfid.asp; www.uniteam.it/mediareport_izs.asp).

I sistemi RFID sono composti da due elementi (www.uniteam.it/mediareport_izs.asp):

- il transponder o TAG (chip con antenna).

I transponder possono essere :

- di sola lettura (*read only*)
 - di una scrittura e molte letture (*write once/read many (WORM)*)
 - di lettura e scrittura multiple (*read/write*)"
- il lettore (RFID reader) che può essere:
 - di sola lettura (*read only*)
 - di lettura/scrittura (*read/write*).

I TAG vengono fisicamente inseriti nell'animale da identificare, in diverse sedi anatomiche. Ogni volta che si trovano in prossimità di un terminale RFID il segnale viene captato e i capi vengono riconosciuti, permettendo di risalire a tutte le informazioni relative all'animale a cui sono "accoppiati" (www.uniteam.it/rfid.asp).

1.4.1. Trasponder iniettabile

Il transponder iniettabile è un sistema di riconoscimento che prevede il collocamento del dispositivo identificativo nel sottocute dell'animale. E' il sistema più usato per l'identificazione di equini e cani. In genere i transponders iniettabili sono passivi (*Passive Injected Trasponder - PIT*) cioè traggono l'energia per il loro funzionamento da un campo

esterno (generato dal lettore). Nei bovini sono usati PIT di diverse dimensioni (23 e 32 mm) che vengono iniettati in tre possibili siti: fossa ascellare, padiglione auricolare e labbro superiore (Conill et al. 2000; Luini et al. 1996; Lambooij et al.1999).

Lo stato di salute e la produttività degli animali non vengono modificati dall'applicazione dei transponder; le complicazioni sono poco frequenti (meno del 4% dei bovini sottoposti a impianto) e consistono solamente nel sanguinamento locale dopo l'applicazione (soprattutto nell'orecchio), nella perforazione durante l'applicazione nel labbro e piccole infezioni ascessuali localizzate.

In questi casi gli animali possono essere iniettati nuovamente dopo una settimana, anche nello stesso sito; i rigetti e le rotture del transponder costituiscono eventi praticamente aneddotici.

La percentuale di leggibilità dei PIT diminuisce con il tempo nel labbro e nell'orecchio, ma non nell'ascella. La percentuale delle perdite non sembra influenzata dalla manualità dell'operatore e questo dimostrerebbe che la metodologia di identificazione elettronica è di facile utilizzo anche per il personale non specializzato.

L'efficienza della lettura dinamica varia in base al sito di applicazione: elevata per l'ascella, media per l'orecchio, bassa per il labbro.

In tutte le localizzazioni, l'efficienza di lettura è maggiore con PIT di 32 mm che con PIT di 23 mm. Non sono state riscontrate lesioni macroscopiche della carcassa in corrispondenza dell'applicazione del transponder nell'ascella, né lesioni della testa nell'applicazione nel labbro e nell'orecchio. I risultati ottenuti in allevamento, con transponder di 32 mm applicati nella regione ascellare, sembrano suggerire questa regione come la migliore per l'identificazione elettronica nei bovini da carne, nonostante il limite rappresentato dai maggiori tempi di recupero al mattatoio (Conill et al. 2000).

Anche Caja indica l'ascella come il posto d'elezione per l'applicazione dei transponder, mentre per Klindtworth è migliore il padiglione auricolare, sebbene la procedura di applicazione in quest'ultimo caso sia più lunga, quindi sconsigliata per grandi allevamenti (Caja et al. 1998; Klindtworth et al. 1999; Stanford et al 2001).

Il recupero dei PIT appare più semplice nelle carcasse macellate da poche ore che in quelle ormai "fredde". In tutti i casi il recupero viene consigliato fuori dalla catena di macellazione (negli impianti di eviscerazione, dovendo operare sull'orecchio ed il labbro), ed alla fine della macellazione per l'ascella (www.uniteam.it/mediareport_izs.asp).

Quindi, i vantaggi e svantaggi di questa tecnologia applicata alla filiera carne bovina sono così schematizzabili (www.uniteam.it/mediareport_izs.asp):

Vantaggi:

- Migliore trasferimento dei dati dall'allevamento ad un database (Fallon 2001).
- Assenza di errori legati alla trascrizione manuale dei dati (Fallon 2001).
- Facilità di applicazione in animali giovani o di piccola taglia (Caja et al. 1998).
- Possibilità di identificare animale vivo e carcassa (Caja et al. 1998).

Svantaggi:

- Possibilità di rottura, perdita e guasti dei transponder (Stanford et al. 2001).
- Migrazione dei transponder dal luogo d'applicazione (Stanford et al. 2001), con possibilità di rinvenimento del dispositivo nel prodotto finale.

1.4.2. Il bolo ruminale

Il bolo ruminale è un dispositivo costituito da una capsula di materiale non poroso biocompatibile (derivati e composti della ceramica) che alloggia al suo interno un microchip. Il bolo viene fatto ingerire dall'animale in modo da farlo pervenire nel reticolo, dove rimane per tutta la vita. Nel suo studio, Fallon analizza i diversi materiali con cui possono essere realizzati i boli ruminali e confronta l'applicazione del TAG nel bolo ruminale rispetto a quella nella marca auricolare. Sono oggi in commercio boli ruminali in ceramica (in cui il transponder è inserito all'interno di un cilindro di ceramica), boli ruminali "monolitici" (composti di materiale termoplastico) o boli in guaina di acciaio (Fallon 2001). Nei bovini da carne lo stress, causato dalla presenza del bolo, risulta minimo (Stanford et al. 2001), anche se recenti pubblicazioni sottolineano (in particolar modo nei piccoli ruminanti) alcuni inconvenienti in sede laringo esofagea, dovuti per lo più ad errori applicativi (Botta et al., 2008). Nei vitelli di una settimana, il bolo non sembra influenzare l'accrescimento e l'allattamento (McAllister et al. 1998; Stanford et al. 2001). L'introduzione di corpi estranei (magneti, sostanze rilasciate dal bolo) nel rumine di bovini o pecore non determina apprezzabili alterazioni delle funzionalità degli animali (Garin et al. 2003). La perdita del bolo attraverso il rigurgito avrebbe una incidenza del 46% nei bovini (Hasker et al. 1996; Stanford et al. 2001) che viene limitata da modificazioni nella forma e nel peso del bolo (Caja et al. 1999). Guasti del bolo hanno una incidenza che oscilla fra lo 0% ed il 7% (Caja et al. 1998 citato da Stanford et al. 2001 e Lambooi et al. 1999).



Figura 8. Bolo ruminale (www.allevatorionline.com)

1.4.3. La marca auricolare elettronica

La marca auricolare elettronica costituisce una potenziale alternativa ai metodi sopra descritti; è stata oggetto di sperimentazione in molte specie zootecniche, con incoraggianti risultati soprattutto nella filiera suina (Marchi et al., 2007). L'inconveniente maggiore rimane il rischio di perdita delle marche da parte degli animali.

1.4.4. Progetto IDEA

Un progetto internazionale denominato IDEA (IDentification Électronique des Animaux) (Ribò et al., 2001) si prefigge come obiettivo quello di valutare le potenzialità applicative dei tre sistemi di identificazione elettronica. Il progetto ha visto coinvolti sei paesi della comunità europea (Francia, Germania, Italia, Paesi Bassi, Portogallo e Spagna). Obiettivo principale è stato quello di valutare le performance del sistema di identificazione elettronica del bestiame. In questo progetto le caratteristiche del transponder hanno permesso, per motivi di sicurezza, solo la lettura dei codici non modificabili (read only), in conformità alle norme ISO 11785 e 11784.

I risultati preliminari riportati da Ribò et al. (2001), indicano una maggiore permanenza per le marche auricolari elettroniche (82.1%) e per i boli ruminali (85.9%) rispetto ai transponder iniettabili (61.7%) (Ribò et al. 2001).

I risultati dimostrerebbero che, in media, il tasso di permanenza per la marca auricolare elettronica e per il bolo ruminale (> 99.5%) è più elevato dei tassi comunemente osservati per la marca auricolare di plastica. I dati iniziali non rilevano differenze significative tra la percentuale di permanenza degli identificatori nell'allevamento (76.4%) e al mattatoio (83.3%).

In campo, la permanenza della marca auricolare elettronica (92.7%) è maggiore rispetto al bolo ruminale (74.1%). Al mattatoio la permanenza del bolo ruminale è invece maggiore (91.7%) che per la marca auricolare elettronica (81.5%) e per i transponder iniettabili (63.8%).

Questi risultati potrebbero indicare che il bolo ruminale e la marca auricolare elettronica sono efficienti metodi di identificazione degli animali in allevamento e uno strumento utile da integrare alla tracciabilità ordinaria (Ribò et al., 2001).

1.4.5. Progetto OARSS: “Ogni animale racconta se stesso: sistema di controllo a distanza per animali di specie diverse”.

E' stato promosso un progetto nazionale italiano dal titolo "Ogni animale racconta se stesso: sistema di controllo a distanza per animali di specie diverse" (OARSS) che ha coinvolto, tra le varie figure, anche diversi Istituti Zooprofilattici Sperimentali. Il progetto ha come obiettivo finale quello di ottenere strumenti e soluzioni operative per controllare tutte le fasi evolutive dell'animale, durante l'intero ciclo di vita produttiva. Un altro obiettivo è quello di stabilire la localizzazione più opportuna del microchip sugli animali. Anche in questa sperimentazione vengono presi in esame tre supporti diversi per i trasponder: sottocutaneo, marca auricolare e bolo ruminale.

Sono stati utilizzati microchip "leggi e scrivi" a radiofrequenza o TAG RFID che possono memorizzare i dati dell'animale, in termini anagrafici (informazioni contenute nel passaporto) ma anche informazioni riguardo alle aziende di transito (movimentazioni, passaggi di proprietà), i controlli veterinari effettuati, i trattamenti a cui l'animale è stato sottoposto e le profilassi di stato (ricalcando, in un certo senso, i registri di stalla). Tutte le informazioni possono essere caricate sui chip semplicemente portando l'animale in prossimità di antenne di lettura e scrittura.

Al macello, dal microchip iniziale o "microchip padre", si producono delle copie, "microchip figli", che seguiranno le mezzene ed i quarti fino al laboratorio di sezionamento.

Il dettagliante che riceve la mezzena o il quarto con il microchip figlio avrà un sistema per leggere le informazioni contenute nel microchip di partenza e stamparle sull'etichetta.

La principale innovazione di questo progetto è che, per la prima volta, tutte le

informazioni relative all'animale sono detenute dall'animale stesso (Colafrancesco 2003; Ranalli 2004). L'esperienza acquisita nel corso dello studio permette di affermare che:

- La marca auricolare è la più facile da applicare, non richiede particolari accorgimenti ed è una pratica comunemente eseguita nella identificazione dei bovini, bufalini, ovini e caprini, anche in corso di tracciabilità ordinaria. Di contro è soggetta a smarrimenti e a sostituzioni (come le marche auricolari tradizionali).
- Il bolo ruminale non può essere contraffatto o sostituito e in pratica non è soggetto a smarrimenti. Può essere applicato solo a ruminanti e ad animali con il rumine già sviluppato, quindi dopo lo svezzamento. Negli animali adulti risulta difficoltosa la contenzione per l'inoculo del bolo e la manualità richiede una discreta preparazione per non causare lesioni esofagee. Deve essere recuperato alla macellazione con notevole perdita di tempo e crea notevoli problemi per lo smaltimento della capsula.
- Il tag sottocute ha evidenziato una migrazione, con enorme difficoltà di recupero alla macellazione; pertanto, sia l'UE che il Ministero della Salute lo sconsigliano onde evitare il ritrovamento del tag nel prodotto finale. Il tag sottocute riassume i vantaggi dei supporti precedenti rispetto alla facilità di inoculo e alla impossibilità di contraffazione e di smarrimento; può inoltre essere usato anche in specie monogastriche. Qualora la regione di inoculo sia rappresentata da materiale specifico a rischio BSE (regione della testa) o comunque parti anatomiche non commerciabili (orecchie, parte distale degli arti), non è necessario il recupero alla macellazione, né sussistono problemi di smaltimento (www.uniteam.it/mediareport_izs.asp).

L'identificazione mediante dispositivi elettronici è attuabile anche nelle fasi successive alla macellazione; poiché il bolo accompagna l'animale fino all'eviscerazione (successivamente viene recuperato e distrutto), è necessario trasferire l'identificativo elettronico alle carcasse attraverso etichette elettroniche o "smart labels". Un sistema elettronico permette la stampa di tali dispositivi che contengono, oltre ai normali codici a barra utilizzati in logistica, le indicazioni anagrafiche del capo. L'etichettatura dei vari tagli anatomici può sfruttare questo tipo di tecnologia a costi ridotti qualora il laboratorio di sezionamento sia annesso al macello (Olivieri, 2007).

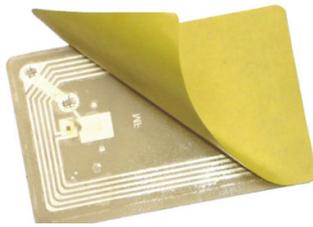


Figura 9. Smart label.

1.5 LA TRACCIABILITA' GENETICA: PRESUPPOSTI SCIENTIFICI E APPLICAZIONI NELLE FILIERE DELLA CARNE BOVINA

1.5.1. Generalità

I sistemi di tracciabilità ordinaria ed elettronica, così come sono concepiti e previsti dalle norme vigenti, sono potenzialmente soggetti ad errore, che determina la perdita del legame tra il codice identificativo dell'animale e l'animale stesso.

Sussiste quindi il pericolo della perdita della tracciabilità del prodotto, sia in fase ante mortem che post mortem. I punti critici possono essere così riassunti:

- Allevamento e trasporto: distacco delle marche auricolari per cause accidentali (non con bolo o microchip sottocutaneo).
- Macello: perdita di connessione con la matricola testa- carcassa o non corretta relazione fra il nuovo identificativo di macellazione e matricola originale, per mancata identificazione del transponder.
- Fase di lavorazione: non corretta relazione fra il nuovo identificativo di lavorazione e matricola originale.
- Fase di confezionamento: non corretta relazione fra il nuovo identificativo di confezionamento e matricola originale.
- Vendita : non corretta relazione fra il nuovo identificativo di vendita e matricola originale.

Pertanto, accanto ai sistemi di tracciabilità basati sulle registrazioni cartacee e/o elettroniche è utile che gli operatori della filiera possano disporre di uno strumento che consenta di accertare in modo assolutamente inconfutabile l'origine della carne, al fine di

poter avere il controllo assoluto della filiera stessa ed individuare con rapidità eventuali anomalie.

Il sistema di tracciabilità basato sull'analisi del DNA è ad oggi l'unica tecnologia in grado di dare veridicità assoluta alla documentazione che accompagna la carne fino al punto vendita. Il test non vuole sostituire i sistemi di tracciabilità in atto, ma consente di completarli, valorizzarli e verificarli, soprattutto nel contesto di prodotti altamente certificati e di filiere particolari.

L'analisi consiste nel confronto, e quindi nella verifica dell'uguaglianza genetica, tra il campione di riferimento, prelevato dall'animale in vita (prelievo ante mortem), registrato e conservato, ed il campione di carne (prelievo post mortem), prelevato presso il punto vendita o in qualsiasi altro punto della filiera.

