

T~magazine

2° semestre 2022 / Numero 8 - Tentamus Italia



- 1 **Novel food: processo di innovazione per i cibi europei**
Novel food: innovation process for European food
- 2 **Olio EVO, olio VERO?**
EVO oil, TRUE oil?
- 3 **L'allarme dall'industria dell'acquacoltura: la necrosi pancreatica infettiva (IPN)**
The alarm from aquaculture industry: infected pancreatic necrosis (IPN)
- 4 **Alcaloidi dell'ergot**
Ergot alkaloids
- 5 **Il campionamento attivo dell'aria: un test efficace per la salubrità degli ambienti di lavoro**
Active air sampling: a powerful test for the salubrity of workplaces
- 6 **L'importanza della caratterizzazione chimico fisica nei dispositivi medici a base di sostanze**
Importance of the chemical-physics characterization for the substances-based medical devices
- 7 **TENTAMUS IN THE WORLD**
- 8 **L'esperto risponde**
Ask the Expert

“Non so mai cosa rispondere quando mi chiedono: quanti anni hai?

Ho 20 anni almeno 2 ore al giorno, ne ho 7 quando vedo un'altalena o un arcobaleno, ne ho 30 quando faccio progetti e l'orizzonte mi sorride.

Ho 70 anni o forse di più, quando mi sento solo e vorrei tutti al mio fianco... ”

“I never know what to reply when people ask me: how old are you?

I am 20 at least 2 hours a day, I am 7 when I see a swing or a rainbow, I am 30 when I make plans and the future smiles at me.

I am 70, or maybe older, when I feel lonely, and I'd want everyone by my side... ”

(F. Caramagna)

T-Word FOR YOU *(all'ultima pagina troverete gli approfondimenti dei termini evidenziati nel Magazine)*
(on the last page you will find the details of the terms highlighted in the Magazine)

ma[®]ca
by **BolognaFiere**
PRIVATE LABEL CONFERENCE AND EXHIBITION

BOLOGNA
18-19
GENNAIO
2023
19° EDIZIONE

Il Gruppo Tentamus in Italia vi dà appuntamento a
Marca BolognaFiere 2023

I nostri esperti saranno disponibili per incontri dedicati per approfondire le vostre richieste e trovare soluzioni a supporto della sicurezza e della qualità dei vostri prodotti

Pad/Hall 16 - Stand E59

Giorni fa, guardando una serie tv, sono rimasto colpito da un dialogo tra un anziano docente in pensione ed un ventenne visibilmente confuso.

L'insegnante si raccomandava col giovane: *“fatti aiutare, chiedi aiuto se hai bisogno, ma ricordati, non lasciare che nessuno ti racconti il mondo, vivilo, tieni lo sguardo aperto, libero!”*

Già, lo sguardo libero... Provate a pensarci... Almeno due volte al giorno, riuscire a cambiare l'approccio alle cose che affrontiamo, adattandolo all'età che ci fa sentire meglio in quel momento, qualunque essa sia, tenendo lo sguardo libero...

Affrontare un problema, una situazione quotidiana, piccola o grande che sia, pensando di avere 15 anni in più o 25 in meno, con gli occhi liberi da quello che ci preoccupa e che ci ostacola la vista di quell'orizzonte sorridente.

Forse riusciremmo, con maggiore tolleranza e spirito di accettazione, a comprendere e far nostro anche il fare di chi non la pensa come noi.

Vi confesso, comunque, che stavo guardando quella serie tv perché in questo periodo c'è solo quel noiosissimo calcio e a noi i mondiali non interessano, per quello non ci andiamo!

Ecco, invece, questa “cosa” non posso che guardala con i miei occhi. Sì, perché un ragazzo di 15 anni l'Italia ai mondiali non l'ha ancora mai vista... Mentre io, a 12, ero già campione con Paolo Rossi!



Nicola Berruti
Country Manager Tentamus Italia

A few days ago, while I was watching a TV series, I was struck by a dialogue between an elderly retired teacher and a visibly confused 20-year-old boy.

The teacher warned the boy: “Get support, ask for help if you need it, but remember don't let anyone tell you about the world, live it, keep your gaze open and free!”

Yes, the free gaze... Try to think about it... At least twice a day, being able to change the approach to the things we have to deal with, adapting it to the age that makes us feel better at that moment, whatever it may be, and keeping the gaze free...

Addressing a problem, an everyday situation, be it big or small, thinking that we are 15 years older or 25 years younger, with our eyes free from whatever is worrying us and hindering our view of that smiling future.

Maybe we could be able, with greater tolerance and spirit of acceptance, to understand and make our own even the actions of those who do not think like us.

I admit, however, that I was watching that TV series because these days you can only find those boring football matches and we are not interested in the World Cup, that's why we don't go there! Here instead, I can only look at this “thing” with my own eyes. Yes, because a 15-year-old boy has never seen Italy playing at the World Cup... While when I was 12, I already was a champion with the famous football player Paolo Rossi!

Novel food: processo di innovazione per i cibi europei

Dott.ssa Valeria R. Giancotti, Technical Manager di Laemmegroup

Il pomodoro, il re degli ortaggi e delle nostre tavole, battezzato dal pioniere della botanica in Italia Dr. P.A. Mattioli "Mela Aurea" tradotto "pomo d'oro", arrivò in Europa sulle navi dei conquistadores spagnoli nell'anno 1540, ma dovettero passare circa due secoli prima del suo utilizzo in cucina, in quanto, per lungo tempo, fu considerato tossico e poi afrodisiaco. La storia è ricca di esempi di questo genere. Il concetto di Novel Food o "nuovi alimenti" non è, dunque, un concetto nuovo.

Secondo il Regolamento (UE) 2015/2283 relativo ai nuovi alimenti (che modifica il regolamento (UE) n. 1169/2011 del Parlamento europeo e del Consiglio e abroga il regolamento (CE) n. 258/97 del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1852/2001 della Commissione), per "alimenti nuovi" (novel food) si intendono tutti quei prodotti e sostanze alimentari privi di storia di consumo "significativo" al 15 maggio 1997 in UE, e che, quindi, devono sottostare ad un'autorizzazione, per valutarne la loro sicurezza, prima della loro immissione in commercio. In altre parole è da considerarsi "nuovo alimento" qualsiasi cibo che non sia stato consumato in modo rilevante prima di

tale data. La categoria comprende nuovi alimenti, alimenti da nuove fonti, nuove sostanze utilizzate nei prodotti alimentari e nuove modalità e tecnologie per la produzione di alimenti. L'uso di qualsiasi ingrediente nuovo non è ammesso fino a che non riceve una specifica autorizzazione.

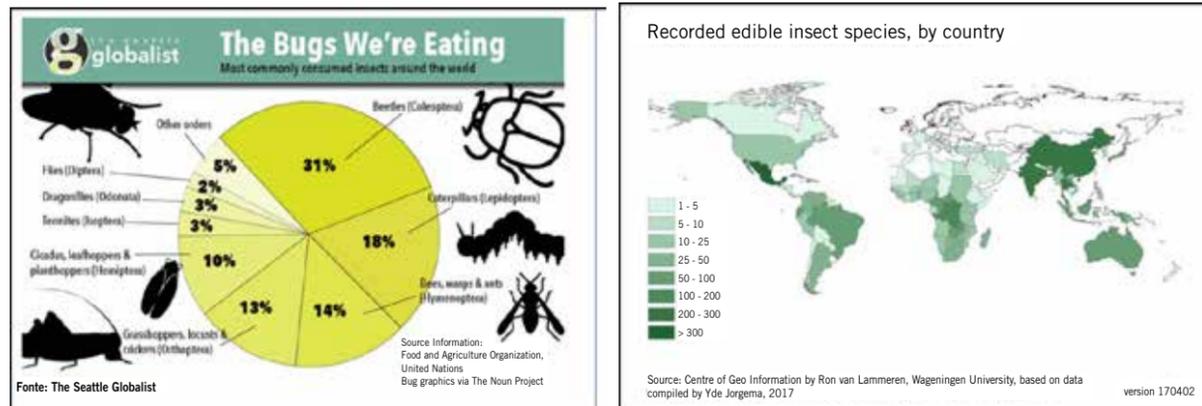
Il principio cardine che guida la legislazione è la **tutela dei consumatori**. L'inserimento di prodotti alimentari nuovi e vantaggiosi è ammesso solo nel pieno rispetto della sicurezza alimentare.

L'accertamento della sicurezza viene fatto dall'**EFSA** che esegue le **valutazioni dei rischi legati alla sicurezza di un nuovo alimento su richiesta della Commissione Europea**. La Commissione Europea suc-

cessivamente, valutato il rischio associato, rilascia l'autorizzazione come *novel food* per l'inserimento di tale sostanza nell'elenco comunitario (*Union list*) assieme al suo fascicolo, comprendente tutte le specifiche previste, le dosi, le caratteristiche, ecc. Secondo l'EFSA si stanno delineando nuove tendenze in questo ambito; l'interesse per il *novel food* è incessante, oltretutto ragionevole, se si pensa che nel 2010 eravamo 6.9 miliardi di persone, nel 2030 ci saranno 8.5 miliardi per poi superare i 9 nel 2050. Una delle maggiori sfide è trovare cibo a sufficienza ed in modo sostenibile. Ecco che, oramai da qualche anno, si comincia a parlare, ad esempio, di proteine di origine non animale come piante e alghe e di **proteine alternative di origine animale rappresentate** dalla carne artificiale e **dagli insetti**.

Secondo gli esperti alimentaristi e nutrizionisti di tutto il mondo, gli insetti, come *novel food*, potrebbero diventare il cibo del futuro. Secondo la FAO più di **2 miliardi di persone in paesi extra UE fanno già uso di insetti** e le specie commestibili in commercio sono oltre 1.900.

Che posizione ha l'Europa rispetto agli altri paesi del mondo? Il primo parere favorevole per l'immissione sul mercato degli insetti ad uso alimentare è arrivato poco più di un anno fa. Dal secondo semestre 2021, fino ad oggi, la Commissione Europea ha autorizzato la commercializzazione delle seguenti specie: **Tenebrio molitor (larva gialla della farina)**, **Locusta migratoria**, **Acheta domesticus (grillo domestico)** in varie forme, come ad esempio congelati, essiccati e/o in polvere, sotto forma di snack e



INSETTI NEL MONDO (Fonte: [Insetti per alimenti e mangimi \(fao.org\)](http://insetti.per.alimenti.e.mangimi(fao.org))

N°: +1900 insetti commestibili/1 mln di specie conosciute.

Insetti di maggior consumo: coleotteri, farfalle e falene, api, vespe e formiche, cavallette, grilli.

Paesi entomofagi: Africa, America, Asia

Ricchi di: proteine, vitamine e amminoacidi

Allevamento: in alta densità con un ridotto fabbisogno di spazio. Possibile allevamento su rifiuti organici; ecosistema pulito.

INSECTS IN THE WORLD (Source: [Insects for food and feed \(fao.org\)](http://insects.for.food.and.feed(fao.org))

No. +1900 edible insects/1 million of known species

Most consumed insects: beetles, butterflies and moths, bees, wasps and ants, grasshoppers, crickets.

Entomophagous Countries: Africa, America, Asia

Rich in: proteins, vitamins, and amino acids

Growing: at high density with reduced space requirements. Possible growing on organic waste: a clean ecosystem.



come ingrediente alimentare in una serie di prodotti alimentari. Il consumatore avrà così modo di visualizzare la presenza del nuovo alimento direttamente nella lista degli ingredienti che compongono il prodotto alimentare. **Gli insetti commestibili contengono proteine, vitamine e amminoacidi di alta qualità** per l'essere umano, paragonabili a quelle fornite dalla carne e dal pesce; posseggono, inoltre, un alto tasso di conversione alimentare, ad esempio i grilli hanno bisogno di molto meno mangime rispetto ai bovini. Alla luce di tutte queste considerazioni, superato lo scoglio legislativo riguardo la tranquillità di poter mangiare insetti, quali cibi sicuri, e preso atto che mangiare insetti permette di assumere nutrienti di alta qualità, rimane lo scoglio del **pregiudizio culturale**. Secondo studi di letteratura questo pregiudizio è molto forte in Italia e secondo alcuni l'**entomofagia** potrebbe "presto" radicarsi anche nella cultura occidentale. D'altronde abbiamo assistito al medesimo scenario anche nei confronti del pesce crudo, presente ad oggi, sulle nostre tavole.