Nella figura seguente è schematizzato un esempio di supporto genetico alla tracciabilità ordinaria nella filiera della carne bovina (Capoferri et al., 2005):

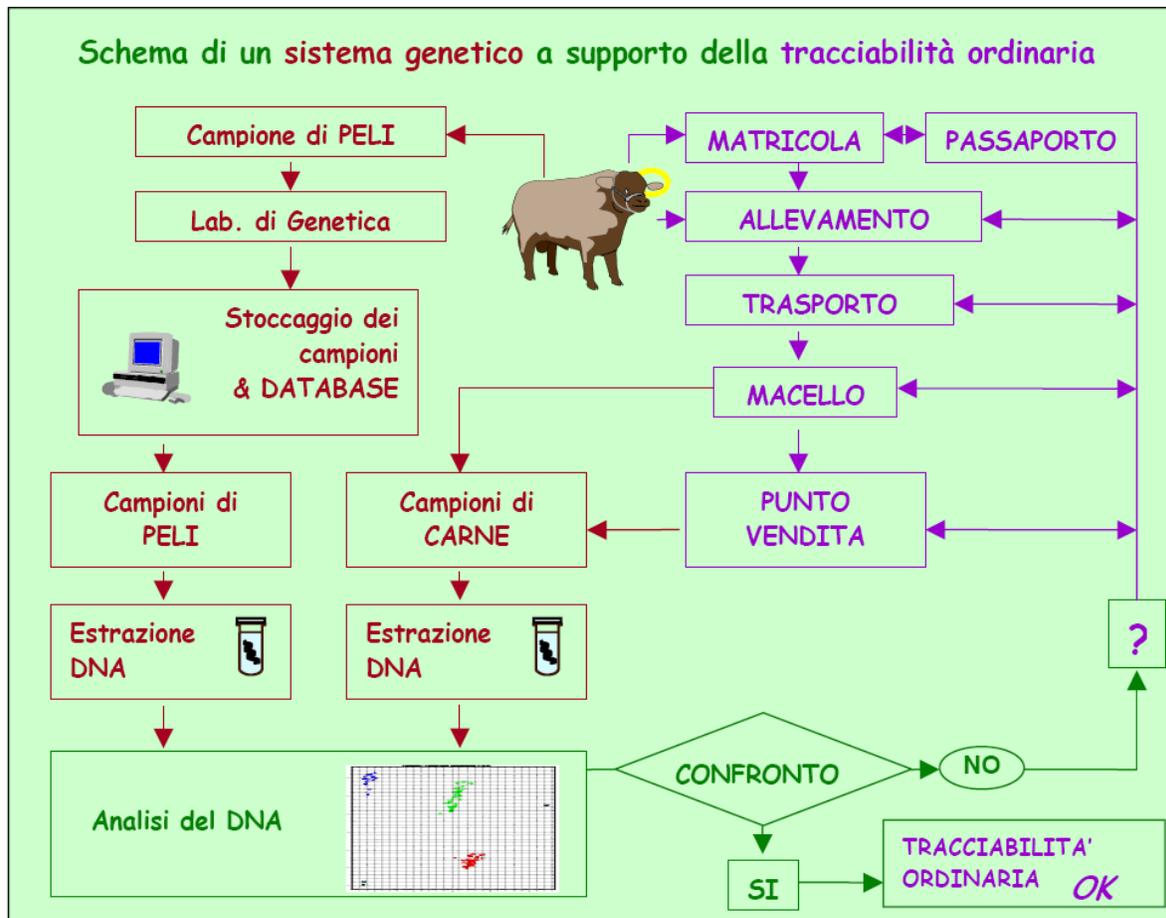


Figura 10. Tracciabilità genetica a supporto della filiera carne (Capoferri et al., 2005)

1.5.2. La biologia molecolare applicata alla tracciabilità: evidenze scientifiche e basi biomolecolari

Il principio scientifico su cui si basa la tracciabilità genetica è dunque quello di stabilire – con un livello di probabilità sufficientemente alto- che nelle cellule di due campioni biologici in esame è presente lo stesso identico genoma. Il genoma di due differenti individui, anche appartenenti alla stessa famiglia, presenta infatti notevoli differenze (esclusione fatta per i gemelli omozigoti e per i cloni) (Mackie et al., 1999; Cunningham &

Meghen, 2001). Altri importanti caratteristiche che avvalorano questo tipo di tecnologia sono:

- Il DNA è inalterabile durante tutta la vita produttiva dell'animale
- Il DNA è abbastanza stabile ai differenti trattamenti di trasformazione del cibo
- Il DNA è presente in tutte le cellule di un organismo

Una volta estratto il DNA dalla matrice scelta, l'analisi molecolare permette, mediante opportuni markers, di ottenere un' "impronta digitale" o una specifica frequenza allelica che permette l'identificazione di specie, razza, gruppo familiare o individuo. L'individuazione genetica del singolo capo è quella che trova nella tracciabilità l'impiego più ovvio.

Dall'introduzione della reazione a catena della polimerasi (PCR) nel 1989, molti differenti markers sono stati realizzati e sperimentati. Le tecnologie utilizzate a tal fine sono principalmente le seguenti (Capoferri et al., 2005, modificato):

- AFLP (polimorfismi di lunghezza di frammenti amplificati)
- RFLP (polimorfismi di lunghezza di frammenti generati da enzimi di restrizione)
- VNRT (polimorfismi dovuti alla ripetizione in tandem di un numero variabile di nucleotidi (Short tandem repeats o *microsatelliti* – STR)).
- SNPs (polimorfismi legati alla mutazione di un singolo nucleotide).

Questi marcatori differiscono per gradi di polimorfismo, per la possibilità di standardizzare i protocolli di analisi, per l'interpretazione dei dati e per la strumentazione richiesta.

L'uso di queste tecnologie in campo veterinario costituisce solo una estensione al mondo animale di tecniche già consolidate in medicina umana o routinariamente applicate in medicina forense (Cunningham e Meghen, 2001).

Sono stati condotti numerosi studi su differenti razze; lo scopo di questo sforzo conoscitivo è stato quello di stabilire un panel di markers in grado di discriminare un capo dall'altro. Per testare l'efficacia del panel è stato calcolato il cosiddetto "Match Probability" (MP), definito come la probabilità di trovare, per caso, due individui con identico profilo (Weir, 1996). Tali markers si basano sull'analisi del polimorfismo allelico di determinati loci genomici e, di norma, sono calcolati come prodotto delle probabilità che due individui abbiano un profilo identico per ogni locus.

I markers più utilizzati sono i microsatelliti (STR) (Peelman et al., 1998; Sancristobal-Gaudy et al., 2000; Arana et al., 2002; Va'zquez et al., 2004; Herraenza et al. 2005; Mariani et al., 2005; Dalvit et al., 2006; Orru` et al. 2006) e i più recenti SNPs (Heaton et al., 2002; Heaton et al., 2005; Herraenza et al., 2005).

1.5.3. Microsatelliti

Si definiscono microsatelliti (Short tandem repeats) particolari regioni (loci) del genoma caratterizzate da sequenze ripetitive di DNA non codificante, costituite da unità di ripetizione molto corte in tandem (1-5 bp, solitamente dinucleotidiche, del tipo (CA) n , dove "n=numero di ripetizioni").

Sono comuni nel DNA nucleare di tutti gli eucarioti fino ad ora esaminati.

Ai microsatelliti viene attribuita grande efficienza per la stima della variabilità tra ed entro popolazioni:

- a) perché si comportano come caratteri mendeliani semplici di tipo codominante;
- b) perché hanno un elevato polimorfismo in confronto ad altri marcatori molecolari.

Il polimorfismo dei microsatelliti consiste nel diverso numero di copie del motivo semplice (n) e dunque nella loro lunghezza. Ogni microsatellite vanta quindi diverse varianti alleliche: il numero degli alleli è generalmente compreso tra 2 e 20 il grado di variabilità dei microsatelliti è correlato positivamente con il numero di ripetizioni. Microsatelliti corti sono in genere monomorfici.

L'alto grado di variabilità è dovuto ad errori di replicazione (slittamento della polimerasi o "slippage"), meiosi e ricombinazione.

Pertanto, dato un individuo, scegliendo un opportuno gruppo di microsatelliti, è possibile stabilire un'impronta digitale genetica basata sulla lunghezza dei microsatelliti. Con opportuni primers specifici è possibile amplificare contemporaneamente, mediante PCR multiplex, i microsatelliti in esame, creando amplificati di diversa lunghezza (e quindi di diverso peso molecolare) per ogni individuo (rappresentano le diverse varianti alleliche di determinati loci). I frammenti vengono divisi ed identificati mediante elettroforesi, creando un'impronta digitale genetica tipica dell'individuo.

Per assicurare che ogni individuo sia caratterizzato in maniera univoca, statisticamente valida, questi loci devono essere analizzati in un numero sufficiente. Scegliendo un numero alto di microsatelliti (generalmente tra 11 e 20) si diminuisce la probabilità di trovare due individui con un profilo di microsatelliti identico fino a valori nell'ordine di 10^{-13} (cioè, la probabilità di trovare due individui diversi con il medesimo pattern di microsatelliti è di 1 ogni dieci miliardi di prove). Una volta conosciuto il profilo genetico di un individuo, è possibile effettuare confronti tra due campioni (ad esempio, come nel caso della filiera carne, tra cartilagine e carne). Il problema dei microsatelliti è legato al fatto che le dimensioni in paia di basi cambiano a seconda dello strumento utilizzato e che diversi modelli di sequenziatori danno delle differenze nel dimensionamento dei

marcatori creando dei problemi nel confronto di risultati tra laboratori e nel riaggiornamento di data base nel caso di passaggio a nuovi strumenti. I microsatelliti richiedono inoltre, pur con l'ausilio di software aggiornati, una specifica preparazione dell'operatore per l'individuazione precisa del picco e di segnali aspecifici.

1.5.4. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

Un polimorfismo a singolo nucleotide (spesso definito in inglese Single Nucleotide Polymorphism o SNP, pronunciato "snip") è un polimorfismo, generalmente biallelico, che si presenta tra individui della stessa specie, caratterizzato da una differenza a carico di un unico nucleotide. Gli SNPs possono presentarsi all'interno di una sequenza codificante di un gene, all'interno di una regione intronica o in una regione intergenica. "Sparsi" nel genoma, ci sono dei loci che differiscono dunque per un unico nucleotide. Questo tipo di polimorfismo può essere usato per identificare un individuo.

Tale tecnica prevede l'amplificazione di regioni specifiche del DNA contenenti gli SNPs mediante l'utilizzo di coppie di primers non marcati e sonde fluoroscinate specifiche (sonde TaqMan MGB) per le mutazioni relative ai loci di interesse.

Su ciascun locus indagato viene usata a) una coppia di primers che amplifica il frammento contenente il polimorfismo e b) 2 sonde specifiche per il polimorfismo.

Le sequenze oligonucleotidiche di tali sonde differiscono per una base (polimorfismo degli SNPs) e per il fluorocromo utilizzato per la marcatura, FAM per un allele e VIC per l'altro.

La chimica TaqMan utilizzata in Real Time PCR si basa sul seguente principio: durante la reazione di PCR l'attività esonucleasica della TAQ DNA polimerasi scalza la sonda che si è ibridizzata con il filamento stampo del campione di DNA analizzato con conseguente emissione di fluorescenza. Tale fluorescenza viene misurata ad ogni ciclo di amplificazione

da un software specifico. Essendo le due sonde le (una per ciascun nucleotide che determina la forma allelica) con due fluorocromi diversi è possibile discriminare contemporaneamente la presenza o l'assenza dei 2 alleli. La specificità di tali sonde permette infatti che solo al perfetto allineamento fra sonda e filamento corrisponda poi un segnale di fluorescenza, nel caso di mismatch (una base diversa fra DNA stampo e sonda), l'amplificazione non avviene o è fortemente inibita con conseguente minor rilascio di fluorescenza.

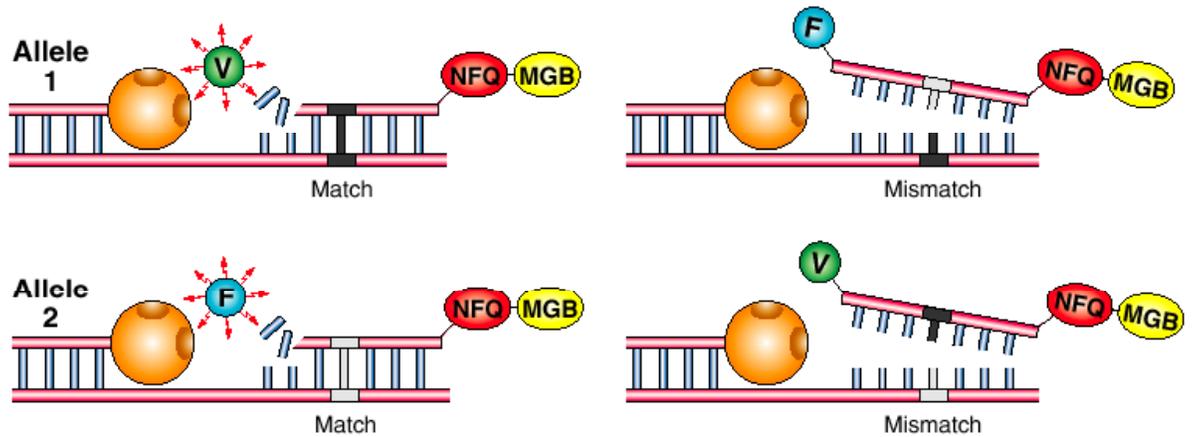


Figura 11. Sonda TaqMan (Capoferri et al., 2005).

Alla fine del ciclo di amplificazione un apposito software identifica le componenti dei marcatori e determina il contributo di ciascun marcatore permettendo di individuare il genotipo. Il risultato di questa lettura è la classificazione dei campioni in due categorie: omozigoti (campioni che hanno uno o l'altro allele) ed eterozigoti (campioni che hanno entrambi gli alleli). Anche in questo caso, la scelta di un numero sufficientemente elevato di SNPs (tra 16 e 20, generalmente) conferisce attendibilità statistica.

Nei bovini, fino ad oggi, sono stati forniti in banca dati un centinaio di SNP e altri sono reperibili in database pubblici (IBISS, <http://www.livestockgenomics.csiro.au/ibiss/>).

Rispetto ad altri marcatori gli SNP presentano alcuni vantaggi:

- a) sono più stabili nel passaggio tra generazioni, caratteristica che permette confronti tra soggetti molto distanti tra di loro in termini di parentela;
- b) presentano una lettura bi-allelica di tipo binario che permette un'assegnazione degli alleli presenti molto più rapida e certa rispetto ai microsatelliti;
- c) si prestano allo sviluppo di tecnologie ad elevata automazione;
- d) sono molto frequenti nei genomi (si stima che nei genomi eucarioti vi sia uno SNP ogni 600 basi circa) garantendo una copertura genetica più frequente rispetto agli altri marcatori.
- e) l'analisi mediante tecnica real-time PCR rispetto all'utilizzo dei microsatelliti non richiede, alla fine della reazione di PCR, ulteriori processi analitici, quali diluizione dei campioni, separazione elettroforetica su sequenziatore ed interpretazione dei picchi da parte dell'operatore, evitando così eventuali problemi di contaminazione e riducendo i tempi di analisi.

1.5.5. Applicazione di Microsatelliti e SNPs nella specie bovina

Nella seguente tabella sono schematizzati in maggiori studi effettuati, in relazione anche alle razze oggetto di analisi (Tratto da Dalvit et al., 2007). I markers differiscono per probabilità e tipo/numero dei loci.

Table 1
Match probability values obtained in recent studies of individual genetic traceability in cattle

Type and number of markers	Match probability	Breeds	References
STR ^a – 12	1.9×10^{-11}	Piemontese, Chianina, Marchigiana, Romagnola	Dalvit et al. (2006)
STR – 10	2.4×10^{-8}	Galloway	Herraeza et al. (2005)
STR – 14	2.3×10^{-11}	Galloway	Herraeza et al. (2005)
STR – 17	1.4×10^{-13}	Galloway	Herraeza et al. (2005)
SNP ^b – 43	5.3×10^{-11}	Galloway	Herraeza et al. (2005)
SNP – 20	4.3×10^{-8}	Holstein Friesian and others	Heaton et al. (2005)
SNP – 32	2.0×10^{-13}	American Angus	Heaton et al. (2002)
STR – 10	$>10^{-7}$	Pirenaica	Arana et al. (2002)
STR – 13	$>10^{-15}$	Piemontese, Chinina, Holstein Friesian, Italian Simmental	Orrù et al. (2006)
STR – 11	5×10^{-12}	Charolaise	San Cristobal-Gaudy et al. (2000)
STR – 10	1×10^{-10}	Belgium beef cattle	Peelman et al. (1998)

^a STR: short tandem repeats.

^b SNP: single nucleotide polymorphism.

Tabella 1. Markers genetici bovini (Dalvit et al., 2007)

I markers testati rivelano un'ottima possibilità di impiego sia per la tracciabilità individuale che per quella di razza, in relazione al tipo, numero e livello di polimorfismo.

Nessun autore ha ottenuto livelli di MP superiori a 10^{-7} ; questo vuol dire che la probabilità di trovare due individui distinti con lo stesso profilo genetico è inferiore a 1/10.000.000.

Nell'ottica di scegliere un valore soglia di PM bisogna considerare la grandezza della popolazione di partenza. Per una popolazione di quattromila animali, un MP nell'ordine di 10^{-6} è adeguato, ma di fronte a svariati milioni di capi un tale MP non assicurerebbe un'adeguata precisione.

Anche la razza può influire sulla efficienza del sistema: Orrù et al. (2006), in uno studio condotto su quattro razze, hanno dimostrato il contenuto informativo di ogni microsatellite può variare da una razza all'altra (esistono alleli sempre presenti in una razza e sempre assenti nelle altre). Un sistema ideale potrebbe impiegare differenti panels in base alla razza, creando tuttavia problemi negli ibridi e amplificando smodatamente i costi per le analisi; altrimenti potrebbe essere utilizzato un panel meno specifico, ma applicabile a tutte le razze (Dalvit et al., 2007). In entrambi i casi sono necessarie analisi preliminari su tutte le razze incluse nel programma per caratterizzarne

le peculiarità genetiche. Ulteriori problemi possono insorgere in quei prodotti derivati dalla miscela di carni provenienti da più capi; uno studio condotto da Shackell et al. (2005) mediante microsatelliti dimostra una buona affidabilità nel riconoscere gli individui in prodotti misti fino ad un massimo di cinque; quando il numero di individui la cui carne è contenuta nel prodotto aumenta, il sistema perde sensibilità. L'analisi può tuttavia essere adattata per riconoscere la carne proveniente da un "gruppo di individui" da un altro (e quindi una partita o un lotto da un altro).

1.5.6. Le possibili matrici

Il DNA prelevato dagli animali vivi può essere estratto da differenti matrici tra le quali:

- cartilagine auricolare, prelevata direttamente mediante l'applicazione di particolari marche auricolari
- sangue
- peli con annessi bulbi piliferi

1.5.6.1. Cartilagine auricolare

L'analisi da cartilagine auricolare è stata concretizzata in un sistema integrato prodotto industrialmente (Ghislandi®, TypiFix™ Prionics™). La marca viene applicata e permette di estrarre un campione tissutale che viene conservato all'interno di una piccola capsula/contenitore che reca già lo stesso numero e codice a barre della marca stessa. Il contenitore racchiude particolari granuli che permettono di conservare il campione per diversi anni senza bisogno di refrigerazione/congelamento. La quantità di tessuto

ottenuta è uguale per tutti i capi e relativamente abbondante, ossia sufficiente ad effettuare più estrazioni di DNA.

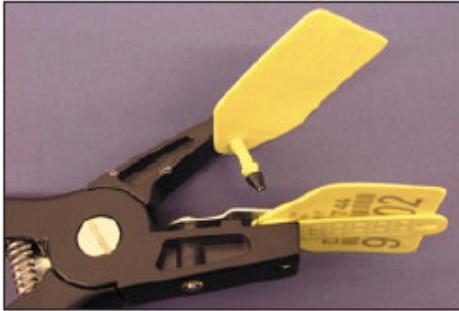


Figura 11. Marca di tipo TypiFiX™ (Prionics™)

L'utilizzo di questo tipo di matrice è sconsigliato da alcuni autori perché il momento del prelievo è obbligatoriamente ristretto all'applicazione della marca, mentre il campionamento di pelo o sangue può essere dilazionato o ripetuto all'occorrenza (Egozcue et al., 2006). Tuttavia, questa metodica associa il campione con l'opportuno codice a barra mediante l'atto stesso del prelievo, annullando totalmente i rischi di errore di associazione tra campione e capo. L'applicazione della marca, inoltre, è una manualità che deve essere obbligatoriamente praticata e che rientra nelle comuni mansioni degli allevatori; per questo è facilmente introducibile nella realtà aziendale.

1.5.6.2. Sangue

L'analisi da sangue è ritenuta da alcuni autori il sistema più affidabile (Egozcue et al., 2006). La raccolta del campione è basata sul prelievo di sangue periferico che viene adsorbito a opportuni filtri (ad esempio, il sistema Vet Kard System®, Prion DGN®).

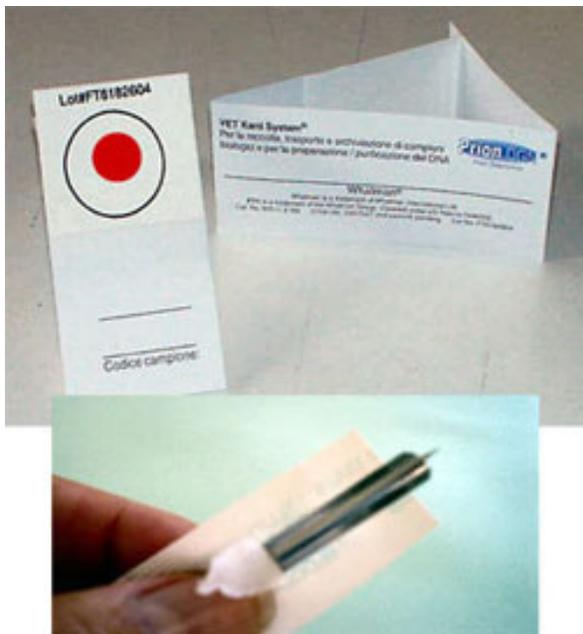


Figura 12. Cartina di tipo Vet Kard System®, Prion DGN®.

(www.vetogene.com/vetkard.html).

La raccolta del campione ematico può avvenire mediante punzione dell'orecchio del bovino o con prelievo di sangue tradizionale (Egozcue et al., 2006). La goccia di sangue ottenuta viene posta a contatto della matrice assorbente, che è impregnata di agenti battericidi e antivirali. Questo trattamento garantisce la stabilità del campione, permettendo la conservazione per lunghi periodi a temperatura ambiente. La metodica richiede una operazione aggiuntiva all'applicazione della marca al momento della nascita e i rischi di errore nell'accoppiamento tra animale e cartina sono maggiori rispetto al metodo precedente. Il prelievo è tuttavia dilazionabile ed effettuabile anche su animali già dotati di marca (es: compravendite).

1.5.6.2. Bulbo pilifero

L'analisi da bulbo pilifero è attualmente la più diffusa in Italia, ed è utilizzata già da alcuni consorzi attivi in Toscana, quali CCBI e Vitellone bianco IGP. Consiste nel prelievo di un ciuffo di peli (circa trenta) dotati di bulbo pilifero, che vengono raccolti e conservati in normali buste di plastica. Il pregio di questo sistema è il basso costo, ma le controindicazioni sono analoghe a quelle elencate per l'analisi da sangue. Inoltre c'è da considerare che:

- Il prelievo deve interessare una quantità di peli sufficiente, pena la non ripetibilità della prova all'occorrenza;
- I peli devono essere completi di bulbo (i peli spezzati o privi di bulbo non possono essere analizzati); secondo i dati riportati in letteratura, esiste sempre una percentuale di campioni che giunge al laboratorio ma che non può essere processata per insufficienza di bulbi piliferi (Capoferri et al., 2006).
- Possono esserci problemi di contaminazione al momento del prelievo.



Figura 13. Esempio di prelievo di peli per analisi genetica (Capoferri et al., 2006).

In tutti e tre i casi sopradetti i campioni sono facilmente catalogabili in un comune raccoglitore di fogli per uffici o in contenitori a cassette.



Figura 14. Esempio di archivio di campioni di pelo, cosiddetta “tricoteca” (Capoferri et al., 2006).

1.5.7. Esperienze ed esempi applicativi di tracciabilità genetica della filiera carne bovina in Italia

La letteratura scientifica riporta numerosi tentativi di applicazione della tracciabilità genetica al settore bovino della produzione di carne.

Il dato comune a tutte le indagini finora svolte è il campo di applicazione più o meno ristretto, diretto cioè nei confronti di produzioni tipiche o legate ad un territorio limitato (singoli consorzi o marchi) e non a realtà territoriali regionali. Questa limitazione è legata sia alle difficoltà organizzative, sia soprattutto alla preesistenza di un sistema di etichettatura che riporti il numero di marca auricolare, condizione soddisfatta solo da alcuni consorzi. E' proprio nel contesto produttivo di alcuni consorzi che stanno nascendo tentativi di più ampio respiro; CCBI e Vitellone Bianco IGP hanno infatti incluso il prelievo del pelo con bulbi piliferi tra le operazioni svolte dagli esperti consortili che visitano le aziende per l'iscrizione dei nuovi nati al consorzio. Tuttavia, tale raccolta è seguita da controlli "a spot" (ad esempio, in alcune mense scolastiche) sulla carne, e ad oggi non è inquadrata in un sistema integrato di controllo dell'intera filiera (Presidenti dei Consorzi, pers comm.).

Di seguito, riportiamo alcuni tra gli studi applicativi condotti nel comparto bovino in campo di tracciabilità genetica delle carni in Italia, tra quelli presenti in letteratura.

1.5.7.1. Tracciabilità genetica delle carni in Regione Umbria (Papa et al., 2006)

Il progetto è nato dalla collaborazione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche con due realtà produttive e distributive locali di carni bovine (Bovinmarche e Molini Popolari Riuniti). Gli obiettivi di questo lavoro sono così riassumibili:

- individuazione di un idoneo set di loci microsatelliti
- applicazione del DNA fingerprinting alle razze bovine più comunemente commercializzate partendo da diverse tipologie di matrice (carni fresche, congelate e cotte).

Nel periodo tra giugno 2002 e giugno 2003 è stata costituita una banca genomica rappresentativa di 850 campioni comprensivi di 471 campioni di sangue e 415 campioni di carne.

I campioni di sangue sono stati prelevati al mattatoio bovino (campioni di riferimento) e, successivamente, nelle macellerie affiliate, sono stati prelevati i campioni di carne che dovevano appartenere agli stessi animali (campioni di verifica).

I campioni di sangue e carne sono stati prelevati da bovini appartenenti a razze bovine autoctone e non, allo scopo di verificare l'applicabilità del metodo STR su campioni di tutte le razze da carne comunemente macellate e vendute.

Per valutare tutte le possibili applicazioni dell'analisi degli STR, sono stati esaminati campioni di muscolo appena macellato, carni a differenti stadi di frollatura e carni cotte con diverse modalità: bollitura in acqua, grigliatura su piastra e cottura al forno microonde alla massima potenza.

Inoltre sono stati allestiti in laboratorio dei campioni di carne lavorata aggiungendo alla carne spezie (sale e pepe), uovo e parmigiano al fine di verificare eventuali problemi analitici dovuti ad inibizione della reazione di PCR (da parte delle spezie) o ad aspecificità data dalla presenza di DNA omologo (parmigiano) ed eterologo (uovo).

Le analisi effettuate svelano che il set di 11 microsatelliti utilizzati è discriminante per tutti i soggetti appartenenti alle razze testate e permette di distinguere con sicurezza due individui diversi.

Gli undici microsatelliti analizzati sono risultati efficaci nella distinzione degli individui delle razze considerate; su un totale di 425 analisi di confronto genetico sono stati riscontrati 5 casi di non identità. Tali risultati hanno costituito lo spunto per le aziende distributrici coinvolte nel progetto, ad effettuare un'analisi delle cause possibili di "malfunzionamento" del sistema di etichettatura e ad applicare idonee azioni correttive.

Le indagini effettuate in seguito al riscontro di "non identità" hanno ricondotto in tutti i casi a non conformità del sistema cartaceo di gestione della tracciabilità.

Inoltre, il DNA estratto da tutte le matrici prese in considerazione (sangue, carne fresca, congelata, frollata, cotta, lavorata) ha dato risultati di amplificazione soddisfacenti, dimostrando che la frollatura, la cottura e la lavorazione delle carni non pregiudicano la possibilità di effettuare una prova di tracciabilità genetica.

Questo risultato dimostra, inoltre, come l'applicabilità della metodica per il controllo della tracciabilità delle carni bovine sia anche estensibile ai centri di preparazione pasti ed alla ristorazione collettiva in genere.

1.5.7.2. Tracciabilità genetica delle carni in Regione Lombardia (Capoferri et al., 2006)

Nel corso di uno studio pilota condotto dall'Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani (ISILS) insieme al Consorzio Carne Bovina Documenta di Mantova (CCBD) nella Regione Lombardia sono stati sottoposti a campionamento per analisi genetica mille capi bovini. I test sul DNA sono stati eseguiti sui campioni di pelo e muscolo. I genotipi ottenuti sono stati acquisiti in un data base informatico, sia per l'archiviazione che per il confronto.

Complessivamente sono stati analizzati 2200 campioni così ripartiti:

- 1000 campioni di pelo di riferimento
- 1000 campioni di muscolo provenienti dal macello
- 200 campioni di muscolo provenienti dal punto vendita.

L'analisi genetica ha sfruttato sia i microsatelliti che gli SNPs. Questa seconda tecnica si è dimostrata più performante (rapidità di impiego, accuratezza e affidabilità). La verifica della corretta tracciabilità è stata effettuata tra il campione antemortem e i campioni di carne a livello di macello e punto vendita.

Dei 400 confronti dalla comparazione di 200 genotipi di riferimento con 200 del macello e 200 del punto vendita si sono evidenziate complessivamente 13 non conformità pari al 3,25 %, di cui 2 dovute all'impossibilità di avere il genotipo di riferimento in quanto i campioni di pelo non presentavano bulbi mentre le altre 11 dovute ad una diversità fra genotipi di riferimento e quelli dei rispettivi campioni di carne del macello e/o del punto vendita.

Altri studi dati dalla comparazione di 800 genotipi di riferimento con 800 prelevati al macello hanno evidenziato complessivamente 15 non conformità pari al 1,87 %.

Le modalità di campionamento, il sistema di stoccaggio e la successiva gestione dei campioni di riferimento sono risultati adeguati in quanto in spazi limitati e con costi di gestione bassi è sempre possibile risalire al soggetto ed effettuare il controllo genetico-molecolare.

Inoltre l'impiego degli SNP su larga scala è risultato vantaggioso in quanto l'analisi è automatizzabile, l'interpretazione del risultato è gestibile direttamente dal software ed è di facile attribuzione. Lo studio della frequenza generale sull'intera popolazione ha evidenziato che il pannello di SNP selezionato è adeguato per la numerosità del campione in esame.

Le analisi genetico-molecolari hanno rilevato che, nonostante gli sforzi messi in atto per la tracciabilità ordinaria della carne, esistono ancora punti critici ove si ha perdita della corretta identificazione.

Nell'ambito del progetto, i punti critici sono stati rilevati soprattutto a livello del macello. Infatti, lungo la catena di macellazione avviene un'ulteriore codifica dei soggetti mediante l'assegnazione di un numero di macellazione ed il suo successivo abbinamento con l'identificativo dell'animale. Se poi si passa al laboratorio di sezionamento il numero delle porzioni di carne da codificare aumenta, aumentando così anche la possibilità di applicare erroneamente le etichette sui tagli anatomici e sui porzionati. Il campionamento effettuato dai veterinari negli impianti di macellazione richiedeva inoltre un'ulteriore codifica dei pezzetti di muscolo prelevati per il controllo della tracciabilità, aumentando il verificarsi di errori nell'abbinamento matricola-codice macello-muscolo.