Oltre alle proteine e ai lipidi, un altro prezioso nutriente prodotto dagli insetti è la **chitina**, secondo polimero più abbondante al mondo dopo la cellulosa; si tratta di una fibra insolubile, ritro-

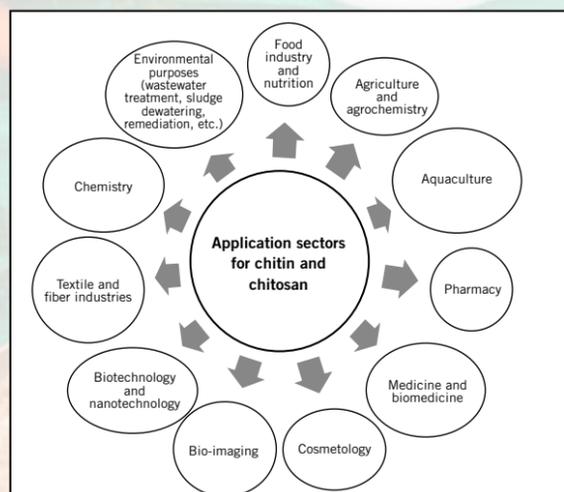
vata in vari organismi viventi come ad esempio gamberi, granchi tartarughe, nelle pareti cellulari dei funghi, nelle strutture interne degli invertebrati e nell'esoscheletro degli artropodi. Nonostante i numerosi benefici funzionali associati alla chitina (agente prebiotico, antimicrobico, antivirale e antimicotico), è stata spesso stigmatizzata come fattore antinutrizionale e classificata semplicemente come fibra non digeribile. Al contrario, altri studi hanno dimostrato che può essere impiegata direttamente come mangime per animali, come nei pesci, ma anche nell'uomo dato che sono in grado di degradare la chitina attraverso enzimi chitinolitici. Chitosano e COS (Chito Oligo Saccaride) sono i prodotti finali, prebiotici riconosciuti con molteplici proprietà nutraceutiche.

La necessità della determinazione analitica della chitina non è solo funzionale, ma anche obbligatoria in quanto normata. Risulta essere un parametro di specifica regolamentato con un range di presenza definito al pari, ad esempio, delle proteine.

In letteratura sono presenti differenti approcci analitici. Le fasi estrattive riguardano la demineralizzazione e la deproteinizzazione tramite approccio chimico o biologico con microrganismi ed enzimi. Il contenuto presente viene poi determinato gravimetricamente come differenza tra la frazione di fibra acido detersa e la frazione di lignina acido detersa (ADF-ADL), unico riferimento presente nel Reg. 1169/2022, o mediante osservazione al microscopio a fluorescenza o ancora tramite idrolisi in glucosammina e rilevazione in HPLC-FLD o HPLC-MS.

Allo stato attuale sembra essere ancora un'analisi di nicchia ed i pochi attori coinvolti, qualora presenti, non possono far riferimento ad alcun metodo ufficiale che armonizzi i risultati.

Il laboratorio Laemmegroup ha avviato un processo di studio e di sviluppo del metodo analitico volto a soddisfare richieste sempre più numerose.



Application sectors for chitin and chitosan
Errico et al. 2018 DOI: 10.1111/1541-4337.12863

Novel food: innovation process for European food



Dr. Valeria R. Giancotti, Technical Manager at Laemmegroup

Tomato, the king of vegetables and of our tables, called by the Italian botanical pioneer Dr. P.A. Mattioli "Mela Aurea", and translated as "golden apple", arrived in Europe on the ships of Spanish conquistadors in 1540. Two other centuries had to pass before it was used in cooking, as for long time it was considered toxic and aphrodisiac. The history is full of similar examples. The Novel Food concept so, is not a new concept.

According to the Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council of 25 November 2015 on novel foods, amending Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council and repealing Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council and Commission Regulation (EC) No 1852/2001, "novel food" means any food that was not used for human consumption to a significant degree within the Union before 15 May 1997, and that must be subject to an authorisation to assess its safety, before it is placed on the market. **In other words, any food which has not been significantly consumed before that date is to be considered a "novel food"**. The category covers new foods, food from new sources, new substances used in food, as well as new ways and technologies for producing food. The use of any new ingredient is not allowed until a specific authorisation is received.

The basic principle guiding the legislation is the consumer protection. The placement of novel and beneficial food is allowed only with full respect of food safety.

EFSA performs the assessment of food safety. **EFSA performs risk assessments on the safety of a novel food upon request by the European Commission.** Next, the European Commission, after the assessment of the associated risk, issues the authorisation as a novel food to include that substance in the Community list (Union list), together with its dossier including all required specifications, doses, characteristics, etc.

According to EFSA, new trends are delineating in this field. Interest for novel food is endless, as well as reasonable, if one thinks that in 2010 there were 6.9 billion people, in 2030 there will be 8.5 billion people, to exceed 9 billion people in 2050. One of the biggest challenges is to find enough food in a sustainable way. For some years now, people have been talking, for example, about proteins of non-animal origin such as plants and algae, and of **alternative proteins of animal origin** such as artificial meat and insects.

According to food and nutrition experts all over the world, insects, as a novel food, could become the food of the future. According to FAO, **more than 2 billion people in extra-EU countries already eat insects**, and marketed edible species are more than 1900.

What does Europe think compared to other countries in the world? The first favourable opinion for placing on the market insects for human consumption arrived just over a year ago. Since the second semester 2021 until now, the European Commission authorised the marketing of the following species: **Tenebrio molitor** (yellow mealworm beetle), **Locusta migratoria**, **Acheta domesticus** (garbage cricket) in various forms, such as frozen, dried and/or powdery in the form of snacks and as a food ingredient in several food commodities. The consumer will thus be able to see the

novel food directly in the ingredient list of the food product.

Edible insects contain high quality proteins, vitamins, and amino acids for humans comparable to those provided by meat and fish. They also have a high food conversion rate: for example, crickets need much less feed than cattle.

In view of all these considerations, once overcome the legislative obstacle of being able to eat insects as safe food and having acknowledged that eating insects allows to assume high-quality nutrients, the hurdle of **cultural prejudice** remains. According to literature studies, this prejudice is very strong in Italy, and according to some people, **entomophagy** could "soon" take root also in Western culture. On the other hand, we witnessed the same scenario with regard to raw fish, that is now present on our tables.

In addition to proteins and lipids, another valuable nutrient produced by insects is the **chitin**, the second most abundant polymer in the world after cellulose. It is an insoluble fibre. It has been found in various living organisms such as shrimps, crabs, turtles, in fungi cell walls, in the internal structure of invertebrates, and in the exoskeleton of arthropods. Despite the numerous functional benefits associated with the chitin (prebiotic agent, antimicrobial agent, antiviral, and antimycotic), it has often been stigmatised as an anti-nutritional factor and simply classified as a non-digestible fibre. On the contrary, other studies have demonstrated that it can be employed directly as an animal feed, as for fish, but also for human, since they both are able to degrade chitin through chitinolytic enzymes. Chitosan and COS (Chito oligosaccharide) are the final products: acknowledged prebiotics with several nutraceutical properties.

The need for the analytical determination of chitin is not only functional, but also mandatory as it is regulated. It is a regulated specification parameter, with a range of occurrence defined as for proteins.

In literature several analytical approaches are present. The extraction phases relate to demineralization and deproteinization through a chemical or biological approach with microorganisms and enzymes. The content is then calculated either by gravimetry, as the difference between the fraction of acid-cleaned fibre and the fraction of acid-cleaned lignin (ADF-ADL) - the only reference in Reg. 1169/2022 - or by observation by fluorescence microscopy, or even by hydrolysis in glucosamine and detection with HPLC-FLD or HPLC-MS.

At present it still seems to be a niche analysis, and the few actors involved, if any, cannot refer to any official method to harmonise the results.

The Laemmegroup laboratory has started a process of study and development of the analytical method to satisfy the ever-increasing demands.

Olio EVO, olio VERO?

Dott. Bruno Silverio, Technical Manager del Centro Analisi C.A.I.M.

L'olio extravergine di oliva è uno tra gli alimenti che più è a rischio contraffazione, principalmente a causa del fatto che le frodi su questo tipo di alimento sono tra le più remunerative.

Il costo medio per la produzione di un buon olio extravergine d'oliva italiano, riconosciuto come qualitativamente migliore rispetto agli altri competitor internazionali, è nettamente maggiore rispetto a quello di altri paesi comunitari ed extracomunitari. Infatti, le pratiche agricole che contraddistinguono questo prodotto prevedono l'esecuzione della raccolta nella prima fase di invaiatura delle olive e di effettuare una rapida frangitura, prima che inizino i processi fermentativi naturali.

Considerando inoltre che la resa è relativamente bassa, circa il 15-18%, queste pratiche comportano un costo medio di produzione elevato, di circa 6 euro al litro, secondo i dati pubblicati da Ismea nel 2021.

Le principali pratiche di contraffazione prevedono la miscelazione di quantità variabili di olio extravergine di oliva con altri oli di diversa natura e di minore qualità come, per esempio, oli lampanti o di sansa raffinati e deodorati, olio di semi di girasole ad alto contenuto di acido oleico, oli di semi raffinati, colorati con clorofilla e insaporiti con betacarotene e oli di origine e nazionalità diversa rispetto a quanto dichiarato.

Alcune di queste modalità di contraffazione sono difficilmente identificabili mediante l'applicazione delle più comuni tecniche analitiche, come la de-

terminazione dell'acidità, del numero di perossidi o dalla composizione degli acidi grassi. Questo perché i processi di raffinazione agiscono proprio sull'attenuare i difetti determinabili mediante l'esecuzione di queste analisi.

L'analisi spettrofotometrica nell'ultravioletto, nel contempo, è una tecnica analitica che consente, in primo luogo, di valutare la qualità dell'olio e del suo stato di conservazione.

Il superamento dei limiti imposti dal Reg. CE 2568/91 e s.m.i., per questo tipo di analisi, può, però, anche essere indice di un possibile processo di raffinazione eseguito sul campione analizzato, aprendo quindi alla possibilità che l'olio in questione sia stato sofisticato.

Quest'analisi, però, non è specifica e il superamento dei limiti imposti, come anticipato, può essere soltanto indice di una scarsa qualità dell'olio, anche se non contraffatto.

Per questo motivo, è possibile applicare tecniche analitiche finalizzate alla determinazione di molecole o gruppi di molecole che consentono di identificare questo tipo di contraffazioni.

Tra queste molecole troviamo per esempio gli *Stigmastadieni*. Tali idrocarburi, per i quali è ammessa una concentrazione massima negli oli di oliva vergini di 0,05 mg/kg, sono presenti principalmente in oli vegetali raffinati di oliva, sansa, girasole, palma, ecc.

Pertanto la sua determinazione, che avviene mediante analisi gascromatografica previa estrazione e purificazione degli stessi, a concentrazioni maggiori del limite di legge, consente di confermare se uno specifico olio di oliva vergine contenga tracce più o meno consistenti degli oli raffinati elencati.

Un altro metodo volto a verificare la presenza di tracce di oli di semi in qualsiasi tipo di olio d'oliva consiste nella determinazione della *Differenza tra il contenuto effettivo e il contenuto teorico di triacilgliceroli con ECN42*. Il metodo consiste nel confronto tra le concentrazioni sperimentali e teoriche di triacilgliceroli (più comunemente conosciuti come trigliceridi) determinate con due tecniche analitiche diverse. Negli oli di oliva puri tale differenza si avvicina allo zero. Invece la presenza di oli di semi, ricchi di acido linoleico, porta alla determinazione di differenze più importanti e maggiori dei limiti imposti dalla normativa di riferimento.

Esiste poi l'*analisi sensoriale*, realizzata da un panel di assaggiatori debitamente formati, che consente

di verificare la presenza e l'entità dei difetti principali associati agli oli andando a confermare o meno l'effettiva categoria di appartenenza di un olio d'oliva (extravergine, vergine, lampante, ecc.). In questo caso oli non realmente extravergini, ma frutto di una miscelazione con altri tipi di oli, difficilmente potranno essere valutati positivamente dal punto di vista del profilo organolettico.

Infine, è possibile indagare la freschezza di un olio d'oliva al fine di verificare se un olio definito "nuovo" o "novello" lo è veramente o se è frutto di una miscelazione di olio nuovo con olio di annate produttive precedenti. Per questo tipo di indagine è possibile determinare la composizione di *1,2-digliceridi* e *1,3-digliceridi*, i quali sono in rapporto di circa 1:2 quando l'olio è nuovo, mentre in un olio vecchio il rapporto va a spostarsi verso concentrazioni maggiori di 1,3-digliceridi.

A tale scopo inoltre è possibile determinare la concentrazione della *Pirofeofitina A*, prodotto di degradazione della Clorofilla, che in un olio nuovo avrà una concentrazione molto bassa, la quale però andrà ad aumentare con il passare del tempo.

Se la contraffazione di un olio extravergine di oliva non è particolarmente complessa, non è invece altrettanto semplice individuarla.

L'esecuzione di tecniche mirate come quelle descritte, accompagnate da una gestione ottimale delle buone pratiche di laboratorio, possono però portare ad ottimi risultati d'indagine, finalizzati a preservare quello che, sicuramente, è uno dei prodotti più importanti del nostro territorio.



EVO oil, TRUE oil?

Dr. Bruno Silverio, Technical Manager at Centro Analisi C.A.I.M.



The extra-virgin olive oil is one of the food most at risk of counterfeiting, mainly because frauds on this kind of food are among the most rewarding.

The average cost to produce a good Italian extra-virgin oil, which is recognised as qualitatively better as compared to other international competitors, is significantly higher than in other EU and non-EU countries. In fact, the agricultural practices that characterize this product include performing the collection in the first phase of olive ripening and a fast milling (before the natural fermentative processes begin).

Considering then that the yield is relatively low, about 15-18%, they result in a high average cost of production, of about 6 euro per litre, according to data published by Ismea in 2021.

The main counterfeiting practices include mixing varying amounts of extra-virgin olive oil with other oils of different nature and lower quality as, for example, refined and deodorized lampante oils or olive-pomace oils, high oleic sunflower oil, refined seeds oil, coloured with chlorophyll and flavoured with beta-carotene, and oils of different origin and nationality than declared.

Some of these counterfeiting modes are hardly detectable with the application of the commonest analysis techniques, such as the acidity content, the peroxide index, or from the fatty acids' composition. This is because the refining processes act precisely on reducing defects that are detectable by these analyses.

The UV spectrophotometric analysis, meanwhile, is an analytic technique allowing, first, to assess oil quality and its preservation status.

Exceeding limits imposed by Reg. EC 2568/91 as amended, however, for this kind of analysis can also be a sign of a possible refining step, performed on the analysed sample, so there is the possibility that the oil has been adulterated.

This analysis, though, is not specific and exceeding the imposed limits, as said before, can just be the sign of a poor quality of the oil, even if it has not been adulterated. For this reason, it is possible to use analytical techniques aiming to detect molecules or groups of molecules allowing to identify this kind of counterfeiting.

Among these molecules we can find, for example, stigmastadienes.

These hydrocarbons, for which a 0.05 mg/kg maximum concentration in the virgin olive oils is permitted, are mainly present in refined vegetal oils of olive, pomace, sunflower, palm, etc.

Therefore, their detection, which is performed by gas chromatographic analysis after extraction and purification thereof, at concentrations higher than law limits, allows to confirm whether a specific virgin olive oil contains more or less abundant traces of the listed refined oils.

Another method to check the presence of seed oils traces in any kind of olive oil consists in the detection of the Difference between the triacylglycerol's real content and the theoretical content with **ECN42**. The method consists of the comparison between experimental and theoretical concentration of triacylglycerols (commonly known as triglycerides) detected by two different analytical techniques. In pure olive oils this difference gets close to zero. Instead, the presence of seed oils, rich in linoleic acid, leads to the detection of more significant differences, higher than normal limits.

We can then list the sensory evaluation, performed by a panel of properly trained tasters, that allows to check the occurrence and the amount of the main oil-associated defects, and to confirm or deny the real category of the olive oil (whether extra-virgin, virgin, lampante, etc.). In this case, oils that are not really extra-virgin, but deriving from a mixing with other oils, will hardly receive a positive evaluation as for organoleptic profile.

Finally, it is possible to assess the freshness of an olive oil, to verify whether it is really a so-called "new" or "novel" oil, or it derives from a mixing of a novel oil with oil of previous harvests. For this kind of detection, one can calculate the composition of 1,2-diglycerides and 1,3-diglycerides, that are in a 1:2 ratio when the oil is a novel oil. On the contrary, in an "old" oil this ratio goes towards higher concentrations of 1,3-diglycerides.

For this purpose, it is also possible to calculate the concentration of Pyropheophytin A, a degradation product of chlorophyll, that in a novel oil will be present in a very low concentration, while this concentration will increase during time.

While the counterfeiting of an extra-virgin olive oil is not particularly difficult, it is not so easy to detect it.

Performing focused techniques as the ones described before, together with a great management of good laboratory practices, however, can lead to optimum results, aiming at safeguarding what is surely one of the most important products for our territory



L'allarme dall'industria dell'acquacoltura: la necrosi pancreatica infettiva (IPN)

Dott. Claudio Salaris, Microbiology Analyst di Renolab

Il *virus della necrosi pancreatica infettiva* (IPNV) è l'agente eziologico di una delle più importanti malattie virali nei salmoni d'allevamento. La sua elevata contagiosità e l'elevato tasso di mortalità (specialmente tra gli esemplari giovani), provoca gravi perdite economiche nell'industria dell'acquacoltura. L'agente patogeno non costituisce un pericolo per l'uomo, sebbene provochi importanti evidenze cliniche nei pesci. Gli animali affetti compiono movimenti natatori scoordinati, presentano una colorazione scura e un rigonfiamento del ventre. Le lesioni che si manifestano, possono consistere in: ulcere nel pancreas, danni al tessuto epatico, necrosi nella mucosa intestinale nell'esofago e nello stomaco. Durante un'epidemia di IPN, i tassi di mortalità possono variare dal 10% a quasi il 100%; queste differenze sono riconducibili alle specie ittiche, all'età dei pesci, alle condizioni fisiologiche e persino alle caratteristiche genetiche degli individui.

La malattia rappresenta un grave e crescente problema economico per gli allevamenti, sia a causa dell'elevata mortalità sia per i costi delle misure di controllo e prevenzione da applicare in allevamento.

CONTAGIO E DIFFUSIONE

Il principale mezzo di contagio sono i pesci infetti, i sopravvissuti all'infezione diventano portatori asintomatici del virus, anche per anni, fungendo da serbatoi e permettendo, così, la diffusione attraverso l'acqua. L'agente patogeno è in grado di instaurare infezioni persistenti nell'ospite, riuscendo a moltiplicarsi all'interno delle uova per poi trasmettersi agli avannotti. Le condizioni ambientali più importanti che influenzano la diffusione della malattia sono legate alla gestione umana, nello specifico alla manipolazione e alla densità della popolazione ittica nell'impianto. Le alte densità di pesce favoriscono la trasmissione e l'evoluzione del virus a ceppi maggiormente virulenti. È noto che la specie più suscettibile è il salmone Atlantico, ma pratiche come la co-cultura determinano la trasmissione del virus tra specie diverse (trota iridea).

CONTROLLO E PREVENZIONE

L'acquacoltura è un'importante fonte di nutrizione e reddito per centinaia di milioni di persone in tutto il mondo. Sono, per questo necessarie, delle regolamentazioni e implementazioni di strategie di biosicurezza:

- ✓ Sorveglianza e monitoraggio degli stock selvatici e di allevamento;
- ✓ Disinfezione di aree/aziende produttive in base al loro livello o rischio;
- ✓ In caso di focolaio eliminazione degli stock infetti e sterilizzazione delle strutture aziendali interessate.

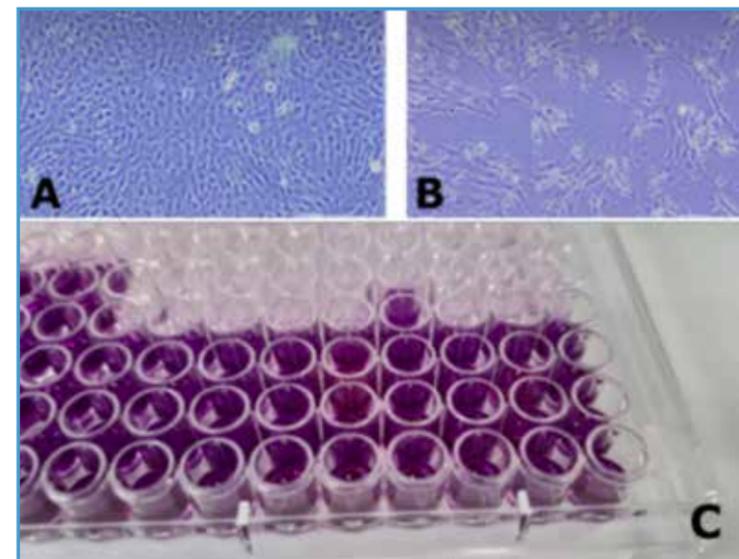
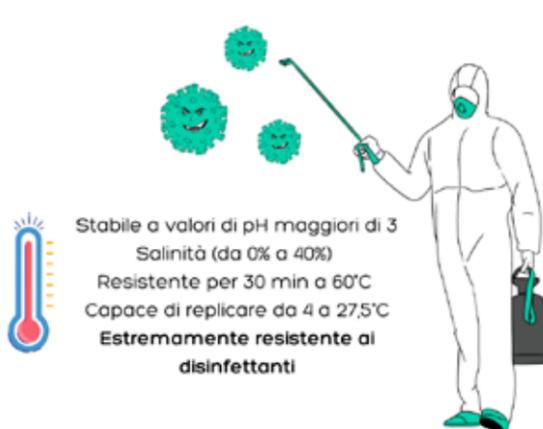


Figura 1. A: Linea cellulare immortalizzata BF-2-CCI-91; **B:** Effetto citopatico indotto dall'infezione con IPNV; **C:** Titolazione virale tramite metodo TCID₅₀.

Figure 1. A: Immortalized cell line BF-2-CCI-91; **B:** Cytopathic effect induced by infection with IPNV; **C:** Viral titration by TCID₅₀ method.

VALIDAZIONE DELL'AZIONE VIRUCIDA

Renolab disponendo di un *laboratorio di biosicurezza di classe 2* (BSL-2) associato a una consolidata esperienza nel campo dei test di efficacia, è in grado di valutare l'azione virucida di principi attivi adoperati nell'acqua coltura. I test *in-vitro* per la valutazione dell'attività virucida su IPNV vengono allestiti utilizzando i ceppi di riferimento:

- ✓ Linea cellulare immortalizzata BF-2 (ATCC - CCL-91), ottenuta dal pesce d'acqua dolce Bluegill originario del Nord America;
- ✓ *Virus della necrosi pancreatica infettiva* (IPNV) (ATCC-VR-1322).

La linea cellulare sopra menzionata è estremamente permissiva all'infezione da IPNV; in questo modo, è possibile amplificare il virus e conseguentemente ottenere lo stock virale.

Il virus prodotto viene messo a contatto con le formulazioni sotto esame, combinando le necessità che il cliente si aspetta per l'utilizzo finale del suo prodotto e gli obblighi che derivano dalle normative, con l'obiettivo di mimare le condizioni pratiche di applicazione del prodotto (tempo di contatto, temperatura, sostanze interferenti, diluizione finale del prodotto in acqua).

In seguito al contatto *Virus-Prodotto*, il campione viene inoculato su un monostato della linea cellulare BF-2 per circa 10 giorni. La quantificazione del titolo infettivo residuo viene eseguita valutando l'effetto citopatico provocato dal virus sulle cellule ospiti; questo è possibile grazie all'applicazione del metodo Spearman-Kärber, che permette di calcolare il TCID₅₀ (quantità di virus in grado di distruggere o causare effetto citopatico nel 50% della coltura cellulare) (fig. 1). La riduzione di titolo in termini logaritmici avviene eseguendo in parallelo la titolazione dello stock virale, posto nelle medesime condizioni del campione trattato ma senza l'utilizzo della formulazione sotto esame. In questo contesto, Renolab supporta le aziende guidandole nella scelta del test più adatto alle potenzialità del proprio prodotto, con l'obiettivo finale di contrastare la diffusione del IPNV nel settore ittico.