Con la realizzazione del progetto e la valutazione dei risultati ottenuti, si sono creati i presupposti per la costituzione di un service genetico come valido supporto per la certificazione di filiera.

1.5.7.3. Tracciabilità genetica delle carni in Regione Piemonte (Piatti et al., 2003)

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, al fine di poter eseguire le verifiche dei sistemi di tracciabilità è stato previsto il censimento di 3500 animali (per un totale di 88 allevamenti coinvolti), dai quali è stato prelevato un campione di pelo per la formazione di una banca dati genetica.

La verifica della tracciabilità di filiera è stata effettuata mediante il prelievo di 192 campioni di carne e il confronto dei medesimi con i rispettivi campioni di riferimento dell'animale, verificando l'uguaglianza tra i due campioni.

Le verifiche sono state condotte presso macellerie (prodotto sfuso al taglio), centri della grande distribuzione (prodotto confezionato in vaschetta sigillata ed etichettata) e centri di sezionamento (prodotto confezionato in "pad" termosaldati etichettati).

In merito al numero di campioni prelevati nelle differenti tipologie di esercizi, nelle macellerie, nei centri della grande distribuzione e nei centri di sezionamento sono stati prelevati rispettivamente 79, 65 e 48 campioni.

I campioni di DNA estratti dai campioni di carne e dai bulbi piliferi sono stati sottoposti a caratterizzazione genetica mediante determinazione del polimorfismo allelico di 11 microsatelliti del DNA bovino. Nelle verifiche della corrispondenza tra i 192 campioni di carne prelevati ed i relativi campioni di riferimento (campioni di pelo depositati nella "banca del DNA bovino") l'uguaglianza tra i campioni è stata confermata in 167 confronti, mentre sono stati rilevati in totale 23 casi di non corrispondenza (12 % del totale). In merito alla correlazione tra frequenza delle non conformità e tipologia dell'esercizio

commerciale, 7 non conformità sono state rilevate nelle macellerie (8,8 % sul totale dei 79 campioni prelevati nelle macellerie), 11 nei centri della grande distribuzione (17 % sul totale dei 65 campioni prelevati nelle macellerie) e 5 nei centri di sezionamento (10,4% sul totale dei 48 campioni prelevati nelle macellerie).

Da evidenziare come l'analisi del DNA abbia consentito di spiegare in 12 dei 23 casi il problema verificatosi: si è trattato infatti di errori di etichettatura legati alla contemporanea presenza presso il punto vendita di carni provenienti da animali differenti e al non corretto abbinamento tra singolo taglio di carne e animale di origine. Tali episodi potrebbero essere risolti con una maggiore sensibilizzazione degli addetti al concetto di tracciabilità, con una conseguente maggiore attenzione nell'emissione di scontrini ed etichette.

Per quanto riguarda i rimanenti casi di non corrispondenza, i Consorzi sono stati in grado di fornire i numeri di matricola relativi ai bovini presenti nel medesimo periodo presso i punti vendita, in modo da verificare se anche in questi casi l'errore di etichettatura fosse dovuto alla presenza di carni di animali diversi presso il punto vendita; tuttavia non è stato possibile procedere ad ulteriori accertamenti poiché non era stato prelevato il campione di pelo dei capi indicati. In merito alle verifiche eseguite sui contro-campioni, la corrispondenza è stata confermata in 15 casi e sono state riscontrate quindi 7 non conformità: di queste una tra i contro-campioni prelevati nelle macellerie (9 % dei campioni prelevati) e 6 tra i controcampioni prelevati nei centri della grande distribuzione (54 % dei campioni prelevati).

La Regione Piemonte, nel contesto di questo studio, ha implementato un sistema volontario di tracciabilità genetica della carne bovina (http://www.lab-to.camcom.it/Page/t07/view_html?idp=552).

1.6 TRACCIABILITA' GEOGRAFICA E ANALISI GENETICA

Questo tipo di tracciabilità risulta utile per prodotti di nicchia o con particolari riconoscimenti di qualità legati ad un dato disciplinare produttivo o ad un dato territorio (DOP, IGP etc).

In Europa e nel mondo, l'Italia è una nazione leader con 145 marchi tra DOP e IGP, seguita da Francia, Portogallo Spagna e Grecia.

La tracciabilità geografica mira a tutelare l'origine di un prodotto attraverso lo studio di "elementi traccia" come elementi volatili, flora microbica, particolari isotopi o spettroscopia infrarossa (Franke et al., 2005; Mauriello et al., 2003; Pillonel et al., 2003; Schwa"gele, 2005).

Inoltre, a questo tipo di tracciabilità si associa bene l'analisi genetica per la salvaguardia di prodotti legati a determinate razze (Dalvit et al., 2007).

1.7 TRACCIABILITA' GENETICA: RIFLESSIONI SU POTENZIALI APPLICAZIONI

In conclusione, un sistema di tracciabilità genetica delle filiere carni bovine è teoricamente ipotizzabile, ma deve far fronte a due problemi fondamentali (Dalvit et al., 2007):

- **Il costo delle analisi**

Lo sviluppo di markers sensibili, tali da ridurre il numero, potrebbe permettere un abbattimento dei costi; peraltro, studi statistici testimoniano che nei paesi industrializzati c'è una maggiore propensione a spendere di più per prodotti alimentari certificati (Blend e van Ravenswaay, 1999). Inoltre, la possibilità di svelare precocemente frodi e non conformità della filiera potrebbe essere un importante controllo sanitario e minimizzare i rischi per la salute umana derivanti da carni di ignota origine, con conseguenti guadagni a lungo termine.

- **La raccolta dei campioni**

Tale problema richiede una nuova organizzazione dei processi produttivi: i bovini nati sul territorio di riferimento (Regioni, Stati..) dovrebbero essere campionati al momento della nascita, o dall'allevatore, o dai Servizi Veterinari Nazionali o da altri Enti, quali le APA.

- **L'allestimento della banca dati**

La creazione di una efficiente banca dati comporta che:

- i campioni vengono trasportati e conservati presso un apposito archivio, rigorosamente catalogati e messi in correlazione col numero di marca auricolare;
- il profilo genetico di ogni animale dovrebbe poter essere aggiornato in BDN e, eventualmente, sul passaporto, al pari di quanto ora accade al numero riportato sulla marca auricolare.
- Il confronto tra campione ante-mortem e post-mortem richiede una solida base informatizzata, paragonabile a quelle utilizzate per le indagini di Polizia Scientifica e Medicina Forense.

▪ **L'organizzazione della filiera.**

La raccolta dei campioni di carne lungo la filiera dovrebbe essere effettuata a campione (in maniera statisticamente significativa) o nel contesto di particolari investigazioni (Cunningham e Meghen, 2001).

1.8. ALTRI SISTEMI DI TRACCIABILITÀ: LA TRAMA VASCOLARE RETINICA

Alcuni ricercatori hanno suggerito un possibile sistema di identificazione univoca dei capi bovini attraverso una scansione della trama retinica oculare, considerata specifica del singolo individuo (Whittier et al., 2003). Tramite computer palmare munito di fotocamera, la trama vascolare può essere fotografata e associata al numero di marca. Le immagini retiniche vengono archiviate in un database insieme alla data e luogo di campionamento tramite GPS (Olivieri, 2007). Questo sistema risulta meno invasivo rispetto all'applicazione del bolo o al prelievo di tessuto, ma al contempo costringe a

mantenere l'animale immobile per 15-20 secondi. Inoltre, il sistema è applicabile solo sugli animali vivi e mal si adatta alla tracciabilità dell'intera filiera (deterioramento post mortem della retina, ablazione della testa in fase di macellazione ecc.) (Olivieri, 2007).

2. OBIETTIVI DELLA RICERCA

Scopo della presente ricerca è quello di effettuare uno studio di fattibilità e analisi dei costi per la realizzazione di un sistema di tracciabilità genetica delle carni bovine in Toscana.

3. MATERIALI E METODI

Per l'esecuzione dello studio è stata seguita la seguente metodologia:

1. censimento e caratterizzazione delle filiere di carne bovina presenti sul territorio toscano e analisi dei volumi di attività
2. valutazione delle matrici biologiche adottabili per il campionamento in fase ante mortem
3. valutazione di possibili soluzioni e definizione di un protocollo per la raccolta e lo stoccaggio dei campioni biologici.
4. analisi e valutazione di possibili soluzioni per la raccolta di campioni di carne lungo le filiere presenti sul territorio, definizione di un protocollo.
5. elaborazione di possibili soluzioni per le analisi bio-molecolari.
6. specifiche tecniche del sistema informativo

7. analisi dei costi
8. valutazione del grado di interesse dei consorzi e delle aziende presenti sul territorio

3.1. CENSIMENTO DELLE FILIERE CARNE

E' stato eseguito un censimento delle filiere carne bovina presenti sul territorio toscano.

Mediante estrazione di dati dalla BDN, sono stati raccolte le seguenti informazioni:

1. ragione sociale e ubicazione delle aziende di bovini da carne o a produzione mista (anche carne) attive sul territorio regionale;
2. consistenza dei capi totale relative all'anno 2008 (31.12.2008);
3. numero capi nati/anno per azienda (consistenze relative all'anno 2008);

Sono stati poi individuati i mattatoi attivi sul territorio toscano che praticano la macellazione dei capi bovini, i consorzi per il comparto carne bovina che insistono sul territorio regionale e che utilizzano un sistema di etichettatura che identifica i tagli commerciali con il numero di marca auricolare (e non con il lotto di animali), considerando le aziende che ad essi afferiscono e le catene di distribuzione.

Dall'analisi congiunta dei dati relativi ai consorzi con quelli estratti dall'anagrafe zootecnica è stato possibile effettuare la seguente stima:

- numero massimo di capi potenzialmente includibili nello studio (tutte le aziende da carne della regione)

- numero di campioni relativi alle sole aziende che aderiscono ai consorzi in cui è già presente una identificazione per capo anche a livello di etichettatura dei tagli commerciali.
- numero di campioni di carne/anno da collezionare per raggiungere una significatività statistica.

3.2. SCELTA DELLA MATRICE BIOLOGICA E CAMPIONAMENTO ANTE-MORTEM

Come è già stato discusso nella fase introduttiva, le matrici potenzialmente utilizzabili sono:

- sangue intero
- pelo con annessi bulbi piliferi
- cartilagine auricolare

Il campionamento ante mortem dovrà interessare tutti gli animali nati nelle aziende incluse nello studio. A prescindere dalla matrice adottata, il campione dovrà essere raccolto al momento della immatricolazione del capo (apposizione della marca auricolare e iscrizione alla BND).

La matrice deve rispondere ai seguenti requisiti:

- Il prelievo deve essere semplice e deve poter essere effettuato anche da personale non veterinario; il materiale prelevato deve poter essere raccolto senza particolari accorgimenti.
- Le modalità di prelievo devono essere tali da minimizzare al massimo eventuali errori di accoppiamento tra campione e capo, pena l'inutilità di tutto il sistema.

- Lo stoccaggio, la conservazione e/o il trasporto devono poter essere effettuati a temperatura ambiente ed in spazi ridotti, senza necessità di strumentazioni particolari, ed in maniera praticamente indefinita.
- E' necessario poter effettuare più estrazioni di DNA e quindi più analisi dal singolo campione.
- Il recupero dei campioni dall'archivio deve essere rapido e semplice, come la consultazione di un catalogo.

La scelta della matrice biologica è stata valutata in relazione alla complessità organizzativa, alle evidenze tecnico-scientifiche già presenti in letteratura per le tre alternative, oltre che in relazione alle possibilità pratiche per il campionamento e l'invio dei campioni al laboratorio.

E' stata inoltre valutata, dal punto di vista logistico e pratico, una possibile soluzione per allestire l'archivio dei campioni pre-mortem.

3.3. CAMPIONAMENTO POST MORTEM: MODALITÀ DI PRELIEVO, TRASPORTO E SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA DEL CAMPIONE

La raccolta di campioni di carne viene effettuato sia al macello che presso i punti di distribuzione. Nello specifico, sono stati valutati i seguenti parametri:

- significatività statistica del campionamento.
- I soggetti coinvolti nei prelievi
- Le modalità di raccolta ed invio al laboratorio

3.4. ELABORAZIONE DI POSSIBILI SOLUZIONI PER LO SVOLGIMENTO DELLE ANALISI BIOMOLECOLARI.

In base alla matrice scelta, è stata valutata una possibile soluzione presente sul mercato e, basandosi sul volume di analisi atteso, è stata valutata l'opportunità di allestire ex-novo un laboratorio presso la Sezione di Firenze dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale.

3.5. SPECIFICHE TECNICHE DEL SISTEMA INFORMATIVO

Sono state delineate le specifiche tecniche del sistema software (SW) idoneo alla gestione del servizio e un possibile soggetto coinvolto nella sua realizzazione.

La procedura SW per la gestione della tracciabilità genetica (nel seguito indicata con la sigla "TraceGen") ha i seguenti obiettivi:

- Gestione dei dati "anagrafici" relativi ai campioni (campioni biologici alla nascita, alla macellazione ed alla distribuzione)
- Gestione degli archivi dei campioni (tricoteca o analoghi archivi di campioni di cartilagine o sangue)
- Gestione degli esami sui campioni (test, date, operatori, risultati, ecc.) con possibilità di estrazione dei dati anagrafici del campione per il successivo trasferimento al Sistema di laboratorio (SIL – Sistema di laboratorio dell'Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana)
- Verifiche di attendibilità, congruità e completezza dei dati sui campioni, attraverso opportune interfacce con basi-dati esterne
- Comunicazioni istituzionali interne e verso Enti/soggetti esterni

- Report e statistiche

3.6. ANALISI DEI COSTI

L'analisi è stata condotta per le singole fasi del processo:

- Realizzazione del SW
- Prelievi ante mortem
- Trasporto
- Stoccaggio dei campioni
- Prelievi post mortem
- Trasporto
- Analisi di confronto

3.7. VALUTAZIONE DEL GRADO DI INTERESSE DELLE AZIENDE PRESENTI SUL TERRITORIO

Al fine di testare sul territorio il grado di sensibilità e di interesse nei confronti della tracciabilità genetica, sono stati interpellati:

- i consorzi attivi sul territorio, mediante intervista
- le aziende zootecniche di bovini da carne attraverso la somministrazione, diretta o telefonica, di un opportuno questionario ad un campione statisticamente rappresentativo.

I questionari somministrati e le interviste sono stati preceduti da una premessa informativa.

Premessa informativa

Per tracciabilità della filiera carne si intende quel processo che segue e documenta le fasi di produzione, dall'allevamento fino alle nostre tavole. La tracciabilità genetica delle carni bovine è uno strumento aggiuntivo per la certificazione di origine e qualità del prodotto. Accanto alla tracciabilità ordinaria, basata sulla marca auricolare, sul passaporto e sui sistemi di etichettatura delle carni, è possibile infatti prelevare DNA da un campione ottenuto dall'animale in vita e confrontarlo con il DNA estratto dalla carne in qualsiasi punto della filiera (macello, punto vendita ecc.). Tale confronto è in grado di garantire inconfutabilmente l'origine della carne, fornendo un'inoppugnabile prova di qualità e sicurezza per il consumatore. Presso la sezione di Firenze dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana è in corso uno studio di fattibilità per la realizzazione di un centro regionale che garantisca a tutti gli operatori di filiera la possibilità di applicare questo tipo di tecnologia alla propria realtà produttiva.

3.7.1 Interviste ai consorzi

Sono stati intervistati i Responsabili dei singoli consorzi (CAF, CCBI, IGP Eti-AIA e Carne Bovina di Pisa), la fine di saggiare le realtà già presenti sul territorio ed il grado di interesse per il sistema che è stato delineato.