The alarm from aquaculture industry: infected pancreatic necrosis (IPN)



Dr. Claudio Salaris, Microbiology Analyst at Renolab

The infected pancreatic necrosis virus (IPNV) is the aetiology agent of one of the most important viral diseases in farmed salmon. Its high contagiousness and the high mortality rate (particularly among young individuals) cause serious economic losses in the aquaculture industry.

The pathogen poses no danger for humans, but it causes serious clinical evidence in fish. Affected animals do uncoordinated swimming, show a dark colour and swelling of the belly. Lesions that occur can consist of pancreas ulcers, damage to liver tissue, necrosis in the intestinal mucosa in the oesophagus and stomach. During an IPN epidemic, mortality rates can range from 10% up to near 100%. These differences depend on fish species, fish age, physiologic conditions, and even from genetic characteristics of individuals.

The disease represents a serious and growing economic issue for fish farms, both because of high mortality, and for the costs of control and prevention measures to be applied on the fish farm.

CONTAGION AND INFECTION

The main vehicle of infection are infected fishes. Infection survivors become asymptomatic virus carriers, even for years, acting as reservoirs and allowing virus to spread through water. The pathogen is capable to set up persistent infections in the host, being able to multiply within the eggs and then transmitting to fry. The most important environmental conditions that influence the spread of the disease are related to management by humans, specifically the handling and density of fish population within the facility. High fish densities promote virus transmission and evolution towards more virulent strains. It is known that the most susceptible species is the Atlantic salmon, but practices as co-cultivation result in virus transmission among different species (rainbow trout).

CONTROL AND PREVENTION

Aquaculture is an important nutrition and income source for hundreds of millions of people around the world. That's why it is necessary to regulate and implement biosecurity strategies:

- ✓ Surveillance and monitoring of wild and raising stocks;
- ✓ Disinfection of production areas/facilities based on their level or risk;
- ✓ In case of an outbreak, removal of infected stocks and sterilization of the facilities concerned.

VALIDATION OF VIRUCIDAL ACTION

Renolab has a biosecurity Class 2 laboratory (BSL-2) and a proven experience in the field of efficacy tests, so it is able to assess virucidal action of the active ingredients used in aquaculture. In-vitro tests for the assessment of virucidal action on IPNV are prepared using reference strains:

- ✓ Immortalized cell line BF-2 (ATCC - CCL-91), obtained from the freshwater fish Bluegill from North America;
- ✓ Infected pancreatic necrosis virus (IPNV) (ATCC-VR-1322).

The above-mentioned cell line is extremely permissive for the IPNV infection, in that way it is possible to amplify virus and then obtaining the viral stock.

The produced virus is contacted with formulations to be tested, combining needs that the customer expects for the end use of their products and the obligations arising from regulation, with the goal of mimicking the practical conditions of product application (contact period, temperature, interfering substances, final dilution of product in water).

Following the Virus-Product contact, the sample is inoculated on a single layer of the BF-2 cell line for about 10 days. The quantification of the residual infectious titre is performed by assessing the cytopathic effect provoked on host cells by the virus. This is possible thanks to the Spearman-Kärber method, that allows to calculate TCID₅₀ (virus quantity that can destroy or cause a cytopathic effect on 50% of the cell culture) (fig. 1). Titre reduction in logarithmic terms is done by performing viral stock titration in parallel, under the same conditions as the treated sample, but without the formulation to be tested.

In this context, Renolab supports companies leading them in choosing the more suitable test based on their product's potential, with the aim of fighting the spread of IPNV in the fishing industry.

Alcaloidi dell'ergot

Dott. Gian Piero Luciani, Technical Manager di Tentamus AgriParadigma

Gli alcaloidi dell'ergot sono micotossine prodotte da diverse specie di funghi del genere *Claviceps*. In Europa, la *Claviceps purpurea* è la specie più diffusa e colpisce cereali quali riso, grano, segale, orzo, miglio e avena.

La *Claviceps purpurea* si presenta con escrescenze caratteristiche sulla spiga a forma di sperone di colore scuro, chiamate sclerozi; questa è conosciuta anche con il nome di segale cornuta.

Sono stati normati i 12 alcaloidi principali: ergometrina, ergosina, ergocornina, ergotamina, ergocristina, ergocriptina (isomeri alfa e beta) e i corrispondenti "-inina" epimeri.

Secondo gli studi dell'EFSA, l'esposizione cronica nella popolazione deriva dalla dieta e ne risultano particolarmente interessati i bambini piccoli (1-3 anni) e i bambini in generale (3-10 anni).

Negli animali da allevamento, invece, sono più esposti i suini rispetto ai bovini.

I livelli più alti di alcaloidi dell'ergot sono comunemente riscontrati nel riso, negli alimenti a base di riso e negli alimenti che contengono farine miste in combinazione con il riso.

La tossicità degli alcaloidi dell'ergot è ben nota sin dall'antichità e parecchi casi di avvelenamento riconducibile al consumo di alimenti contaminati sono stati

riportati nelle cronache a partire dal Medioevo.

Il fuoco di Sant'Antonio è stato indicato come uno dei sintomi più comuni; i principali focolai sono stati segnalati nella Norvegia settentrionale all'inizio del XVII secolo e nel New England alla fine del XVII secolo (i processi per stregoneria di Salem).

L'avvelenamento da alcaloidi dell'ergot si presenta con sintomi quali irrequietezza, midriasi, debolezza muscolare, tremore e rigidità.

Gli alcaloidi dell'ergot agiscono su numerosi recettori dei neurotrasmettitori, in particolare adrenergici, dopaminergici e recettori serotoninergici e possono comportare effetti acuti e a lungo termine. Sono inoltre resistenti alle alte temperature e non sono inattivati dalle normali temperature raggiunte durante la cottura.

La normativa comunitaria prevede limiti per la presenza di ergot nei mangimi:

Direttiva 2002/32/CE

Sostanza indesiderabile	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime con un tasso di umidità del 12 %
Segale cornuta (<i>Claviceps purpurea</i>)	Tutte le materie prime per mangimi e i mangimi composti contenenti cereali non macinati	1000

Recentemente sono stati introdotti limiti negli alimenti:

Regolamento 1881/2006 modificato con Regolamento 2021/1399

Sostanza indesiderabile	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Tenore massimo
Sclerozi della <i>Claviceps</i> spp.	Cereali non trasformati ad eccezione di— mais, segale e riso	0,2 g/kg
	Segale non trasformata	0,5 g/kg fino al 30.6.2024 0,2 g/kg dall'1.7.2024
Alcaloidi della <i>Claviceps</i> spp.	Prodotti di macinazione di orzo, frumento, spelta e avena (con un tenore di ceneri inferiore a 900 mg/100 g)	100 µg/kg 50 µg/kg dall'1.7.2024
	Prodotti di macinazione di orzo, frumento, spelta e avena (con un tenore di ceneri pari o superiore a 900 mg/100 g) Orzo, frumento, spelta e avena immessi sul mercato per il consumatore finale	150 µg/kg
	Prodotti di macinazione della segale Segale immessa sul mercato per il consumatore finale	500 µg/kg fino al 30.6.2024 250 µg/kg dall'1.7.2024
	Glutine di frumento	400 µg/kg
	Alimenti a base di cereali trasformati destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia	20 µg/kg

L'analisi degli sclerozi è un'analisi visiva eseguita sui chicchi integri del cereale, volta ad identificare il corpo fruttifero del fungo che si presenta sotto forma di sperone o escrescenza scura.

È stata osservata una relazione statisticamente significativa tra la presenza e la numerosità di sclerozi e i livelli di alcaloidi dell'ergot in diverse colture (orzo, avena, segale, grano); tuttavia, quantità elevate di alcaloidi dell'ergot sono state riscontrate anche in campioni con assenza di sclerozi.

Inoltre, gli sclerozi non possono essere identificati nei prodotti trasformati o dopo molitura.

In questi casi, è necessario ricorrere ad una analisi chimica strumentale; solitamente si utilizza il metodo in cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa tandem a triplo quadrupolo (per esempio metodo EN 17425:2021).

Negli studi dell'EFSA è riportato che più del 10% dei campioni di alimenti analizzati per la ricerca di

alcaloidi dell'ergot sono risultati positivi; per quanto riguarda i mangimi, la percentuale si avvicina al 40% dei campioni analizzati.

I nuovi limiti comunitari sono entrati in vigore all'inizio dell'anno e i laboratori di controllo ufficiali hanno iniziato a ricercare gli alcaloidi all'interno dei diversi piani di controllo nazionale.

In merito ai controlli transfrontalieri, il sistema di allerta comunitario RASFF ha già registrato 7 allerte da inizio anno, di cui 5 classificate ad alto rischio.

Per consentire alle aziende interessate una verifica affidabile delle proprie materie prime e prodotti, il laboratorio Tentamus AgriParadigma si è attrezzato per l'analisi degli alcaloidi dell'ergot ed è in grado di applicare il metodo ufficiale EN 17425:2021.

Il metodo è stato testato con ottimi risultati mediante partecipazione al proficiency test Bipea 04-0399 (dello scorso aprile), ed è in programma il prossimo accreditamento in accordo alla norma 17025.

Riferimenti

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4902>

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02002L0032-20191128&from=EN>

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1399&qid=1667384240480&from=EN>

Ergot alkaloids

Dr. Gian Piero Luciani, Technical Manager at Tentamus AgriParadigma



Ergot alkaloids are mycotoxins produced by several species of fungi in the genus *Claviceps*. In Europe, *Claviceps purpurea* is the most widespread species and affects grains such as rice, wheat, rye, barley, millet, and oat.

Claviceps purpurea shows up characteristic outgrowths on the ear looking as a dark spur, called sclerotia, and is also known as ergot.

The 12 main alkaloids have been regulated: ergometrine, ergosine, ergocornine, ergotamine, ergocristine, ergocryptine (α - and β - isomers), and the corresponding -inine epimers.

According EFSA studies, chronic exposure among the population comes from diet, and most concerned are small children (1-3 years) and children in general (3-10 years). Whereas among farming animals, pigs are more exposed than cows.

Higher levels of ergot alkaloids are commonly found in rice, in rice-based foods and in food containing mixed flours combined with rice.

Ergot alkaloids toxicity is well known since the ancient times, and many poisoning cases related to contaminated food consumption have been reported in chronicles since the Middle Age.

The symptoms have been identified as the herpes zoster during the Middle Age. The main outbreaks have been signalled in Northern Norway at the beginning of XVII century, and in the New England at the end of the XVII century (Salem's witchery trials).

Ergot alkaloids poisoning comes with symptoms as restlessness, mydriasis, muscle weakening, tremor, and rigidity.

Ergot alkaloids act on many neurotransmitter receptors, particularly adrenergic, dopaminergic, and serotonergic receptors, and can cause both acute and long-term effects. Ergot alkaloids are resistant to high temperatures and are not inactivated by normal temperatures reached during food cooking.

EU regulation includes limits for the ergot alkaloids in feedstuff:
2002/32/EC Directive

Undesirable substance	Products intended to animal feeding	Maximum content in mg/kg (ppm) with a 12% moisture content
Ergot rye (<i>Claviceps purpurea</i>)	All raw materials for feedstuff and composite feedstuff containing not grinded grains	1000

Recently limits have been introduced in food:

Regulation 1881/2006 as amended by Regulation 2021/1399

Undesirable substance	Products intended to animal feeding	Maximum content
Sclerotia of <i>Claviceps</i> spp.	Not processed grains except corn, rye, and rice	0.2 g/kg
	Not processed rye	0.5 g/kg until 30 June 2024 0.2 g/kg from 1st July 2024
Alkaloids of <i>Claviceps</i> spp.	Grinding products of barley, wheat, spelt, and oat (with an ash content lower than 900 mg/100 g)	100 μ g/kg 50 μ g/kg from 1st July 2024
	Grinding products of barley, wheat, spelt, and oat (with an ash content equal or higher than 900 mg/100 g) Barley, wheat, spelt, and oat marketed for the final consumer	150 μ g/kg
	Products from rye grinding Rye marketed for the final consumer	500 μ g/kg until 30 June 2024 250 μ g/kg from 1st July 2024
	Wheat gluten	400 μ g/kg
	Processed cereal-based food intended for infants and early childhood	20 μ g/kg

Sclerotia analysis is a visual analysis performed on integral grains of the cereal aiming to identify fungus sporocarp that appears as a spur or dark outgrowth.

A statistically significant relation has been observed between the presence and number of sclerotia and the level of ergot alkaloids in different crops (barley, oat, rye, wheat). However, high quantities of ergot alkaloids have been found also in samples free from sclerotia.

Moreover, sclerotia cannot be identified in processed products or after milling.

In these cases, it is necessary to employ an instrumental chemical analysis, usually by a liquid chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry method (for example, EN 17425:2021 method).

EFSA studies report that more than 10% of food samples analysed for ergot alkaloids were positive. As for feedstuff,

the percentage gets close 40% of analysed samples.

New EU limits became in force at the beginning of this year and the official monitoring laboratories began to search for alkaloids within different national monitoring plans.

As for transboundary monitoring, the EU alert system RASFF has already registered 7 alerts from the beginning of the year, of which 5 classified as serious risk.

To allow interested companies to perform a trusted audit of their raw materials and products, the Tentamus AgriParadigma laboratory is equipped for the analysis of ergot alkaloids and is able to follow the EN 17425:2021 official method.

The method has been successfully tested through the participation to the Bipea 04-0399 proficiency test in April 2022 and next accreditation according to ISO 17025 standard has been scheduled.

References

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4902>

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02002L0032-20191128&from=EN>

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1399&qid=1667384240480&from=EN>

Il campionamento attivo dell'aria: un test efficace per la salubrità degli ambienti di lavoro

Dott.ssa Giulia Carini, Chemical and Biological Manager di MK

Il campionamento microbiologico dell'aria è utilizzato all'interno delle aziende per valutare sia l'esposizione professionale dei lavoratori, sia le caratteristiche biologiche dell'aria in zone e periodi di tempo differenti, il tutto atto a condurre un'indagine mirata alla definizione dell'inquinamento microbiologico degli ambienti di lavoro.

Gli agenti microbiologici presenti nell'aria si legano a polvere, particelle liquide o altri contaminanti naturalmente presenti (emulsioni oleose, polvere di legno, ecc.) negli ambienti di lavoro e i movimenti convettivi dell'aria stessa ne permettono il trasporto sotto forma di **bioaerosol**.

I componenti del bioaerosol provocano numerosi effetti sulla salute umana: problemi respiratori, danni polmonari, allergie e cefalea ("Procedura sperimentale per la determinazione della componente batterica del materiale particolato" – INAIL, 2020).

In base alla valutazione dei rischi, devono essere individuate le fasi di lavoro a rischio biologico e le zone critiche ad esse associate. Va tenuto presente, infatti, che variazioni della situazione espositiva, come ad esempio, modifiche di impiego delle macchine o modifiche ad impianti ed attrezzature, possono rendere necessari dei nuovi campionamenti della realtà lavorativa.

Durante la fase di sopralluogo, vengono determinati gli ambienti da monitorare, per i quali si consiglia di

eseguire sempre:

- ▶ Un campionamento a centro-stanza, tenendo presente che la presenza di porte o finestre potrebbe influire sull'esito del campionamento stesso;
- ▶ Per ambienti superiori a 30 mq, eseguire due prelievi lungo la diagonale;
- ▶ Se ci sono impianti di condizionamento, effettuare un campionamento a 50 cm di distanza dalle bocchette di mandata.

Le tecniche di campionamento per il monitoraggio ambientale dell'aria prevedono l'utilizzo di terreni di coltura solidi che rilevano la frazione microbica vitale, cioè metabolicamente attiva, che può riprodursi e formare colonie visibili sulle piastre di laboratorio.

Esistono diverse norme a cui far riferimento e differenti metodi di campionamento. Uno di questi è di tipo attivo secondo le specifiche del metodo *Unichim MU 1962-2:2006*.

Categorie di inquinamento microbiologico <i>Microbiological pollution categories</i>	IGM (m ³) <i>GIM (m3)</i>	Classe <i>Class</i>
		ICM / IMC
Molto bassa / <i>Very low</i>	<500	
Bassa / <i>Low</i>	<1000	
Intermedia / <i>Intermediate</i>	>1000	A ICM<3 e IA <3 B ICM>3 O IA >3 C ICM>3 e IA >3
Alta / <i>High</i>	>5000	D ICM<3 e IA <3 E ICM>3 O IA >3 F ICM>3 e IA >3
Molto Alta / <i>Very high</i>	>10000	G ICM<3 e IA <3 H ICM>3 O IA >3 I ICM>3 e IA >3

Tab.
Categorie e classi di contaminazione (Dacarro 2000).

Categories and contamination classes.

Questo tipo di campionamento microbiologico viene eseguito tramite SAS (Surface Air System), un campionatore attivo per impatto ortogonale. Il SAS è un sistema molto efficace per il campionamento della qualità dell'aria indoor. Esso consente un controllo sia continuo che sequenziale e di durata variabile da pochi minuti a diverse ore, tramite l'aspirazione di grandi volumi di aria, minimizzando le differenze di distribuzione dei batteri dovute alle correnti, alla temperatura e alle dimensioni degli aggregati aerodispersi.

L'aria raccolta viene poi convogliata su un substrato nutritivo e dopo un idoneo periodo di incubazione si possono contare e identificare le colonie che sono cresciute. Il grado di contaminazione microbica si esprime come Unità Formanti Colonia per metro cubo di aria campionata (UFC/m³).

Le impostazioni del SAS vengono stabilite con precisione. Per esempio, la portata dello strumento, ovvero i litri al minuto di aria che questo campiona, e la durata del campionamento vengono impostate in modo

tale che sia abbastanza alta per raccogliere particelle del diametro di 1 µm, ma abbastanza moderata per preservare la vitalità e la coltivabilità dei microrganismi raccolti. Infatti, un flusso d'aria elevato, che abbia una velocità d'impatto troppo elevata, tenderebbe ad essiccare il mezzo di raccolta e stresserebbe i microrganismi.

Le determinazioni che si vanno ad eseguire sono:

- ▶ Il conteggio dei batteri **psicrofili**, la cui provenienza è principalmente ambientale. La conta viene eseguita a 22°C per 72 ore.

- ▶ Il conteggio dei batteri **mesofili** che appartengono soprattutto alla flora batterica umana, il cui conteggio viene effettuato a 37°C per 48 ore.

- ▶ Il conteggio totale dei miceti, indicatori ambientali molto importanti, spesso correlati ad un'elevata umidità e polverosità ambientale. La conta viene effettuata ad una temperatura di 25°C per 5-7 giorni.

Data la complessa composizione biologica del bioaerosol e la variabilità della risposta individuale all'esposizione, non ci sono valori di carica batterica o micetica a cui far riferimento per valutare la qualità dell'aria degli ambienti di lavoro.

Lo stesso D. Lgs. 81/2008 e ss.mm.ii., noto anche come "Testo unico sulla salute e sicurezza sul lavoro", non ne fornisce.

Esiste uno studio condotto dal dott. Dacarro e dai suoi collaboratori (Dacarro C., Grignani Eodola L., Grisoli P., Cottica D. *Proposta di indici microbiologici per la valutazione della qualità dell'aria degli edifici*, G. It. Med. Lav. Erg. 2000; 22 (3): 229-235) nel quale vengono individuati alcuni indici per valutare la qualità dell'aria con il metodo attivo.

Seguendo le indicazioni riportate in questo studio, si può calcolare l'Indice Globale di Contaminazione Microbica al metro cubo d'aria (IGCM/m³), dato dalla somma dei valori di batteri mesofili, batteri psicrofili e funghi in tutte le aree campionate.

Il valore di 1000 è stato proposto come valore limite, oltre il quale dovrebbe essere effettuata una valutazione più ampia dei livelli di contaminazione, basata sulla misurazione di ulteriori indici microbiologici.

Si può ottenere anche un Indice di Contaminazione Mesofila (ICM), calcolando il rapporto tra il valore UFC/m³ misurato per batteri mesofili e batteri psicrofili nello stesso punto di prelievo.

La misura dell'Indice di Amplificazione (IA) completa la valutazione ed è il rapporto tra i valori IGCM/m³ misurati all'interno dell'edificio e quelli misurati all'esterno.



Active air sampling: a powerful test for the salubrity of workplaces



Dr. Giulia Carini, Chemical and Biological Manager at MK

Microbiological air sampling is used within companies to both evaluate workers' occupational exposure, and the biological air characteristics in different areas and time periods, all aimed to carry out a focused survey to define microbiological pollution in workplaces.

Microbiological agents in the air binds to dust, liquid particles, or other contaminants naturally present (oil emulsions, wood dust, etc.) in workplaces, and convective movements of air itself allow them to be transported in the form of bioaerosols. **Bioaerosols** components cause several effects on human health: respiratory issues, pulmonary damages, allergies, and headaches ("Procedura sperimentale per la determinazione della componente batterica del materiale particolato" (Experimental procedure for the determination of particulate bacterial component) - INAIL, 2020), and this is the reason why it is important to study them.

Based on risk assessment, the working steps with biohazard and related critical areas must be identified. In fact, it should be borne in mind that changes in the exposition situation at a given period, as for example, changes in machine use, modifications to systems and equipment, may render new sampling of working places mandatory.

During the inspection step, areas to be monitored are determined, for which we recommend to always perform:

- ▶ A centre-room sampling, keeping in mind that the presence of a door or windows may affect the outcome of the sampling;
- ▶ For areas larger than 30 sqm, two samplings have to be performed along the room diagonal;
- ▶ If conditioning systems are present, carry out sampling at a distance of 50 cm from the supply outlets.

Sampling techniques for environmental air monitoring involve the use of solid culture media detecting the vital, i.e., metabolically active microbial fraction, that can reproduce and form colonies that are visible on lab plates.

Many different standards and several sampling methods exist to be used as a reference, among them the active sampling method according to Unichim MU 1962-2:2006 method specification.

This kind of microbiological sampling is performed through SAS (Surface Air System), an active sampler with orthogonal impact. The SAS is a very powerful system for sampling the indoor air quality. It allows both a continuous and a sequential control, with varying duration from some minutes up to several hours, through the aspiration of big air volumes, minimizing differences of bacteria distribution due to currents, temperature, and airborne aggregates sizes. Collected air is then conveyed on a nutritional substrate and, after a proper incubation period, growing colonies can be counted and identified. Microbial contamination grade is expressed as Colony-forming units (CFU) per cubic meter of sampled air (CFU/m³).

SAS settings are precisely setup. For example, the instrument flow rate - litres per minute of air that the instrument samples - and the sampling time are setup so that they are high enough to collect particles of 1 µm diameter, but moderate enough to preserve vitality and cultivability of collected microorganisms. In fact, a high air flow with a too high impact velocity, would tend to dry the collecting media and stress microorganisms.

Detections that are performed are:

- ▶ **Psychrophilic** bacteria count. These bacteria mainly have an environmental origin. The count is performed at 22 °C for 72 hours.
- ▶ **Mesophilic** bacteria count. They mainly belong to human bacterial flora and the count is performed at 37 °C for 48 hours.
- ▶ Total mycetes count, performed at 25 °C for 5-7 days. They are very important environmental indicators, often related to high environmental moisture and dustiness.

Given the complex biological composition of bioaerosol and the variability of individual answer to the exposure, there are no values for bacterial or mycetes charge for reference to assess air quality in workplaces.

The Legislative Decree 81/2008 as amended ("Testo unico sulla salute e sicurezza sul lavoro" (Amalgamated law about occupational health and safety)) does not provide any.

In a study by Dacarro and his team (Dacarro C., Grignani Eodola L., Grisoli P., Cottica D. Proposta di indici microbiologici per la valutazione della qualità dell'aria degli edifici, G. It. Med. Lav. Erg. 2000; 22 (3): 229-235) some indexes are determined to assess the air quality with the active method. Following the directions reported in this study, one can calculate the Global index of microbial contamination per cubic meter of air (GIMC/m³), given by the sum of the values of mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria, and fungi in all sampled areas. The 1000 value has been proposed as the limit value, above which a broader assessment of levels of contamination should be performed, based on the measure of further microbiological indexes.

We can also obtain an index of mesophilic bacterial contamination (IMC), calculating the ratio between the UFC/m³ value measured for mesophilic bacteria and for psychrophilic bacteria in the same sampling point.

The Amplification Index (AI) measure complete the assessment. It is the ratio between GIMC/m³ values inside the building and those measured outside.