3.7.2. Indagine sulle aziende

E' stato scelto un campione di almeno 100 Aziende tra quelle appartenenti a consorzi, alle quali è stato somministrato un questionario. La numerosità del campione è stata stimata mediante il programma di calcolo *StatCalc*[®], contenuto nel pacchetto *EpiInfo*[®] (gentile concessione di M. Mari, OEVR - Osservatorio Epidemiologico Veterinario della regione Toscana – IZS LT, Sez. di Siena).

La popolazione di aziende appartenenti a consorzi (N=650) è stata suddivisa in quattro classi (il più possibile uguali tra loro per numerosità di aziende) in base al numero totale di capi per azienda:

- Classe 1: aziende con effettivo tra 0 e 10 capi (comprende il 22,70% delle aziende)
- Classe 2: aziende con effettivo tra 11e 30 capi (comprende il 29,01% delle aziende)
- Classe 3: aziende con effettivo tra 31 e 60 capi (comprende il 23, 71% delle aziende)
- Classe 4: aziende con effettivo maggiore di 61 capi (comprende il 24, 58% delle aziende)

Il numero di aziende per classe è stato scelto in base alla frequenza cumulativa (% di aziende con un dato numero di capi sul totale):

- Classe 1: 23 aziende
- Classe 2: 28 aziende
- Classe 3: 24 aziende

- Classe 4: 25 aziende

Ai titolari delle singole aziende scelte è stato somministrato il questionario riportato di seguito, o direttamente (zona fiorentina) o mediante intervista telefonica.

1.	Azienda (ragione sociale):..... Cod. Azienda:..... Responsabile/referente <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nome e Cognome ▪ Telefono ▪ E-mail
2.	Adesione a consorzi: <ul style="list-style-type: none"> ○ Eti-AIA ○ CCBI ○ IGP vitellone bianco ○ Carne Bovina di Pisa ○ Cooperativa Agricola Firenzuola (CAF) ○ Altro.....
3.	Tipologia di dispositivi identificativi utilizzati attualmente <ul style="list-style-type: none"> ○ Solo marche ○ Trasponder ○ Identificazione genetica già presente <ul style="list-style-type: none"> ○ Marca auricolare con prelievo di cartilagine ○ Pelo ○ Sangue adsorbito a filtro
4.	Sarebbe interessato all'introduzione della tracciabilità genetica come ulteriore

	<p>certificazione della qualità del Suo prodotto?</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
5.	<p>Quale tipo di campione biologico ritiene più appropriato per la Sua realtà aziendale?</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Marca auricolare con prelievo di cartilagine <input type="radio"/> Pelo <input type="radio"/> Sangue adsorbito a filtro
6.	<p>Quale sistema di raccolta campioni ed invio presso il Laboratorio ritiene più appropriato?</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Consegna diretta alla sede più vicina dell'Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana da parte dell'Allevatore, a cadenze prestabilite (es: una volta al mese) <input type="radio"/> Consegna ai Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali, in occasione delle Loro visite in Azienda per Profilassi di Stato e altre funzioni, i quali a Loro volta provvederanno alla consegna. <input type="radio"/> Coinvolgendo gli operatori dei Consorzi aderenti o operatori APA.
7.	<p>Sarebbe disposto a sostenere i costi delle marche auricolari o di altro dispositivo per il prelievo del campione (il costo massimo previsto è di circa 2,00 euro)?</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
.	<p>Data Compilazione:/...../2009</p> <p>Firma del compilatore.....</p>

4. RISULTATI

4.1. CENSIMENTO DELLE FILIERE CARNE

Gli allevamenti bovini presenti sul territorio toscano nell'anno 2008 ad orientamento carne esclusivo sono 10.558, e 520 ad orientamento misto, per complessivi 11.078 allevamenti totali. Il numero complessivo di capi presenti al dicembre 2008 è di 83.652 per gli allevamenti ad orientamento carne esclusivo, e 11.638 per quelli misti (totale 95.290).

I nuovi nati negli allevamenti da carne sono 17.181, e 3.717 in quelli ad orientamento misto (anno 2008) (Tabelle 2-12).

Tabella 2. Allevamenti bovini per la produzione di carne in Toscana.

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	<i>N.</i>	<i>%</i>	<i>N.</i>	<i>%</i>	<i>N.</i>	<i>%</i>
<i>carne</i>	10.558	95,31%	83.652	87,79%	17.181	82,21%
<i>misto</i>	520	4,69%	11.638	12,21%	3.717	17,79%
tot.	11.078	100,00%	95.290	100,00%	20.898	100,00%

Tabella 3. Arezzo

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
<i>Carne</i>	1.059	77,47%	6.840	41,65%	1.399	30,63%
<i>Misto</i>	308	22,53%	9.581	58,35%	3.169	69,37%
tot.	1.367	100,00%	16.421	100,00%	4.568	100,00%

Tabella 4. Firenze

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
Carne	1.146	98,62%	12.017	99,31%	2.889	99,66%
Misto	16	1,38%	83	0,69%	10	0,34%
tot.	1.162	100,00%	12.100	100,00%	2.899	100,00%

Tabella 5. Grosseto

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
carne	1.734	99,71%	26.635	98,56%	5.841	98,35%
misto	5	0,29%	390	1,44%	98	1,65%
tot.	1.739	100,00%	27.025	100,00%	5.939	100,00%

Tabella 6. Livorno

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
carne	400	96,39%	2.763	93,28%	836	94,25%
misto	15	3,61%	199	6,72%	51	5,75%
tot.	415	100,00%	2.962	100,00%	887	100,00%

Tabella 7. Lucca

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
Carne	2.205	97,44%	4.103	93,23%	497	86,28%
Misto	58	2,56%	298	6,77%	79	13,72%
tot.	2.263	100,00%	4.401	100,00%	576	100,00%

Tabella 8. Massa Carrara

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
Carne	1.614	99,20%	2.174	87,98%	292	74,11%
Misto	13	0,80%	297	12,02%	102	25,89%
tot.	1.627	100,00%	2.471	100,00%	394	100,00%

Tabella 9. Pisa

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
carne	975	98,68%	12.057	99,40%	2.010	98,43%
misto	13	1,32%	73	0,60%	32	1,57%
tot.	988	100,00%	12.130	100,00%	2.042	100,00%

Tabella 10. Prato

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
carne	168	99,41%	566	99,82%	175	100,00%
misto	1	0,59%	1	0,18%	-	0,00%
tot.	169	100,00%	567	100,00%	175	100,00%

Tabella 11. Pistoia

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
Carne	485	95,47%	5.455	96,34%	280	94,59%
Misto	23	4,53%	207	3,66%	16	5,41%
tot.	508	100,00%	5.662	100,00%	296	100,00%

Tabella 12. Siena

Orientamento produttivo	Numero allevamenti (2008)		Effettivo capi (2008)		Nuovi nati (2008)	
	N.	%	N.	%	N.	%
Carne	772	91,90%	11.042	95,68%	2.962	94,88%
Misto	68	8,10%	499	4,32%	160	5,12%
tot.	840	100,00%	11.541	100,00%	3.122	100,00%

In macelli presenti sul territorio toscano sono complessivamente trenta (tabella 13).

<u>DENOMINAZIONE MACELLO</u>	<u>INDIRIZZO</u>	<u>LOCALITA'</u>	<u>COMUNE (PROVINCIA)</u>	<u>CONSORZI</u>
COOP. "IL PRUNETO" A.R.L.	VIA PRUNETO, 28	SAN GIOVANNI VALDARNO	S.GIOVANNI.VA.(AR)	CCBI
MATTATOIO COMUNALE CORTONA SVILUPPO S.R.L.	LOC. OSSAIA	CORTONA	CORTONA (AR)	CCBI
LORENZINI MARIO	VIA DEI LECCI, 28	CIGGIANO	CIVITEL.CH.(AR)	CCBI
COMUNITA' MONTANA VALTIBERINA	VIA SAN GIUSEPPE N.32	SAN SEPOLCRO	SAN SEPOLCRO (AR)	CCBI, CAF
CENTRO CARNI COMPRESORIALE MUGELLO	VIALE DEL PROGRESSO, 15	BORGO SAN LORENZO	BORGO SAN LORENZO (FI)	CCBI
PUBLIMACELLI S.R.L.	VIA LUCARDESE, 14	MONTESPERTOLI	MONTESPERTOLI(FI)	CCBI
BONELLI CARNI E SALUMI S.A.S.	VIA CELLANE, 25	CASTEL DEL PIANO	CASTEL DEL PIANO (GR)	CCBI
MATTATOIO COMUNALE CECINA	VIA CURTATONE, 12	CECINA	CECINA (LI)	CCBI
SOC.COOP.LA.CA.BOI	VIA SOCRATE, N.2	SAN VINCENZO	SAN VINCENZO (LI)	CCBI
MATTATOIO COMUNALE DI PIETRASANTA	VIA DEL MERLINO, 16	LIDO DI CAMAIORE	LIDO DI CAMAIORE(LU)	CCBI
CARNI VAL DI SERCHIO	VIA CIARPI, 54	PORCARI	PORCARI (LU)	CCBI
MATTATOIO PUBBLICO DI VOLTERRA	VIA PORTA DIANA, 2	VOLTERRA	VOLTERRA (PI)	CCBI
CONSORZIO MACELLI SAN MINIATO	VIA GUERRAZZI, 80	LA CATENA	S.MINIATO (PI)	CCBI
COOPERATIVA PISTOIESE SETTORE CARNI A.R.L.	VIA DELL'ANNOA	PISTOIA	PISTOIA (PT)	CCBI
MATTATOIO COMUNALE SIENA	VIALE TOSELLI, 8/10	SIENA	SIENA (SI)	CCBI
MATTATOIO AMIATINO ABBADIA SAN SALVATORE	VIA BOLZANO, 2	ABBADIA SAN SALVATORE	ABBADIA SAN SSALVATORE(SI)	CCBI

AZ.SPECIALE MULTISERV. COMUNE COLLE VAL D'ELSA	VIA F. CAMPANA, 41	COLLE DI VAL D'ELSA	COLLE VAL D'ELSA(SI)	CCBI
COOPERATIVA MACELLAI CASENTINESI - S.C.R.L.	VIA PIEVE	STRADA IN CASENTINO	CASTEL SAN NICCOLO' (AR)	
I.C.A.M. SNC	VIA DEI LAGHI	STIACCIOLE	GROSSETO (GR)	
P.P.M.M. MASSA MARITTIMA	VIA DEL MATTATOIO 1-2-3	MASSA MARITTIMA	MASSA MARITTIMA (GR)	
NUTINI SRL	VIA NAZIONALE 108	CALAVORNO	COREGLIA ANTELMINELLI (LU)	
P.P.M.M. FIVIZZANO	VIA SASSETTO	FIVIZZANO	FIVIZZANO (MS)	
P.P.M.M. PONTREMOLI	PIAZZA DEI MACELLI	PONTREMOLI	PONTREMOLI (MS)	
P.P.M.M. CASTIGLION FIORENTINO	VIA DEI MACELLI 6	CASTIGLION FIORENTINO	CASTIGLION FIORENTINO (AR)	
P.P.M.M. MURLO		VESCOVADO DI MURLO	MURLO (SI)	
P.P.M.M. GAIOLE	VIA DI CASABIANCA	GAIOLE IN CHIANTI	GAIOLE IN CHIANTI (SI)	
P.P.M.M. PIENZA	VIA FONTANELLE	PIENZA	PIENZA (SI)	
P.P.M.M. DAVINI GIUSEPPE		CARPINELLI	MINUCCIANO (LU)	
P.P.M.M. ISOLA GORGONA		ISOLA GORGONA	LIVORNO (LI)	
REALI E CECCHI MATTATOIO CONSORTILE		ISOLA DI CAMPORGIANO	CAMPORGIANO (LU)	

Tabella 13. Macelli bovini

Mediante richiesta diretta ai consorzi o utilizzando i dati pubblicati su internet (www.centrocarnimugello.it; www2.provincia.pisa.it/dati/.../20060217112759_1_27611_946.doc), sono state considerate le aziende aderenti a consorzi. L'elenco completo delle aziende aderenti al consorzio dell'IGP non sono state comunicate per motivi di privacy, ma coincidono all'80% con quelle che fanno capo a CCBI (Tosti E., pers. Comm.); il restante 20% è stato trascurato.

Le consistenze di nuovi nati/anno 2008 per consorzio, ricavati dalla BDN, sono riportate in tabella. Attenendosi a tali stime, l'adesione a consorzi interessa circa il 40% del patrimonio zootecnico regionale (i nuovi nati sono circa il 45% del totale).

Tabella 14. Aziende aderenti a consorzi (valori corretti se l'azienda aderisce a più marchi)

<u>Consorzio</u>	<u>Province</u>	<u>Aziende aderenti</u>	<u>Capi totali (2008)</u>	<u>Nuovi nati/anno 2008</u>
CCBI	Tutte	670	30890	8075
Eti-AIA	Lucca, Pisa	31	2026	432 (368)
CAF	Firenze	72	4566	1438 (1090)
Carne bovina di Pisa	Pisa	21	898	218 (13)
TOT		794 (675)	38380 (35550)	10145 (9546)

4.2. CAMPIONAMENTO ANTE MORTEM

4.2.1 Scelta della matrice biologica più idonea

Tutte e tre le matrici considerate (sangue, pelo con bulbi piliferi e cartilagine auricolare) si conservano a temperatura ambiente per lunghi periodi ed in spazi ristretti, e consentono di effettuare più estrazioni di DNA.

Sangue e pelo possono offrire problemi di associazione tra campione e capo: il rischio di errore –paradossalmente- è pari a quello di apposizione delle etichette sui tagli di carne, dal momento che il campione, una volta raccolto, deve essere contrassegnato con il numero di marca auricolare.

La marca auricolare che preleva il campione in capsule già contrassegnate è infatti il sistema che, a nostro avviso, minimizza il più possibile l'errore di accoppiamento tra capo e campione; inoltre, l'atto del prelievo è più familiare agli allevatori e non comporta manualità "nuove" o aggiuntive, in quanto l'applicazione delle marche rientra tra le routinarie mansioni degli operatori delle aziende. Il prelievo di pelo, inoltre, può generare ulteriori criticità (insufficiente numero di bulbi piliferi, contaminazione con pelo di altri animali soggetti a prelievo subito prima ecc). La marca auricolare con prelievo di cartilagine ha l'inconveniente di limitare il prelievo all'epoca di applicazione della marca; tuttavia, nell'ottica di valorizzare la produzione zootecnica locale, i capi inclusi nel progetto di tracciabilità saranno esclusivamente quelli nati sul territorio regionale, per i quali è possibile effettuare il prelievo alla nascita.

In tale ottica, la cartilagine auricolare prelevata mediante marca risulta essere la matrice più idonea.

4.2.2 Campionamento ed invio al laboratorio

I campioni possono essere prelevati direttamente dagli allevatori al momento della applicazione della marca auricolare, con un'unica manualità e un margine di errore praticamente nullo.

I campioni potrebbero essere inviati ai Servizi Veterinari o alla sezione territorialmente più vicina dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale direttamente dagli allevatori, contestualmente all'invio delle cedole al momento della nascita del capo, qualora l'allevatore non lo registri direttamente in BDN. In alternativa, campioni potrebbero essere raccolti da:

- Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali, nel corso delle Loro normali funzioni (profilassi di stato (DM 651 del 27/08/1994; D.M. 358 del 02/05/1996)) e controlli periodici (Delibera 862 del 26/11/2007 della Regione Toscana).
- Da appositi corrieri di compagnie private, secondo le loro proprie tariffe.
- Da operatori delle APA
- Coinvolgendo gli operatori dei Consorzi aderenti.
- Assunzione di operatori *ad hoc*.

I campioni potrebbero venire recapitati presso le Sezioni dell'IZS LT competenti per territorio e pervenire presso al sede di stoccaggio mediante il servizio di corriere interno.