L'importanza della caratterizzazione chimico-fisica nei dispositivi medici a base di sostanze

Dott.ssa Orsola Petrolo, Regulatory Affairs Consultant di ISEMED

Accanto ai dispositivi medici classici come apparecchiature, software, lenti a contatto, maschere chirurgiche, apparecchi acustici, cerotti, garze e medicazioni, prodotti ortopedici, sono presenti sul mercato anche dispositivi costituiti da sostanze o miscele di sostanze.

I dispositivi a base di sostanze sono un gruppo eterogeneo di prodotti comprendente creme, colliri, sciroppi, spray, lavande vaginali, compresse, capsule e microclismi.

Con l'entrata in vigore del Regolamento (UE) 2017/745 (MDR), tali dispositivi sono disciplinati in maniera più rigorosa rispetto al passato: la normativa attuale ha, infatti, introdotto prescrizioni più stringenti sia per quanto riguarda il contenuto della documentazione tecnica e clinica, sia per quanto concerne la classificazione dei dispositivi stessi.

Di fatto, con la regola 21 del Regolamento e la linea guida MDCG 2021-24 relativa alla classificazione dei dispositivi medici, la classe I per i dispositivi a base di sostanze è stata eliminata: questo comporta un maggior impegno per i fabbricanti a dimostrare la qualità e la sicurezza di tali dispositivi anche attraverso i test di laboratorio.

L'MDR richiede che siano fornite informazioni dettagliate sulla progettazione nonché i protocolli di test e di studio, i metodi di analisi di dati e le conclusioni relativi a:

- ▶ test di Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione (ADME);

- ▶ possibili interazioni delle sostanze, o dei loro metaboliti, con il corpo umano, con altri dispositivi, con medicinali o altre sostanze, tenuto conto della popolazione destinataria e relative condizioni cliniche;
- ▶ test di tolleranza locale;
- ▶ test di tossicità;
- ▶ valutazioni tecniche sul rischio di cessione da parte del contenitore verso il prodotto (tenendo conto il tempo massimo di contatto e la composizione del prodotto stesso).

Pertanto, sulla base di quanto riferito, è difficile trovare sul mercato un prodotto equivalente, ossia un dispositivo medico con caratteristiche identiche al prodotto in esame. La linea guida l'MDCG 2020-5, che definisce i principi per stabilire l'equivalenza dei dispositivi medici, precisa che le caratteristiche biologiche tra i due dispositivi devono essere identiche: *"i dispositivi utilizzano gli stessi materiali o sostanze a contatto con gli stessi tessuti umani o fluidi corporei"*

per un tipo e una durata di contatto simili e con caratteristiche di rilascio simili di sostanze, compresi i prodotti extractables & leachables". La distinzione tra "stessi materiali o sostanze" e "simili caratteristiche di rilascio delle sostanze" tiene conto del fatto che la lavorazione, la progettazione e l'ambiente di utilizzo possono introdurre piccole modifiche anche a parità di materie prime: la lavorazione può rendere i materiali più suscettibili al degrado modificando le proprietà del materiale e/o inducendo differenti sollecitazioni. Ad esempio, piccole variazioni del pH o stress ossidativo possono aumentare o diminuire le caratteristiche di rilascio.

Di conseguenza, risulta importante effettuare il test di caratterizzazione chimico-fisica sia del prodotto finito sia del prodotto ritenuto equivalente, in modo da specificare l'identità dei materiali e stimare il tipo e la quantità di sostanze rilasciabili dal dispositivo finale. Tale pre-screening è fondamentale per stabilire la strategia regolatoria prima di iniziare l'iter di certificazione. Occorre, quindi, tenere in conto la necessità di dover modificare la composizione di un dispositivo medico



a base di sostanze quando gli ingredienti sono diversi da quelli del prodotto equivalente, su cui si fonda la valutazione clinica su base bibliografica. In alternativa, volendo mantenere la composizione degli ingredienti, è necessario intraprendere uno studio clinico sperimentale sull'umano.

È da sottolineare che le prescrizioni normative presenti all'interno del Regolamento sono valide anche per i dispositivi con una precedente certificazione CE, in quanto quest'ultima non costituisce garanzia di rinnovo del CE ai sensi del MDR.

Il team di ISEMED ha sviluppato specifiche competenze, per supportare i fabbricanti di dispositivi medici a base di sostanze, nell'analisi di classificazione e nello studio della bibliografia scientifica, per dimostrare l'efficacia clinica e la sicurezza dei loro prodotti.



Importance of the chemical-physics characterization for the substances-based medical devices



Dr. Orsola Petrolo, Regulatory Affairs Consultant at ISEMED

Besides classical medical devices such as equipment, software, contact lenses, surgical masks, hearing aids, plasters, gauzes and dressings, orthopedic products, there are on the market also devices consisting of substances or mixtures of substances.

Substances-based devices are a heterogeneous group of products including creams, eye drops, syrups, sprays, vaginal douches, tablets, capsules, and micro enemas.

Coming into effect the Regulation (UE) 2017/745 (MDR), these substances-based devices are now regulated more strictly than in the past: the current Regulation introduces more stringent requirements concerning both the content of the technical and clinical documentation, and the rules of classification for this kind of devices.

In fact, with reference to Rule 21 of the Regulation MDR and MDCG 2021-24 guideline referring to the classification of the medical devices, Class I for substances-based devices has been eliminated: this means a bigger effort for manufacturers of this kind of devices to demonstrate the quality and safety of such devices, also through laboratory testing.

The MDR requires that the manufacturer supplies more detailed design information as well as test and study protocols, data analysis methods, and the conclusions related to:

- ▶ Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion (ADME) tests;
- ▶ possible interactions of the substances, or their metabolites, with the human body, with other devices, with drugs or other substances, taking into account the target population and the concerning clinical conditions;
- ▶ local tolerance test;
- ▶ toxicity test;
- ▶ technical assessments of the risk related to the possibility of particulate release from the container to the product (considering the maximum contact time and the composition of the product itself).

Therefore, based on what is described above, it is difficult to find on the market an equivalent product, that is a medical device with identical characteristics to the product under evaluation. The MDCG 2020-5 guideline, which defines the principles for establishing the equivalence between medical devices, specifies that the biological characteristics between the two devices must be identical: "the device uses the same materials or substances in contact with the same human tissues or body fluids for a similar kind and duration of contact, and with similar release characteristics of

substances, including degradation products and leachables, as the presumed equivalent device. The distinction between "same materials or substances" and "similar characteristics of substances release" consider that processing, design and the use environment may introduce small changes even when the raw materials are the same. Processing can make materials more susceptible to degradation by changing properties of the material and/or by inducing different stresses. For example, small changes in pH or oxidative stress can increase or decrease release characteristics."

Consequently, it is important to carry out chemical and physical characterization testing of both the finished product and the product considered as equivalent in order to specify the identity of the materials and estimate the type and the amount of substances releasable from the final device. Such pre-screening is essential to define the regulatory strategy before starting the certification process.

Thus, it is fundamental to consider the possibility to change the composition of a substances-based medical device if the ingredients of the medical device under evaluation are different from those of the equivalent product, which the clinical evaluation on bibliographic research is based on. Alternatively, if it is needed to maintain the composition of the ingredients, it is necessary to undertake an experimental clinical study on human beings.

It has to be underlined that the regulatory requirements of the Regulation MDR also apply to the devices with a previous CE certification, since it cannot be considered as a guarantee of CE Certificate renewal under MDR.

ISEMED team has developed specific clinical skills to support the manufacturers of substances-based medical devices in the classification assessment and in the study of the scientific bibliography, in order to develop simple and efficient methodologies to demonstrate the clinical efficacy and safety of manufacturers' products.



A Tentamus Company

TENTAMUS IN THE WORLD

Tentamus Innovation Hub: il nuovo marchio che porta digitalizzazione e innovazione sostenibili nel Gruppo Tentamus

A dicembre 2021, abbiamo annunciato il lancio di TentaTINC (il Tentamus Technology & Innovation Center) per supportare tutti i laboratori Tentamus nel loro percorso verso la trasformazione digitale. In questo numero siamo molto lieti di annunciare che a luglio 2022 è nato TIH (Tentamus Innovation Hub), il successore di TentaTINC.

Gli amministratori delegati di TIH sono la Dott.ssa Yvonne Pfeifer e il Dott. Mathias Pohl, che hanno diretto un gruppo di 8 persone, di 6 nazionalità diverse e che parlano 8 lingue diverse, con base a Brema e Berlino.

Al TIH continuiamo a lavorare su progetti correlati all'intelligenza artificiale, alla digitalizzazione dei processi, alla robotizzazione, a software di analisi sensoriale, all'automazione di processi e alla validazione di sistemi informatici e possiamo annoverare numerosi progetti di successo in questi settori, per molti dei laboratori Tentamus. Da poco, abbiamo, inoltre, iniziato a focalizzarci sulla "sostenibilità", per il suo innegabile effetto positivo a breve e lungo termine, in particolare per quanto riguarda la nostra economia e l'ambiente.

In Tentamus infatti, siamo convinti che la sostenibilità e l'assicurazione qualità non possano più viaggiare separate, ma che solo combinate possano portare la società verso un futuro sicuro per le persone e l'ambiente.

Il nostro obiettivo è di mantenere la sicurezza dei prodotti e la trasparenza lungo tutta la filiera e di aiutare i nostri clienti a comprendere quali fattori hanno l'impatto negativo maggiore sul nostro pianeta.

Insieme a voi, garantiamo che la produzione delle merci diventi più sostenibile in termini di conservazione delle risorse naturali, rispetto dei diritti umani o salvaguardia dell'ambiente. One Health – one Planet!

Avete bisogno di un progetto personalizzato che vi aiuti nel percorso di transizione ecologica? Aspettiamo le vostre domande e non vediamo l'ora di trovare la migliore soluzione per voi! Tentamus Green Line: un servizio Tentamus globale!

Per maggiori informazioni visitate:

<https://www.tentamus.com/green-line/>

o contattate **Yvonne Pfeifer** (yvonne.pfeifer@tentamus.com) o **Mathias Pohl** (mathias.pohl@tentamus.com).



Tentamus Innovation Hub: the new brand that brings digitalization and innovation in a sustainable way to Tentamus.

In December 2021, we were proud to announce that TentaTINC (the Tentamus Technology & Innovation Center) had been launched to support all Tentamus labs in their digital transformation journey. In this issue we are very pleased to announce that TIH (Tentamus Innovation Hub), the successor of TentaTINC was born in July 2022.

The managing directors of TIH are Dr. Yvonne Pfeifer and Dr. Mathias Pohl who led a team of 8 people with 6 different nationalities who can speak 8 languages and are in Bremen and Berlin.

At TIH, we still work on projects linked to artificial intelligence, digitalization of processes, robotization, sensory analysis software, automation of processes and computer system validation and have had several successful projects in these fields for many Tentamus labs. However, we have recently started to aim our focus towards the topic of "sustainability", due to its undeniable short-term and long-term positive effect in particularly regarding our economy and the environment.

At Tentamus, we are convinced that sustainability and quality assurance can no longer be separated from one another, and that only the two combined can lead society towards a safe future for the people and the environment.

Our goal is to maintain product safety and transparency throughout the entire supply chain and to give to our customers an understanding of which factors have the greatest detrimental impact on our planet.

together with you we ensure that the production of goods becomes more sustainable when it comes to natural resources conservation, human rights compliances or safeguarding the environment. One Health – one Planet!

You need a tailor-made concept to help you on your way to green transformation? We look forward to your inquiry and finding the best solution for you! Tentamus goes green – a global Tentamus service!

For more information please visit:

<https://www.tentamus.com/green-line/>

or contact **Dr. Yvonne Pfeifer** (yvonne.pfeifer@tentamus.com) or **Dr. Mathias Pohl** (mathias.pohl@tentamus.com).

Anastasia Roehrig è la nuova CFO di Tentamus Group

La famiglia Tentamus è lieta di presentare Anastasia Roehrig come nuova CFO di Gruppo. A partire dal 1° ottobre 2022, infatti, Anastasia Roehrig è responsabile del dipartimento finanziario del Gruppo Tentamus, diventando, inoltre, un membro del consiglio di amministrazione globale.

Il Dott. Jochen P. Zoller, CEO e fondatore del Gruppo Tentamus, ha commentato: "Anastasia Roehrig si unisce a noi dopo varie posizioni dirigenziali in industrie di servizi, portando all'interno del Gruppo la sua esperienza di affermata esperta finanziaria e commerciale, completando così perfettamente la nostra squadra dirigenziale. Il suo approccio dinamico e il suo background, rappresentano per noi un importante valore aggiunto. Non vediamo l'ora di lavorare insieme."

Anastasia ha conseguito una laurea specialistica in Contabilità e Auditing e una laurea triennale in Economia, oltre a numerose certificazioni professionali.

La dottoressa Roehrig ha iniziato la sua carriera nei primi anni 2000 come Audit Manager presso Ernst & Young. In questo pe-

riodo ha lavorato a livello internazionale in Germania, Russia e Regno Unito. Una lunga esperienza che rappresenta una solida base per continuare a rendere il Gruppo Tentamus protagonista a livello internazionale e per garantirne la continua crescita.

Anastasia Roehrig, CFO del Gruppo Tentamus, non vede l'ora di incominciare: "In Tentamus Group ho scoperto un'azienda sostenibile con una forte propensione allo sviluppo di un business internazionale. Sono lieta di poter sviluppare le strutture di supporto e la trasparenza per garantirne il successo futuro. Sono entusiasta di portare, all'interno del Gruppo, la mia esperienza e la mia impronta."

Siamo davvero molto felici di avere Anastasia Roehrig nella nostra squadra.

<https://www.tentamus.com/news/anastasia-roehrig-new-cfo/>



Tentamus Group & Veltia danno il benvenuto a Be Safer all'interno del loro network globale

In linea con la sua strategia di sviluppo, il Gruppo di laboratori "VELTIA Labs for Life®", membro del Gruppo Tentamus e di Redestos – Efthymiadis Agrotechnology Group, ha ulteriormente allargato le sue attività in Grecia, entrando nel mercato dei servizi di consulenza per il settore alimentare e del turismo.

Nello specifico, "Be Safer®", membro di SETE [l'Associazione delle aziende del turismo in Grecia], con sede legale a Heraklion, Creta, è entrato a far parte della famiglia VELTIA.

Be Safer e VELTIA hanno lavorato a stretto contatto negli anni, fornendo servizi di alta qualità nel settore del turismo, grazie al sistema "Tourism Analysis Package Pro" (TAPP), sviluppato da Be Safer e personalizzato per le necessità di questo settore così sfidante. Il pacchetto di servizi combina:

- Analisi di laboratorio: su alimenti, acqua, ambiente e rifiuti;
- Servizi di consulenza: su criticità legate all'ospitalità, assicurazione qualità, sostenibilità e requisiti di conformità ambientale;
- Programmi di formazione e supporto nella gestione di situazioni critiche, rivolti a hotel, navi da crociera e servizi alimentari.

L'applicazione di sistemi di autocontrollo interni, nel settore del turismo e dell'ospitalità, è necessaria per potenziare l'implementazione di tutte le procedure di sicurezza e qualità richieste. "Un'esplosione" del turismo, in tutte le zone dove sono attive le aziende, rende l'applicazione di tali servizi quanto mai necessaria, con l'obiettivo di raggiungere un servizio turistico ad alto valore aggiunto e in grado di superare le sfide del tempo.

Allo stesso tempo, i servizi di Be Safer facilitano anche le imprese turistiche nelle loro operazioni quotidiane, nella prevenzione e nella risoluzione dei problemi.

Thymis Efthymiadis, Presidente di "VELTIA Labs for Life®" ribadisce: "Siamo entusiasti di accogliere Be Safer nel gruppo VELTIA Labs for Life®, dopo numerosi anni di cooperazione. La loro esperienza, nei servizi per il settore dell'ospitalità, costituisce il primo passo verso ulteriori investimenti strategici di Veltia, per costruire servizi di consulenza su alimenti e acqua potabile in tutte le regioni del gruppo Veltia. Ulteriori importanti sviluppi saranno, inoltre, comunicati prossimamente."

Giannis Tsirigotakis, cofondatore di "Be Safer", aggiunge: "Il pilastro principale, su cui si basa la nostra collaborazione strategica con Veltia, è rappresentato dalla cultura aziendale completamente allineata di entrambe le organizzazioni riguardo la qualità dei servizi erogati, l'affidabilità e lo sviluppo continuo. Entrando nel Gruppo Veltia, Be Safer sarà ora in grado di fornire i suoi servizi specializzati non solo in tutta la Grecia, ma anche in numerosi altri paesi in cui l'industria del turismo è importante, come, ad esempio, Cipro e Turchia."

<https://www.tentamus.com/news/tentamus-veltia-welcome-be-safer/>

Anastasia Roehrig strengthens Tentamus Group as new CFO

The entire team of the Tentamus Group is delighted to introduce Anastasia Roehrig as their new Chief Financial Officer. With effect from October 1, 2022, Anastasia Roehrig is responsible for the finance department of the Tentamus Group and becomes a member of the global management board.

Dr. Jochen P. Zoller, CEO & founder of the Tentamus Group commented: "Anastasia Roehrig joins us from various management positions in service industries. She brings her expertise as an accomplished financial and commercial expert, who complements our management team perfectly. With her dynamic approach and know-how, she is an excellent fit for us. We're very much looking forward to working together in the future."

Anastasia holds a Master's degree in Accounting & Auditing and a Bachelor's degree in Economics as well as multiple professional certificates.

Tentamus Group & Veltia welcome Be Safer to its global network

In line with its development strategy, the Group of Laboratories "VELTIA Labs for Life®" – a member of the TentamusGroup and Redestos – Efthymiadis Agrotechnology Group, has further expanded its activities in Greece by entering the market segment of consultancy services for the Tourism and Food industries.

More specifically, "Be Safer®", a member of SETE [the Association of Greek Tourism Enterprises], which has its headquarters in Heraklion, Crete, has become part of the VELTIA family.

Be Safer and VELTIA have worked closely together in recent years, providing high-quality services in the tourism sector through the successful "Tourism Analysis Package Pro" (TAPP) system, developed by Be Safer and tailored to the needs of this demanding sector. This holistic services package combines:

- Lab analyses: on food, water, the environment and waste;
- Consultancy services: or hospitality issues, quality assurance, sustainability and environmental compliance needs,
- Training programs and Crisis management support, covering hotels – cruise ships – food services.

The application of in-house self-checking systems in the tourist / hospitality industry is necessary for enhancing the implementation of all the required safety and quality procedures. The "explosion" in tourism in the overall areas where the VELTIA companies are active, renders the application of such services more imperative than ever, aiming towards reaching a high added value tourist product able to withstand the test of time.

At the same time, the Be Safer services also facilitate tourist enterprises in their daily operations, in the prevention and resolving of problems.

Thymis Efthymiadis, President of "VELTIA Labs for Life®" stresses: "We are delighted to welcome Be Safer to VELTIA Labs for Life® Group after several years of cooperation. Their expertise in services for the hospitality sector is the first step enabling further strategic investments to be initiated by Veltia to build consultancy services in food and drinking water throughout all Veltia-Group regions with further announcements imminent."

Giannis Tsirigotakis, Co-founder of "Be Safer", adds: "The main pillar for our strategic collaboration with Veltia has been the fully aligned corporate culture of both organizations with regards to the quality of services provided, reliability and continuous development. By joining the Veltia Group, Be Safer will now be able to provide its expert services not only throughout Greece, but also in several other countries where the hospitality industry is important, like Cyprus, Turkey, and others."

Mrs. Roehrig started her career in early 2000 as an Audit Manager at Ernst & Young. During this time she worked internationally in Germany, Russia and the United Kingdom. Such a long multicultural experience is a solid setup to continue bringing Tentamus Group to an international player and secure the growth.

Anastasia Roehrig, CFO Tentamus Group is excited to be starting: "I have found that Tentamus Group is a sustainable business which has a huge perspective for the international rollout. I am pleased to develop the underlying structures and transparency to guarantee future success. I am passionate in bringing my vision into the presentation and footprint of the group."

We are very pleased to have Anastasia Roehrig on our team. <https://www.tentamus.com/news/anastasia-roehrig-new-cfo/>



Be Safer

A Tentamus Company



Cari Lettori, all'interno di questo spazio, abbiamo voluto racchiudere alcune, fra le tante, domande che ci avete inviato in questi mesi. Continuate a scrivere al vostro Laboratorio di riferimento; i nostri tecnici saranno a vostra disposizione per rispondere alle vostre domande. Le più frequenti e significative verranno riprese nel prossimo numero in uscita a giugno 2023.

Dear Readers, within this space, we wanted to encapsulate some of the many questions you have sent us in recent months. Please continue to write to your reference laboratory; our technicians will be at your disposal to answer your questions. The most frequent and significant ones will be taken up in the next issue to be published in June 2023.

Devo stabilire il profilo analitico da applicare ai miei prodotti alimentari. È più opportuno inserire l'analisi di Enterobacteriaceae o di Coliformi? Se le prevedessi entrambe si tratterebbe di una ripetizione?

Le Enterobacteriaceae costituiscono una famiglia di batteri di origine ambientale e/o fecale. I Coliformi, ubiquitari nel suolo e nell'ambiente idrico, appartengono alla famiglia delle Enterobacteriaceae. Il sottogruppo dei coliformi fecali, di cui fa parte *Escherichia coli*, ha origine intestinale. Prevedere l'analisi di entrambi i parametri non costituisce una ripetizione, perché dà indicazioni differenti. La conta delle Enterobacteriaceae fornisce un dato più allargato, utile per la valutazione generale delle condizioni igieniche dei prodotti alimentari e dei processi di produzione, in particolare per quanto riguarda gli alimenti di origine animale. I Coliformi, in particolare i termotolleranti, costituiscono un indice più specifico di contaminazione fecale. Nella scelta del profilo analitico è comunque opportuno basarsi sui parametri previsti dalla normativa o dalle Linee Guida, se esistenti per la matrice in esame. Sono riportati limiti normativi per le Enterobacteriaceae in carnesse animali, uova, latte e alcuni suoi derivati. Per quanto riguarda i Coliformi, i limiti di legge si riferiscono più specificamente ad *E. coli* e riguardano un'ampia gamma di prodotti: carne, molluschi e prodotti ittici, ortaggi, formaggi, latticini.

I must determine the analytical profile for my food products. Is it more appropriate to insert the analysis for Enterobacteriaceae or the Coliform bacteria? If I want to include both, would it be a repetition?

*Enterobacteriaceae represents a bacteria family of environmental and/or faecal origin. Coliform bacteria are ubiquitous in soil and in water environment and belong to the Enterobacteriaceae family. The faecal coliform subgroup, to which *Escherichia coli* belongs, is of intestinal origin. If you include the analysis of both parameters, this is not a repetition since it gives different information. Enterobacteriaceae count gives a more expanded data, which is useful for the general assessment of hygienic conditions of food products and production processes, particularly for what concerns food of animal origin. Coliform bacteria, particularly heat-tolerant ones, represent a more specific index for faecal contamination. When choosing the analytical profile, however, it is appropriate to rely on the parameters provided in the regulations or Guidelines, if they exist for the matrix to be tested. Regulatory limits are reported for Enterobacteriaceae in animal carcasses, eggs, milk, and some of its derivatives. As for Coliform bacteria, regulatory limits relate more specifically to *E. coli* and cover a wide range of products: meat, shellfish and seafood products, vegetables, cheese, dairy products.*



• agriparadigma@agriparadigma.it

Quali caratteristiche deve avere la passata di pomodoro per essere definita tale in etichetta?

Secondo il decreto del 23 Settembre 2005 (Pubblicato nella G.U. n. 232 del 5 ottobre 2005) la denominazione di vendita «Passata di pomodoro» è riservata al prodotto ottenuto direttamente da pomodoro fresco, sano e maturo. Il colore, l'aroma ed il gusto devono essere caratteristici del frutto da cui proviene (ottenuto tramite spremitura, eventuale separazione di bucce e semi e parziale eliminazione dell'acqua). Non è consentito concentrare il succo di pomodoro al di sopra di 12 gradi Brix e provvedere poi alla successiva diluizione per la preparazione della passata di pomodoro, come invece è consentito per il succo di frutta proveniente da concentrato. Per essere etichettato come «passata di pomodoro» il prodotto deve avere le seguenti caratteristiche chimiche:

- il residuo ottico rifrattometrico risulti compreso tra 5 e 12 gradi Brix, con una tolleranza di 3%, al netto del sale aggiunto;
- zuccheri totali, espressi in zucchero invertito, in misura non inferiore a 42% del residuo ottico;
- pH non superiore a 4,5;
- limite di conteggio Howard (HMC): massimo 70 campi positivi; l'esame microscopico va effettuato sul prodotto diluito a residuo rifrattometrico 8% a 25°C se superiore e sul prodotto tal quale se inferiore: in quest'ultimo caso il limite del 70% è ridotto in proporzione;
- impurezze minerali in misura non superiore allo 0,1% del residuo ottico;
- acido lattico in misura non superiore a 1% del residuo ottico al netto del sale aggiunto;
- la presenza di bucce e di semi non deve superare il limite del 4% in peso del prodotto finito.