4.2.3 Archivio dei campioni

I campioni pervenuti vengono identificati con un codice progressivo che ne identifica le coordinate in archivio e registrato mediante opportuno software, acquisendo i dati relativi all'animale campionato direttamente dall' Anagrafe Zootecnica (vedi par. 5).

Le capsule contenenti i campioni (1x2x7 cm) possono essere archiviate a temperatura ambiente, per un tempo praticamente indefinito. Pertanto, possono essere utilizzati, ad esempio, comuni raccoglitori "ad alveare" a parete, dotato cioè di file di cassette, che vengono contrassegnati con coordinate. Nell'ipotesi di 21.000 campioni/anno (vedi par.1), con cassette di dimensione 6x5 cm (profondità 10 cm), è possibile conservare, ad esempio, 10 campioni per cassetto. Con queste assunzioni, l'archiviazione dei campioni richiede uno spazio di circa 7,0mq/anno. Contando un'altezza dello scaffale di 2,30m, occorre uno spazio di circa 3 metri lineari di parete libera. Essendo ogni cassetto identificato con coordinate, che vengono riportate nel sistema informativo in abbinamento al numero del campione conservato, è possibile, attraverso interrogazione del software, ricostruire, per ogni campione, la posizione nell'archivio.

4.3. CAMPIONAMENTO POST MORTEM

4.3.1 Significatività statistica

Il campionamento lungo la filiera carne dovrà interessare sia gli stabilimenti di macellazione sia i centri di distribuzione. In questa fase, al fine di un'analisi routinaria, potrà essere scelto un campione random della popolazione bovina macellata, la cui numerosità deve essere stimata con criterio statisticamente significativo.

La consistenza del campione è stata quindi stimata utilizzando il programma di calcolo *StatCalc*[®], contenuto nel pacchetto *EpiInfo*[®] (gentile concessione di M. Mari, OEVR - Osservatorio Epidemiologico Veterinario della regione Toscana – IZS LT, Sez. di Siena).

Considerando come popolazione quella dei capi da carne nati all'anno (circa 21.000) e come prevalenza attesa quella più alta riportata in letteratura (12%) (Piatti et al., 2003), fissati il livello di confidenza al 99% e l'errore al 5%, considerando una media di circa 100 tagli commerciali per capo (N=2.100.000), la numerosità del campione è stimata ai 280 campioni all'anno (circa l'1,3% dei 20.898 animali nati sul territorio), nell'ipotesi che tutte le aziende zootecniche aderiscano al piano.

Considerando soltanto le aziende appartenenti ai consorzi (N=1.000.000), il numero di campioni – calcolato con il medesimo procedimento- rimane pressoché invariato.

Pertanto, si dovranno raccogliere annualmente almeno 280 campioni provenienti da animali diversi al macello e ulteriori 280 campioni presso i centri di distribuzione, per un totale di 560 campioni di carne da sottoporre ad analisi. Il numero di analisi potrebbe risultare maggiore se si considerano i casi non routinari (contenziosi, richieste extra, ripetizione delle analisi etc.); pertanto, il numero di analisi all'anno è stimata intorno ai 600 confronti (1.200 estrazioni di DNA).

Il campionamento dovrebbe essere distribuito uniformemente nell'arco dell'anno per scongiurare sovraccarichi del sistema.

Pertanto, considerando i 30 macelli presenti sul territorio, ognuno di essi dovrebbe contribuire a raccogliere ed inviare 10 campioni l'anno. Gli altri campioni dovranno essere prelevati alla distribuzione.

4.3.2 Campionamento ed invio al laboratorio

I campioni dovranno essere prelevati ed identificati con il numero di matricola dell'animale riportato sull'etichetta, il punto vendita o il macello e la data di prelievo.

I campioni potrebbero essere prelevati da:

- Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali, nel corso delle Loro normali funzioni ispettive (Delibera 862 del 26/11/2007 della Regione Toscana).
- Da operatori dei Consorzi aderenti.

L'invio dei campioni presso la sede più vicina dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale potrebbe avvalersi di:

- corrieri di compagnie private, secondo le loro proprie tariffe.
- corrieri delle Aziende Sanitarie Locali
- corrieri delle Associazioni Allevatori

4.4 ANALISI BIOMOLECOLARI

La numerosità del campione da sottoporre ad analisi (1.200 estrazioni annue per 600 analisi di confronto) è molto inferiore alla produttività media di un attrezzatura per analisi con Microsatelliti o SNPs. Pertanto non si ritiene giustificato l'allestimento di una nuova unità operativa da dedicare allo svolgimento delle prove presso L'Istituto Zooprofilattico di Firenze (eventualmente, potendosi avvalere della rete di laboratori dell'Istituto

Zooprofilattico Sperimentale di Roma), né di protocolli operativi per le analisi, posto che in questa ipotesi il costo unitario per analisi sarebbe sicuramente superiore alle tariffe di mercato (per i dati di costo confrontare il par.8).

4.5. SPECIFICHE DEL SISTEMA INFORMATIVO

4.5.1 Scenari di utilizzo

La procedura dovrà essere accessibile a più utenti, dislocati in più uffici, nell'assunzione che l'operatività ne richieda l'utilizzo da più postazioni di lavoro.

Inoltre, dovrà consentire anche l'accesso remoto da postazioni geograficamente distanti, anche in considerazione della struttura logistica distribuita degli Istituti Zooprofilattici, almeno per le funzioni di interrogazione di base.

4.5.2 Requisiti

4.5.2.1. Requisiti tecnologici

La procedura dovrà essere basata su tecnologie web e sull'utilizzo di DBMS standard.

Dovranno inoltre essere previste opportune funzioni di Amministrazione di sistema e la possibilità di configurazione delle autorizzazioni per classi di utenti.

Le comunicazioni con sistemi esterni (vedi par. 4.5.2.3) saranno implementate secondo specifiche conformi a quanto richiesto nei vari casi.

4.5.2.2. Requisiti funzionali

La procedura software dovrà consentire di effettuare le seguenti operazioni:

1. acquisizione dei dati anagrafici dei campioni trasmessi dagli operatori che prelevano i campioni in azienda, con importazione automatica ON LINE dei dati da

BDN. In dettaglio:

- selezione del tipo campione da tabella TIPO_CAMPIONE;
- selezione della marca auricolare del capo: verifica della presenza del capo

in BDN:

- presente: acquisizione dei dati anagrafici delle seguenti entità attraverso l'uso di web services: Aziende Allevamenti Persone Capi Movimenti Macellazione
- non presente: registrazione del campione e recupero dei dati anagrafici in un secondo momento (dopo registrazione del capo in BDN).

- selezione del luogo del prelievo:
 - allevamento SI: acquisizione dei dati anagrafici delle seguenti entità attraverso l'uso di web services: Aziende Allevamenti Persone
 - allevamento NO: acquisizione dei dati dalla tabella delle strutture se già presente, oppure inserire la struttura
 - completare con i dati richiesti.

2. attribuzione di un codice univoco progressivo strutturato ai campioni

3. Attribuzione automatica delle Coordinate dell'archivio campioni

4. Gestione delle Anagrafiche degli stabilimenti sede di prelevi (Aziende, Macelli, Centri di distribuzione)
5. Gestione delle tabelle
6. Verifiche di attendibilità, congruità e completezza dei dati sui campioni, attraverso opportune interfacce con basi-dati esterne regionali (Sistema Informativo della Prevenzione Collettiva, introdotto in regione Toscana con Legge 1003/2008) e nazionali (Anagrafe Zootecnica Nazionale). In particolare la procedura consentirà di effettuare le seguenti verifiche:
 - corretta identificazione degli stabilimenti sede di prelievo
 - corretta identificazione dei bovini
 - verifica di copertura (percentuale degli stabilimenti assoggettati al campionamento rispetto al totale dei soggetti aderenti)
7. Ricerca dei campioni su più chiavi (per codice, per posizione in archivio, per azienda, per periodo, per tipo, per prelevatore, per data accettazione, data esame, esito)
8. Report:
 1. Quantità campioni (per tipo, periodo, per azienda, per prelevatore)
 2. Quantità esami effettuati (per tipo campione, periodo, per azienda, ecc.)
 3. Statistiche esiti
 4. Analisi di trend (confronto su periodi : mese, trimestre, semestre, anno, pluriannuali)
 5. Analisi di confronto territoriale (per Regione, Provincia, ASL, distretto)

9. Export delle elaborazioni in ambienti Office e similari

4.5.2.3. Requisiti di integrazione

La procedura dovrà prevedere appositi Moduli di interfaccia con i seguenti sistemi esterni:

1. SIL : dati identificativi dei campioni. TraceGen produce il flusso dati secondo formati accettati dalla funzione SIL “Accettazione da remoto”
2. SISPC (Sistema Informativo Prevenzione Collettiva Regione Toscana) in corso di implementazione:
 - interrogazione sui dati degli stabilimenti per controllo e verifica dei dati sui campioni
 - invio dei dati relativi al profilo genetico dei bovini tracciati geneticamente
3. Anagrafe Zootechnica:
 - interrogazione ON LINE sui dati identificativi dei bovini per controllo e verifica dei dati sui campioni
 - invio dei dati relativi al profilo genetico dei bovini tracciati geneticamente

4.5.3 Strutture dati

I dati acquisiti od inseriti vengono memorizzati in tabelle, la cui relazione, effettuata tramite campi comuni, rappresenta il cosiddetto database. Il database pertanto e' rappresentabile tramite l'elenco delle tabelle, i cui campi consentono di memorizzare

tutti i dati d'interesse. Per la definizione delle tabelle si fa riferimento alle tabelle BDN

(anagrafe zootecnica):

- Aziende
- Allevamenti
- Persone
- Capi
- Movimenti
- Macellazione

- Regioni
- Province
- Comuni
- ASL
- Distretti
- Specie
- Razze

Le tabelle strutturate previste sono le seguenti.

Tabella 15: CAMPIONI

Nome	Tipo	Lunghezza	Descrizione
ID_CAMP	PK		Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
ID_TIPO			Tipo campione – Riferimento alla tabella Tipo Campioni
MARCA	C	14	Codice Bovino –Riferimento all’anagrafica del capo (BDN)
LUOGO_PREL	C	1	Allevamento S/N
ID_ALLEV			Riferimento alla tabella degli allevamenti (BDN)
ID_STRUTTURA			Riferimento alla tabella dei mattatoi, laboratori di sezionamento, ingrosso, dettaglio ecc.
DATA_CAMP	D	8	Data del campionamento
ID OPCAMP			Operatore campionamento – Riferimento alla tabella degli operatori
DATA_ACCETTAZ	D	8	Data accettazione campione
ID_OPACCETT			Operatore accettazione – Riferimento alla tabella degli operatori
COORD_ARCH	C	10	Coordinate archivio campioni

TABELLA 16: RISULTATI

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_RISULTATI			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
ID_LAB			Laboratorio che effettua l'analisi – Riferimento alla tabella laboratori
ID_CAMP1			Riferimento alla tabella dei Campioni
SERV_DIAG1			Numero del servizio diagnosi assegnato dal laboratorio
DATA_ANALISI1	C	8	Data esame
ID_ANALISI1			Riferimento alla tabella delle Analisi
ESITO1	C	20	Genotipo campione
ID_CAMP2			Riferimento alla tabella dei Campioni
SERV_DIAG2			Numero del servizio diagnosi assegnato dal laboratorio
DATA_ANALISI2	C	8	Data esame
ID_ANALISI2			Riferimento alla tabella delle Analisi
ESITO2	C	20	Genotipo campione
Valore_Esito	C	1	S/N

TABELLA 17: ANALISI

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_ANALISI			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
DESCRIZIONE	C	30	Analisi

TABELLA 18: OPERATORI DI CAMPIONAMENTO

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_OPERATORE			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
OP_DESCR	C	30	Nome e Cognome
OP_ENTE	C	30	Ente dell'Operatore
OP_TIPO	C	1	Campionamento/Acettazione

TABELLA 19: LABORATORI

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_LAB			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
DESCR_LAB	C	30	Descrizione laboratorio
IND_LAB	C	30	Indirizzo Laboratorio
ID_COMUNE			Riferimento tabella Comuni
CAP	C	5	Codice avviamento postale

TABELLA 20: STRUTTURE (Macelli, lab. Sezionamento, ingrossi, dettagli ecc.)

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_STRUTTURA			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
TIPO_STRUTTURA			Macello, supermercato, dettaglio ecc. Riferimento alla tabella Tipo_Strutture
CODICE	C	30	
DENOMINAZIONE	C	30	
INDIRIZZO			
ID_COMUNE			Riferimento tabella Comuni
CAP	C	5	Codice avviamento postale

TABELLA 21: TIPO_CAMPIONE

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_TIPO			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
DESCRIZIONE	C	30	Pelo, Cartilagine, Muscolo, ecc.

TABELLA 22: TIPO_STRUTTURE

Nome	Tipo	Lungh	Descrizione
ID_STRUTTURE			Primary key (contatore chiave univoca della tabella)
DESCRIZIONE	C	30	Macello, supermercato, dettaglio, ecc.

4.6 ANALISI DEI COSTI

Si riportano di seguito i costi fissi e variabili del servizio simulando tre ipotesi:

1. adesione di tutte le aziende che, stando ai dati BDN relativi al 2008, registrano almeno 1 nascita in stalla per anno (2500 aziende per un totale di circa 20.000 nuovi nati/anno);
2. adesione di tutte le aziende aderenti a consorzi (650 aziende per un totale di 10.000 nuovi nati/anno);
3. adesione della metà delle aziende aderenti a consorzi, (325 aziende per un totale di 5.000 nuovi nati/anno).

L'analisi economica è basata su un sistema che impiega marche auricolari per il prelievo del campione ante mortem (listino Prionics® per marche TypiFix® per bovini e analisi DNA con microsatelliti). La quotazione del software è stata effettuata sulla base di preventivo emesso da Uniteam srl., società coinvolta nella produzione della maggior parte dei softwares in utilizzo presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana.

E' stato inoltre ipotizzato un sistema di raccolta campioni mediante corriere con prelievi mensili in tutte le aziende (sia stalle che macelli e GDO).

Il numero di analisi annue varia in maniera trascurabile al variare della popolazione considerata nelle tre ipotesi (5000 capi, 10.000 e 20.000), e per questo è stato arrotondato per eccesso e considerato costante (600 confronti cartilagine-carne) (vedi par. 4.3.1).

A nostro avviso, l'ipotesi più plausibile è quella di far ricadere i costi delle marche sui singoli allevatori (circa 2,5 euro a capo, che diventano 1,5 in più di quanto spenderebbero per le marche tradizionali), mentre le restanti voci per i controlli spetterebbero al Servizio Sanitario Nazionale (IZS).

4.6.2 Analisi dei costi nell'ipotesi di 10.000 capi aderenti al progetto

Tabella 24

Costi fissi											
"Costi per sistema informatico e arredi"	Valore a nuovo (Euro)	Valore residuo (Euro)	Durata (anni)	Quota di reintegrazione (Euro)	% manutenzione	costo manutenzione (Euro)	% assicurazione	costo assicurazione (Euro)	% interesse	Costo interesse (Euro)	Costo ann totale (Euro)
Arredi per stoccaggio campioni	1.500,00	-	10	150,00	1,00%	15,00	0,20%	3,00	5,00%	41,25	20
SW applicativo	80.000,00		8	10.000,00	3,00%	2.400,00	0,20%	160,00	5,00%	2.250,00	14.81
Hardware e SW base	4.000,00		8	500,00	3,00%	120,00	0,20%	8,00	5,00%	112,50	74
Totale investimento	85.500,00			10.650,00							15.75
"Uso locali, trasporti e personale"											
	Uso locali e costi energetici (Euro/anno)	Servizi di trasporto (Euro/anno)	Personale (Euro/anno)								
Costi d'uso locali (20 mq)	3.000,00										3,00
Invio campioni da ISZ a laboratorio esterno		500,00									50
Operatore part-time 50%			20.000								20,00
Totale costi fissi annuali											23,50
TOT COSTI FISSI											
											39,25
Costi variabili annui											
	Quantità capi	Quantità aziende	Prezzo Unitario								Prezzo tot
Marca auricolare per prelievo di campione	10.000		2,00								20,00
Marca auricolare tradizionale (altro orecchio)	10.000		0,40								4,00
Contenitori per campioni di carne	600		1,40								8,40
Analisi DNA	1.200		18,00								21,60
Raccolta campioni in stalla e invio IZS	10.000	650	48,00								31,20
Raccolta campioni presso macelli/GDO e invio IZS	10.000	80	48,00								3,84
TOT COSTI VARIABILI ANNUI											81,44
TOTALE SERVIZIO/ANNO											
											120,739
Costo totale per nuovo nato											
											1,75

4.6.3 Analisi dei costi nell'ipotesi di 20.000 capi aderenti al progetto

4.7 VALUTAZIONE DEL GRADO DI INTERESSE DELLE FILIERE

4.7.1 Interviste ai consorzi

Sono stati intervistati i presidenti dei consorzi CCBI (Fausto Luchetti), CAF (Roberto Nocentini), IGP (Paolo Canestrari) e il direttore dell'APA di Pisa (Marco Veronesi) per i sistemi Eti-AIA e Carne Bovina di Pisa. Tutti i consorzi si sono dimostrati interessati al progetto.

Il consorzio CAF, nel richiedere di affiancare l'identificazione genetica con quella elettronica mediante bolo ruminale, ha manifestato interesse, per i capi di razza Limousine iscritti al libro genealogico, di poter apporre due marche per il prelievo di cartilagine: una destinata alla banca dati a supporto della tracciabilità di filiera, l'altra per il centro genetico (ANACLI), con possibile estensione a tutti i bovini Limousine presenti sul territorio Nazionale.

I consorzi CCBI e IGP-vitellone bianco già a tutt'oggi, per i capi di razza Chianina, effettuano il prelievo di campioni di pelo su ogni nuovo nato in numerose aziende; la tricoteca così allestita è già impiegata per garantire la tracciabilità di filiera, soprattutto nella ristorazione e nelle mense scolastiche. Tuttavia entrambi i consorzi si sono resi disponibili ad integrare le rispettive banche dati, in modo da unificare ed ottimizzare il sistema.

4.7.2 Indagine sulle aziende

Le aziende a cui è stato somministrato il questionario sono state nel complesso 114. Di seguito sono riportati i risultati nelle tabelle.

- *Disponibilità ad attivare il sistema ed interesse al progetto*

Tabella 26. Aziende intervistate e grado di interesse per il progetto

Classi	Aziende	Identificazione genetica già presente				Interesse al progetto			
		No		Si (pelo)		No		Si	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Classe 1 (0-10 capi)	23	9	39,13	14	60,87	8	34,78	15	65,22
Classe 2 (11-30 capi)	28	7	25,00	21	75,00	13	46,43	15	53,57
Classe 3 (31-60 capi)	24	9	37,50	15	62,50	12	50,00	12	50,00
Classe 4 (>60 capi)	39	14	35,90	25	64,10	9	23,08	30	76,92
TOT	114	39	34,21	75	65,79	42	36,84	72	63,16

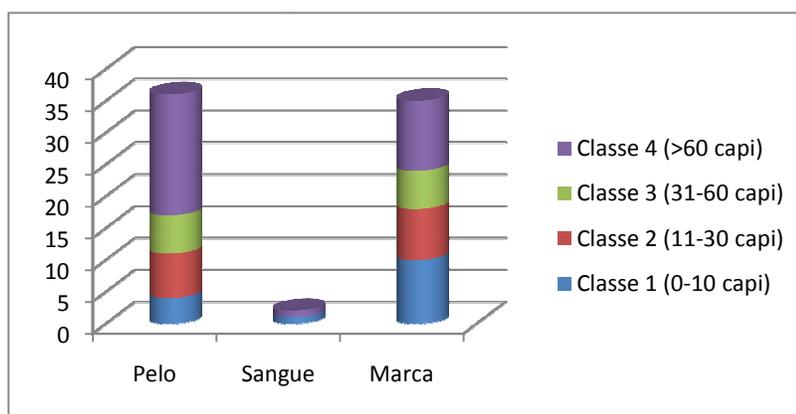
Nel 65,8% delle aziende interpellate è già presente l'identificazione genetica dei singoli capi, ottenuta mediante il prelievo di peli con bulbo pilifero. Tale sistema è inserito nel contesto dei controlli effettuati dal consorzio IGP e riguarda i capi di razza Chianina. Il 63,16% delle aziende si è dimostrato sensibile al problema della corretta tracciabilità di filiera ed è interessato ad introdurre l'identificazione genetica o a mantenerla, nel caso in cui essa sia già presente.

- *Matrice ritenuta più idonea*

Di seguito sono riportati in tabella e sottoforma di grafico i risultati relativi alla matrice ritenuta più idonea; il pelo e la marca auricolare sono percepite come matrici più idonee (rispettivamente 50% e 47,22%).

Classi	Aziende	Pelo		Sangue		Marca	
		N	%	N	%	N	%
Classe 1 (0-10 capi)	15	4	26,67	1	6,67	10	66,67
Classe 2 (11-30 capi)	15	7	46,67	0	0,00	8	53,33
Classe 3 (31-60 capi)	12	6	50,00	0	0,00	6	50,00
Classe 4 (>60 capi)	30	19	63,33	1	3,33	10	33,33
TOT	72	36	50,00	2	2,78	34	47,22

Tabella 27. *Matrice ritenuta più idonea*



- *Modalità di invio dei campioni*

Per quanto concerne le modalità di consegna dei campioni, la maggior parte delle aziende percepisce l'intervento delle APA come soluzione migliore per la raccolta dei campioni.

Tabella 28. Modalità di invio campioni

Classi	Aziende	Operatori APA		Consegna diretta presso IZS		Consegna a veterinario ASL		Corriere IZS "ad hoc"	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Classe 1 (0-10 capi)	15	4	26,67	1	6,67	8	53,33	1	6,67
Classe 2 (11-30 capi)	15	12	80,00	0	0,00	1	6,67	2	13,33
Classe 3 (31-60 capi)	12	9	75,00	0	0,00	1	8,33	0	0,00
Classe 4 (>60 capi)	30	17	56,67	6	20,00	2	6,67	1	3,33
TOT	72	42	58,33	7	9,72	12	16,67	4	5,56

Nell'ipotesi di adottare la marca auricolare come tipologia di campione, solo una piccola percentuale di allevatori (12/72, 16,67%) si è dichiarata disposta ad accollarsi i costi di tali dispositivi.

5. DISCUSSIONE

5.1. TRACCIABILITA' DELLE CARNI BOVINE ATTRAVERSO L'IDENTIFICAZIONE GENETICA: STRUMENTO AGGIUNTIVO COGENTE O VOLONTARIO?

Applicare un sistema di rintracciabilità di filiera sicuro per la carne bovina è ormai un requisito indispensabile. Gli attori della filiera interessati al progetto sono:

- gli allevatori, come strumento aggiuntivo per l'identificazione dei capi allevati e/o destinati alla macellazione. L'istituzione di una banca dati genetica potrà quindi risolvere i problemi identificativi sull'animale in vita, quali perdita delle marche auricolari, avulsione del trasponder, ecc;

- i commercianti e gli intermediari, come strumento sicuro per evitare lo scambio di capi e di carcasse;
- i macellai, per accertare la corrispondenza dei tagli anatomici con i capi acquistati e per fidelizzare i propri clienti;
- i consumatori, per verificare l'attendibilità dei dati esposti nel punto vendita con la carne acquistata;
- le associazioni ed i consorzi, per certificare le proprie procedure di rintracciabilità.

Il sistema pone le basi per un controllo più mirato della tracciabilità di filiera, permette di svelare gli errori di etichettatura e dunque è uno strumento per la verifica dei requisiti previsti dalle normative vigenti in materia. Infatti, laddove non siano rispettate le indicazioni obbligatorie previste negli articoli 13 (par. 2 e 5) e 14 del Reg. CE 1760/2000, si applica il DL.vo n° 58 del 29/1/2004, capo II, art. 5, commi 1 e 2, che prevede sanzioni amministrative pecuniarie da 2.000,00 a 12.000,00 Euro.

L'identificazione genetica, in realtà, non vuole essere un sistema di controllo attraverso il quale possano essere applicate le misure di ritiro dal mercato previste in caso di grave pericolo per la salute umana. Il sistema non deve fornire una risposta in tempo reale: infatti, quando viene effettuato un campione presso il punto vendita, prima che le analisi di laboratorio siano ultimate, la carne potrebbe essere stata già consumata. Inoltre, i campionamenti vengono effettuati con criterio *random* e non su tutti i tagli commerciali. Tuttavia, lo scopo di tale sistema è proprio quello di stimare l'errore medio che si verifica nei vari anelli della catena produttiva, al fine di intervenire con azioni correttive laddove necessario.

L'adozione della tracciabilità genetica può inoltre essere un supporto per filiere certificate con apposito marchio rispondente ad eventuali disciplinari di produzione. Questo

percorso è stato ad esempio attuato nella Regione Piemonte (par. 1.5.7.3), su 22 allevamenti e 10 i punti vendita, per complessivi 6000 capi controllati. I negozi coinvolti hanno esposto un attestato che certifica l'adesione al programma di tracciabilità della carne bovina (http://www.lab-to.camcom.it/Page/t05/view_html?idp=668).



Figura 15. Marchio “DNA tested”

(http://www.lab-to.camcom.it/Page/t05/view_html?idp=668).

5.2. APPLICAZIONE DELLA TRACCIABILITA' GENETICA NELLA FILIERA CARNE TOSCANA: L'IPOTESI ORGANIZZATIVA

- Identificazione dei capi

Il prelievo di peli e l'applicazione della marca con prelievo di lembo auricolare sono soluzioni praticamente equivalenti in termini di percezione da parte degli allevatori (rispettivamente 50% e 48% dei consensi).

Gli operatori delle APA sono riconosciuti dalla maggior parte delle aziende come figure adatte alla raccolta ed all'invio dei campioni all'archivio (vedi par. 5.3).

- Archivio dei campioni

I volumi di attività e la possibilità di conservazione a temperatura ambiente rendono possibile l'allestimento di un archivio efficiente con costi contenuti presso la Sezione di Firenze dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale. Di fondamentale importanza risulta il supporto informatico, per la corretta archiviazione ed il rapido reperimento dei campioni da analizzare.

- Campionamento post mortem

Il campionamento al macello, secondo lo studio effettuato, non rappresenta un volume di attività ampio (circa 10 campioni per macello/anno; par.4.3.1). I campioni potrebbero venire raccolti direttamente al macello dal veterinario ispettore ed inviati insieme al tronco encefalico (destinato ad accertamenti per BSE) del capo corrispondente, a costo praticamente nullo. Anche presso la GDO i prelievi potrebbero essere inseriti nelle attività di sopralluogo svolte dai veterinari delle ASL.

- Analisi biomolecolari

Le analisi biomolecolari per i volumi di attività suggeriti (circa 600 l'anno) potrebbero essere svolte inizialmente presso un laboratorio esterno.

5.3 APPLICAZIONE DELLA TRACCIABILITA' GENETICA NELLA FILIERA CARNE TOSCANA: L'INDAGINE NEGLI OPERATORI DI FILIERA

La maggioranza delle aziende di produzione toscane interpellate (63%) è favorevole alla introduzione di questo sistema di tracciabilità all'interno della propria realtà produttiva: la certificazione dell'origine del prodotto è un obiettivo percepito dalla maggior parte degli allevatori. Il più ampio consenso è stato ottenuto all'interno della classe 4 (77%), che comprende le aziende più grandi e, probabilmente, a spiccata vocazione imprenditoriale. Alcuni consorzi, CCBI e Vitellone Bianco IGP, già applicano un sistema di tracciabilità genetica attraverso la raccolta di peli dai bovini in allevamento eseguita da operatori delle APA. Tale servizio viene percepito come efficiente ed efficace da molti allevatori, laddove le APA sono riconosciute come enti per la raccolta e l'invio dei campioni all'archivio (58%). Per quanto riguarda la matrice da prelevare, l'adozione della marca auricolare con il prelievo di lembo cartilagineo, sembrerebbe costringere l'allevatore a cambiare fornitore delle marche stesse e questo aspetto è da alcuni considerato una complicazione, soprattutto laddove il sistema basato sulla raccolta di pelo è già adottato sebbene, com'è noto, per questa matrice la percentuale di errore di campionamento è molto più alta. Tuttavia, per chi a tutt'oggi non si avvale di un sistema di tracciabilità genetica (ad esempio, l'Associazione Allevatori di Razza Limousine), si preferisce per l'identificazione

dei capi adottare marche auricolari con prelievo di lembo auricolare. La differenza di costo tra la marca tradizionale e quella per prelievo biologico (circa 1,50-2,00 euro/capo) dovrebbe essere coperta da eventuali fonti di finanziamento esterne.

Il campione di sangue utilizzato come matrice non è apprezzato: il prelievo di sangue necessita di un intervento veterinario, comportando quindi un aumento dei costi. A prescindere dal campione adottato, si pone la necessità di integrare gli archivi presenti per non dover effettuare un doppio campionamento sullo stesso animale; pertanto, sarebbe auspicabile stipulare protocolli di intesa con i consorzi di tutela.

5.4 ANALISI DEI COSTI

Il costo complessivo del sistema (comprensivo di: allestimento e gestione dell'archivio, supporto informatico, strutture ed infrastrutture dell'archivio, marche auricolari, raccolta ed invio dei campioni all'archivio, analisi di laboratorio biomolecolari), basandosi sulle simulazioni effettuate, varia da 93.000 a 230.000 €/anno circa, in relazione alla numerosità delle aziende aderenti. In particolare sono state previste tre simulazioni:

- adesione di tutte le aziende con almeno un nuovo nato/anno (2500 aziende per un totale di circa 20.000 nuovi nati/anno), con un costo totale di 233.500 €/anno e di 11,68 €/capo.
- adesione di tutte le aziende aderenti a Consorzi di tutela (650 aziende per un totale di circa 10.000 nuovi nati/anno), con un costo totale di 120.700 €/anno e di 12,07 €/capo.
- adesione di metà delle aziende aderenti a Consorzi di tutela (325 aziende per un totale di circa 5.000 nuovi nati/anno), con un costo totale di 93.100 €/anno e 18,63 €/capo.

I costi potrebbero diminuire sensibilmente se per la raccolta ed il trasporto dei campioni venissero effettuate attraverso un sistema di integrazione tra enti (APA e ASL, i macelli e la GDO). Infatti, i costi di trasporto variano tra i 20.000 €/anno (nell'ipotesi di 5.000 capi) e i 124.000 €/anno circa (nell'ipotesi di 20.000 capi).

6. CONCLUSIONI

Lo studio condotto evidenzia il fabbisogno generale da parte dell'intera filiera della produzione di carne bovina toscana di adottare un sistema di controllo della tracciabilità avvalendosi della genetica. Questo strumento rappresenta un elemento di certificazione di origine del prodotto e dunque di valorizzazione della carne toscana e di fidelizzazione dei clienti che vedrebbero nel sistema maggiori garanzie di sicurezza alimentare dei prodotti acquistati. Punti di forza per attuare questo sistema sono rappresentati da una organizzazione territoriale che fa capo ad Associazioni e Consorzi di produttori e ad una efficiente rete di servizi sanitari che, opportunamente integrati, rappresenterebbero la possibilità di realizzare a tappeto il sistema con costi contenuti. Punti di debolezza sono: la presenza di filiere produttive che già da tempo, a macchia di leopardo, hanno avviato questi sistemi in proprio e che quindi devono essere integrate per evitare duplicazioni inutili; la necessità di ribaltare sulla commercializzazione il valore aggiunto della carne con un marchio "DNA tested". E' tuttavia certo che dall'adozione di un tale sistema migliorano i processi e dunque le garanzie di filiera: dalla nascita del vitello al consumo della carne, intervenendo con azioni correttive a fronte di eventuali criticità. Un'Unità operativa regionale che promuove, realizza e mantiene un sistema di tracciabilità genetica delle carni bovine è dunque attuabile in Toscana con un impatto costo-beneficio favorevole rispetto all'investimento preventivato.

TOSCANA & LIGURIA: CRONACHE

Giovedì 10 marzo 2005

Nuovo progetto per la tracciabilità della carne

Tecnologia a tavola Il Dna certificherà la fiorentina Doc



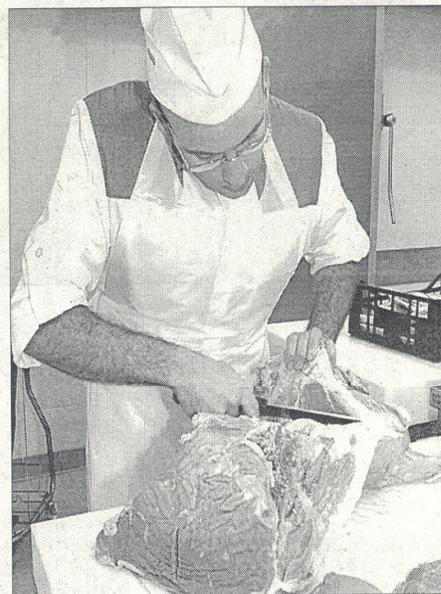
di Sandro Bennucci

FIRENZE — Riconosceremo le mucche toscane attraverso il Dna. Questo ci permetterà di riavere presto, e con tutti i crismi dell'ufficialità, la bistecca alla fiorentina in tavola. La Regione ha deciso di varare un sistema di controllo capace di superare anche gli esa-

L'esame messo a punto accelererà il ritorno della bistecca con l'osso

ra della carne può non fornire garanzie immediate e, soprattutto, i consumatori non possono verificare se la vendita nel negozio al dettaglio comincia il giorno successivo alla macellazione. La normativa prescrive che l'aggiornamento sia fatto entro una settimana. E allora ecco la necessità dello strumento aggiuntivo: la ve-

rifica del Dna. Con cinque obiettivi: 1) tutelare il consumatore attraverso verifiche analitiche inconfutabili prodotte in Toscana; 2) realizzare un osservatorio regionale attraverso l'istituzione di una banca dati sul Dna di bovini integrata con la banca dati nazionale per l'anagrafe bovina; 3) identificare ogni singolo capo



a garanzia di un sistema di filiera; 4) aggiornare la banca dati con integrazioni continue; 5) valorizzare le produzioni locali attraverso una tracciabilità da applicare a marchi che seguono disciplinari precisi.

La Toscana, affermano Rossi e Roggiolani, deve difendere razze pregiate autoctone come

la Chianina per la quale è attivo il riconoscimento comunitario dell'Igp «Vitellone bianco dell'Appennino Centrale». Nel 2001 c'erano, in tutta la regione, 428 allevamenti con circa 18 mila capi, di cui 4000 vacche chianine distribuite prevalentemente nelle province di Arezzo e Siena e in parte nelle province di Pisa e Livor-

7. RINGRAZIAMENTI

L'autore ringrazia:

- **Achille Guastaldi** – Associazione Provinciale Allevatori di Massa e Carrara
- **Claudio Del Re** – Direzione Generale Sviluppo Economico della Regione Toscana
- **Franco Corrias** - Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Sezione di Firenze
- **Marco Veronesi** – Associazione Provinciale Allevatori di Pisa, Lucca e Livorno
- **Massimo Mari** – Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regione Toscana (OEVR)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Sezione di Siena
- **Onelio Baronti** – Direzione Generale delle Politiche di Solidarietà della Regione Toscana
- **Paolo Canestrari** – Consorzio Vitellone Bianco IGP
- **Renato Colafrancesco** – Sistema Informativo dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana
- **Roberto Nocentini** – Cooperativa Agricola Firenzuola
- **Fausto Luchetti** – Consorzio Carni Bovine Pregiate Italiane
- **Flavia Taccori** – Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Sezione di Firenze
- **Isabella Tosti** – Consorzio Carni Bovine Pregiate Italiane
- **Maria Rita Strappatelli** – PRIONICS ITALIA srl.
- **Rossella Benelli** – Associazione Provinciale Allevatori di Firenze e Prato
- **Francesco Di Iacovo** – Facoltà di Medicina Veterinaria – Università degli Studi di Pisa.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Ajmone-Marsan P, Milanesi E, Negrini, R. (2004). Breed traceability using molecular methods. In Proceedings of the *seventh world conference of the Brown Swiss cattle breeders*, 101–104.
2. Arana A, Soret B, Lasa I, Alfonso L. (2002). Meat traceability using DNA markers: Application to the beef industry. *Meat Science*, 61, 367–373.
3. ARSIA (2003). Anagrafe bovina – istruzioni per l'uso. Quaderno ARSIA 1/2003, LCD, Firenze.
4. BarCodes & Identification. GS1. <http://www.ean-int.org>
5. Blend JR, van Ravenswaay EO. (1999). Measuring consumer demand for eco-labeled apples. *American Journal of Agricultural Economics*, 81, 1072–1077.
6. Botta R, Vannozzi J, Aria G. (2008). Patologie esofagee da trasponder ruminale nella pecora. *Praxis Vet* 29: 23-26.
7. Caja G, Ribò O, Nehring R. (1998). Evaluation of migratory distance of passive transponders injected in different body sites of adult sheep for electronic identification. *Livestock Production Science*: 55, 279-289.
8. Capoferri R, Bongioni G, Galli G, Aleandri R. (2006). Genetic control of conventional labeling through the bovine meat production chain by single nucleotide polymorphisms using real-time PCR. *J Food Prot* 69(8):1971-7.
9. Carne Bovina di Pisa.
www2.provincia.pisa.it/dati/.../20060217112759_1_27611_946.doc
10. Colafrancesco R. (2003). Per mangiare sano controlliamo a distanza gli animali.
www.wincat.it/colafrancesco.html

11. Coltelli A. (2004). Le tappe che hanno portato alla rintracciabilità. *Terra e Vita*, 41. Ed. Agricole, 2-6.
12. Commissione europea (1997). “Libro Verde sui principi della legislazione Europea in materia alimentare”.
13. Commissione europea (2000) “Libro Bianco sulla sicurezza alimentare”.
14. Connil C, Caja G, Nehring R, Ribò O. 2000. Effects of injection position and transponder size on the performances of passive injectable transponders used for the electronic identification of cattle. *Journal of Animal Science*: 78, 3001-3009.
15. Cooperativa agricola di Firenzuola. www.centrocarnimugello.it;
16. Cozzi G, Ragno E. (2003). Meat production and market in Italy. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 68(2), 1331–7776.
17. Cunningham EP and Meghen CM. (2001). Biological identification systems: genetic markers. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 20(2), 491–499.
18. D. Lgs n° 58 del 29/1/2004. “Disposizioni sanzionatorie per le violazioni dei Reg CE numeri 1760 e 1825 del 2000, relativi all’identificazione e registrazione dei bovini, nonché all’etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carne bovina, a norma dell’articolo 3 della legge 1marzo 2002, n. 39”.
19. D. Lgs. 109/1992. Attuazione delle direttive (CEE) n. 395/89 e (CEE) n. 396/89, concernenti l’etichettatura, la presentazione e la pubblicità dei prodotti alimentari.
20. Dalvit C, De Marchi M, Cassandro M. (2007). Genetic traceability of livestock products: A review. *Meat Science* 77: 437–449.

21. Dalvit C, Targhetta C, Gervaso M, De Marchi M, Mantovani R, Cassandro M. (2006). Application of a panel of microsatellite markers for the genetic traceability of bovine origin products. In Proceedings of 57th annual meeting of the European association for animal production, 26.
22. DL 26 maggio 1997, n. 155. "Attuazione delle direttive 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l'igiene dei prodotti alimentari"
23. Egozcue J, Lavin P, Soret B, Arana A. (2006). Ox meta traceability: practical implementation using electronic identification and molecular markers. *Options Méditerranéennes, Sereies A*, 141-245.
24. Fallon RJ (2001). The development and use of electronic ruminal boluses as vehicle for bovine identification. *Revue scientifique et Technique*. Vol.20, Issue 2. Office International des Epizooties. Pg. 480-490.
25. Franke BM, Gremaud G, Hadorn R, Kreuzer M. (2005). Geographic origin of meat-elements of an analytical approach to its authentication. *European Food Research and Technology*, 221: 493–503.
26. Garin D, Caja G e Bocquier F. (2003). Effects of small ruminal boluses used for electronic identification of lambs on the growth and development of the reticulorumen. *Journal of Animal Science*, 81: 879-844.
27. Golan E, Krissof B, Kuchler F, Nelson K, Price G. (2004). Traceability in the US food supply: economic theory and industry studies. Agricultural Economic report no. AER830 (pp. 56). *Eshington, DC: Economic research service of the United States department of Agriculture*.

28. Hasker PJS Bassingthwaite J. (1996). Evaluation of electronic identification transponders implanted in the rumen of cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 36: 19-22.
29. Heaton, M. P., Keen, J. E., Clawson, M. L., Harhay, G. P., Bauer, N., Schultz, C., et al. (2005). Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1311–1314.
30. Herraеза, D. L., Schafer, H., Mosner, J., Fries, H. R., &Wink, M. (2005). Comparison of microsatellite and single nucleotide polymorphism markers for the genetic analysis of a Galloway cattle population. *Zeitschrift Naturforschung*, C60(7–8), 637–643.
31. International Organization for Standardization (ISO) (1994). ISO 8402: Quality management and quality assurance – vocabulary. Geneva: ISO.
32. Kerry J. and Ledward D. (2002). Meat processing. Abington, UK: Woodhead Publishing Ltd.
33. Klindtworth M, Wendl G, Klindtworth K, Pirklmann H. (1999). Electronic identification of cattle with injectable transponders. *Comp Elect Agric*, 24: 65-79.
34. Lambooiј E, Van't Klooster CE, Rossing W, Smits AC, Pieterce C. (1999). Electronic identification with passive transponders in veal calves. *Comp Elect Agric*. 24: 81-90.
35. Luini M, Andreoni D, Vezzoli F, Camisasca S, Belloli A, Brugola L. (1996). Localizzazione e recupero al macello di transponders impiantati in vitelli a carne bianca. *La selezione veterinaria*, 1: 1-8.

36. Mackie IM, Pryde SE, Gonzales-Sotelo C, Medina I, Pe´rez- Martin, R, Quinteiro J, et al. (1999). Challenges in the identification of species of canned fish. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 9–14.
37. Marchant J. (2002). Secure animal identification and source verification. *JM Communications*, UK. Copyright Optibrand Ltd., LLC.
38. Marchi E, Ferri N, Comellini F. (2007) Pig identification: comparison of results from injected transponders and electronic ear tags. *Vet Ital* 43 (1): 89-95.
39. Mariani P., Panzitta F, Nardelli Costa J, Lazzari B, Crepaldi P, Marilli M, Fornarelli F, Fusi M, Milanese E, Negrini R, Silveri R, Filippini F, Ajmone Marsan P. (2005). Metodi molecolari per la tracciabilita` dei prodotti di origine animale. In Proceedings of the 4th World Italian Beef Cattle Congress (pp. 297–302).
40. Mauriello G, Moio L, Genovese A Ercolini D. (2003). Relationship between flavouring capabilities, bacterial composition, and geographical origin of natural whey cultures used for traditional water-buffalo mozzarella cheese manufacture. *Journal of Dairy Science*, 86, 486, 497.
41. McAllister TA, Cockwill CL, McDowald J, Yoakum J, Stoddard HL, Tisher D. (1998). Development of an indwelling ruminal transponder for electronic identification of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 76 (1): 277.
42. Meuwissen MPM, Velthuis AGJ, Hogeveen H, Huirne RBM. (2003). Traceability and certification in meat supply chains. *Journal of Agribusiness*, 21(2), 167–181.
43. Opara L, Mazaud F. (2001). Food traceability from field to plate. *Outlook on agriculture*, 30(4), 239–247.
44. Orru` L, Napolitano F, Catillo G, Moiola, B. (2006). Meat molecular traceability: How to choose the best set of microsatellites? *Meat Science*, 72, 312–317.

45. Papa P, Biagetti M, Sebastiani C, Laudisio P, Ghiandoni S, Pezzotti G, Foglini A. (2004). Tracciabilità genetica nella filiera bovina: Short Tandem Repeats (STR) per la verifica del sistema di etichettatura. *Webzine Sanita' Pubblica Veterinaria*, 24 (5).
46. Peelman LJ, Mortiaux F, Van Zeveren A, Dansercoer A, Mommens G, Coopman F, et al. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics*, 29, 161–167.
47. Piatti P, Del Treppo S, Franco G, Varetto L. (2004). Carne bovina del Piemonte: la tracciabilità di filiera garantita dal DNA. *Agricoltura*, 43: 29-32.
48. Pillonel L, Badertscher R, Froidevaux P, Haberhauer G, Holz Horn P, Jakob A, et al. (2003). Stable isotope ratios, major, trace and radioactive elements in Emmental cheeses of different origins. *Lebensmittel- Wissenschaft + Technologie*, 36, 615–623.
49. Ranalli D. 2004. Nei microchip il futuro della tracciabilità. www.pubit.it/sunti/euc040 RFID e lettura a distanza. www.alfi.it/it/faq1.html
50. Reg (CE) 820/1997 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all'etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carne bovina.
51. Reg (CE) N. 854/2004 del parlamento europeo e del consiglio che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano.
52. Reg. (CE) N. 1760/2000. “Sistema di identificazione e di registrazione dei bovini e relativa etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carni bovine”.

53. Reg. (CE) N. 178/2002 “Principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, Autorità europea per la sicurezza alimentare e procedure nel campo della sicurezza alimentare”.
54. Reg. (CE) N. 852/2004 del parlamento europeo e del consiglio sull'igiene dei prodotti alimentari
55. Reg. (CE) N. 853/2004 del parlamento europeo e del consiglio che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale
56. Reg. CE 1760/2000 del Parlamento europeo e del Consiglio che istituisce un sistema di identificazione e di registrazione dei bovini e relativo all'etichettatura delle carni bovine e dei prodotti a base di carni bovine, e che abroga il regolamento (CE) n. 820/97 del Consiglio.
57. RFID. www.uniteam.it/rfid.asp
58. Ribò O, Korn C, Meloni U, Cropper M, De Winne P, Cuypers M. 2001. IDEA: a large-scale project on electronic identification of livestock. *Revue Scientifique et Technique*. 20(2): 426-436.
59. Sancristobal-Gaudy M, Renand G, Amigues Y, Boscher MY, Leveziel H and Bibe´ B. (2000). Tracceabilte´ individuelle des viands bovine a` l’aide de marqueurs ge´ne´tiques. *INRA Production Animale*, 13(4), 269–276.
60. Schwagele, F. (2005). Traceability from a European perspective. *Meat Science*, 71, 164–173.
61. Seideman SC, Koohmaraie M, Crouse JD. (1987). Factors associated with tenderness in young beef. *Meat Science*, 20, 281–291.
62. Smith GC, Tatum JD, Belk KE, Scanga JA, Grandin T, Sofos JN. (2005). Traceability from a U.S. perspective. *Meat Science*, 71, 174–193.

63. Stanford K, Stitt J, Kellar JA, McAllister TA. 2001. Traceability in cattle and small ruminants in Canada. *Revue scientifique et Technique*. 20 (2): 510-522.
64. Vázquez JF, Pérez T, Urena F, Gudín E, Albornoz J, Domínguez A. (2004). Practical application of DNA fingerprinting to trace beef. *Journal of Food Protection*, 67(5), 972–979.
65. Weir BS. (1996). Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. Publishers.