Viene consentita l'aggiunta dei seguenti ingredienti: sale alimentare, correttori di acidità, spezie, erbe, piante aromatiche e relativi estratti.

What characteristics the tomato passata should have to be defined as such on the label?

According to the decree of 23 September 2005 (Published on the Italian Official Journal No. 232 of 5 October 2005) the commercial name "Tomato passata" is restricted to the product directly obtained from fresh, good, and ripe tomato. The colour, aroma, and taste should be characteristics of the fruit from which it comes, and obtained by pressing, eventual separation of peels and seeds, and partial removal of water. Concentrating tomato juice above 12 Brix degrees and then diluting it to make tomato passata is not permitted, while on the contrary it is permitted for fruit juice from concentrate. To be labelled as "tomato passata", the product needs to have the following chemical characteristics:

- The optical refractometric residue is between 5 and 12 Brix degrees, with a 3% tolerance, excluding any added salt;
- Total sugars, as invert sugar, not less than 42% of optical residue;
- pH value not higher than 4.5;
- Howard mold count (HMC): max 70 positive fields. Microscopic examination should be carried on the product diluted to 8% refractometric residue at 25 °C if higher, and on the product as such if lower: in this latter case, the 70% limit is proportionally reduced;
- Mineral impurities not higher than 0.1% of the optical residue;
- Lactic acid not higher than 1% of optical residue, excluding any added salt;
- Peels and seeds quantity must not exceed the limit of 4% by weight of the finished product.

The addition of the following ingredients is permitted: food salt, acidity regulators, spices, herbs; aromatic plants and extracts thereof.



• info@mk.it

Differenza tra l'analisi per la ricerca del DNA bovino e quella del DNA ruminante

Secondo la definizione Treccani "I ruminanti rappresentano un sottordine di mammiferi artiodattili comprendente la maggior parte delle specie dell'ordine, tra cui cervi, capre, pecore, giraffe, bovini, cammelli e antilopi... in cui lo stomaco è composto, diviso in quattro cavità, rumine, reticolo, omaso e abomaso, in cui la digestione segue un particolare processo, detto ruminazione". Il bovino è dunque un ruminante, ma non è l'unico. Analiticamente ci sono diverse tecniche che permettono la determinazione della specie, ma l'analisi del DNA ha oramai, da tempo, soppiantato le altre tecniche. Entrambe le ricerche, DNA bovino e DNA ruminante, utilizzano la tecnica basata sul principio della PCR. Quando scegliere una determinazione piuttosto che l'altra? Dipende dalla finalità della ricerca. Ad esempio, in caso di sospetta frode alimentare per presenza della specie bovino, l'analisi corretta da scegliere è proprio quella che permette di ottenere un segnale presente/assente del target specifico bovino in quantità superiore/inferiore al limite di detection del metodo. Qualora, invece, si voglia controllare, ad esempio, un mangime per cui, secondo la normativa vigente (Reg. CE N. 999/2001 e s.m.i.) è vietato l'uso di tutte le proteine animali trasformate di ruminanti (Ruminant PAP), l'analisi corretta da scegliere non è la ricerca del DNA bovino, bensì quella per la determinazione del DNA ruminante.

Difference between the analysis for the detection of bovine DNA and ruminant DNA

According to the Encyclopaedia Britannica definition "Ruminants are any mammal of the suborder Ruminantia (order Artiodactyla), which includes the pronghorns, giraffes, okapis, deer, chevrotains, cattle, antelopes, sheep, and goats. Most ruminants have a four-chambered stomach and two-toed feet. The four stomach chambers are called the rumen, reticulum, omasum, and abomasum. Digestion occurs sequentially in a multichambered stomach and is called rumination..." So, bovines are ruminants, but they are not the only ones. From an analytical point of view, there are different techniques allowing species determination, but DNA analysis has long since replaced other techniques. Both detections, of bovine DNA and ruminant DNA, use the PCR-based technique. When can I choose one detection instead of the other? It depends on the goal of the research. For example, in case of suspected food fraud with presence of bovine species, the correct analysis is the one that allows to obtain a presence/absence signal for the target bovine species in a higher/lower amount than the detection limit of the method. On the contrary, when one wants to check, for example, a feed for which the use of all ruminant animal transformed proteins (Ruminant PAP) is forbidden as per in force legislation (Reg. EC No. 999/2001 as amended), the correct analysis is not the bovine DNA, but the analysis for the determination of the ruminant DNA.



• info@laemmegroup.it

Come si possono evitare alterazioni organolettiche dovute ad arresti di fermentazione o contaminazioni microbiche?

Tra i fattori determinanti per il corretto svolgimento dei processi di vinificazione vi sono la sanificazione delle attrezzature e degli ambienti di cantina, unitamente al biocontrollo dei microrganismi potenzialmente dannosi. Tra le varie strategie, vi sono alcune pratiche volte a ridurre l'utilizzo di composti chimici potenzialmente dannosi per la salute. Ad esempio, l'utilizzo di lieviti non-Saccharomyces, in fermentazioni miste, può essere utile per contrastare alcuni microrganismi indesiderati, oltre a migliorare la complessità aromatica dei vini. In ogni caso, la gestione dei processi di vinificazione deve essere accompagnata da un frequente monitoraggio dei parametri chimici e microbiologici, svolti tempestivamente attraverso laboratori di analisi specializzati.

How can organoleptic alterations due to stuck fermentation or microbial contamination be avoided?

Among the determining factors for the correct execution of the winemaking processes, there are the sanitization of the cellar equipment and environments and the biocontrol of potentially harmful microorganisms. Among the various strategies, there are some practices aimed to reducing the use of chemical compounds potentially harmful to health. For example, the use of non-Saccharomyces yeasts in mixed fermentations can be useful for counteracting some unwanted microorganisms, as well as improving the aromatic complexity of the wines. In any case, the management of the winemaking processes must be accompanied by frequent monitoring of the chemical and microbiological parameters, carried out promptly through specialized analysis laboratories



• info@caimgroup.it

Esistono delle linee guida che danno indicazioni sulle condizioni pratiche di applicazione dei prodotti biocidi?

I protocolli contenuti nelle norme europee stabiliscono i requisiti minimi per l'attività biocida dei prodotti utilizzati in campo veterinario (es. UNI EN 14675), sancendo le condizioni pratiche di applicazione del prodotto: organismi di riferimento, tempo di contatto, temperatura, sostanze interferenti, diluizione finale del prodotto in acqua.

Are there any guidelines giving directions about practical application conditions for these biocidal products?

Protocols within the European standards set up minimum requirements for the biocidal activity of products used in the veterinary field (e.g. EN 14675), establishing practical application conditions for the product: reference organisms, contact period, temperature, interfering substances, final dilution of the product in water.



• info@renolab-glp.com

Qual è la differenza tra un dispositivo medico, un farmaco e un cosmetico?

La differenza tra dispositivo medico e farmaco è stata definita in modo dettagliata all'interno della linea guida MDCG 2022-5 "Guidance on borderline between medical devices and medicinal products under Regulation (EU) 2017/745 on medical devices" emessa nell'aprile 2022. Dispositivo medico e farmaco servono entrambi per curare o per prevenire una malattia. Ciò che li differenzia è il meccanismo d'azione con cui raggiungono tale obiettivo. Se il prodotto agisce con un meccanismo farmacologico, immunologico o metabolico, sarà un farmaco, se lo fa con meccanismi differenti (azione meccanica, lubrificante, idratante, disidratante, effetto barriera, modifica del pH) sarà un dispositivo medico.

Il cosmetico, invece, è applicato sulle superfici esterne del corpo, sui denti o sulle mucose della bocca e ha lo scopo, esclusivo o principale, di pulire, profumare, modificare l'aspetto, correggere gli odori, proteggere, mantenere in buono stato la superficie del corpo, i denti o la mucosa su cui è applicato.

- Per cui il cosmetico:
- non può intervenire direttamente sulle malattie, ma si limita a mantenere in buono stato, proteggere, pulire, profumare e modificare l'aspetto delle zone su cui è applicato;
 - ha azione farmacologica;
 - non può avere come azione principale quella preventiva di una malattia. Tuttavia, aiuta a proteggere e mantenere in buono stato le zone in cui è applicato: in questo senso può anche aiutare a prevenire possibili patologie.

What is the difference between a medical device, a drug and a cosmetic?

The difference between medical device and drug has been clearly defined within MDCG guideline 2022-5 "Guidance on borderline between medical devices and medicinal products under Regulation (EU) 2017/745 on medical devices" issued in April 2022. Medical device and drug are both intended to treat or prevent a disease. The difference between the mechanism of action by which they achieve that goal. If the product acts by a pharmacological, immunological, or metabolic mechanism, it will be a drug. If it acts through different mechanisms (such as mechanical, lubricating, moisturizing, dehydrating action or barrier effect or pH modification) it is a medical device.

A Cosmetic device, on the other hand, is applied to the external surfaces of the body, on the teeth or on the mucous membranes of the mouth and it has the exclusive or main purpose of cleaning, perfuming, modifying the appearance, correcting odors, protecting and maintaining in good condition the body surface, the teeth or the mucous membranes, which it is applied to.

- Therefore, the cosmetic:
- cannot intervene directly on diseases, but it only maintains in good condition, protects, cleanses, perfumes and changes the appearance of the areas, which it is applied to;
 - has no pharmacological action;
 - cannot have the function of preventing a disease as its main action. However, it does help to protect and keep in good condition the areas, which it is applied to: this means that, in this sense, it can also help to prevent possible diseases.



• info@renolab-glp.com

T-word FOR YOU

L'entomofagia: (dal greco éntomos, "insetto", e phágein, "mangiare"), è un regime dietetico, obbligato o facoltativo, che vede gli insetti come alimento. Dal punto di vista antropologico è una pratica diffusa presso molte popolazioni del pianeta basata su particolari gusti o mode o sulla necessità di integrare il fabbisogno nutritivo di proteine. Il termine è anche usato per descrivere il consumo umano di carne di insetto molto comune in alcune culture di parti del mondo.

Entomophagy: (from Greek éntomos, "insect", and phágein, "to eat"), is an obliged or optional dietary regimen that considers insects as a food. From an anthropological point of view, it is a widespread practice among many populations of the planet, based on particular preferences or trends, or on the need to integrate the protein nutrient requirements. The term is also used to describe the human consumption of insect meat, very common in some cultures around the world.

ECN42 = l'acronimo "ECN42": indica il numero di carbonio equivalente (Equivalent Carbon Number) pari a 42. Pertanto la metodica indicata viene utilizzata per determinare la differenza tra la concentrazione reale dei trigliceridi che sono costituiti da 42 atomi di carbonio, determinata mediante una tecnica analitica chiamata HPLC, e la concentrazione teorica che dovrebbe avere l'olio d'oliva degli stessi trigliceridi, calcolata a seguito dell'applicazione di una seconda tecnica analitica chiamata GC-FID.

ECN42 = the acronym "ECN42" means the Equivalent Carbon Number equal to 42. So, the illustrated method is used to calculate the difference between the real concentration of triglycerides, that are made up by 42 carbon atoms, determined by an analytical technique called HPLC, and the theoretical concentration of the same triglycerides that the olive oil would have, calculated applying a second analytical technique called GC-FID.

Bioaerosol: sono "microorganismi aerodispersi" ubiquitari nel nostro ambiente, come virus, batteri, funghi, spore. Possono essere inoltre presenti frammenti di materiali biologici come pollini, peli di animali, detriti di pelle, escrementi e residui vegetali. La maggior parte dei bioaerosol sono di dimensioni tali da renderli "inalabili". I fattori che influenzano il bioaerosol indoor sono polveri, sistema di riscaldamento e raffreddamento, umidità, temperatura, sistemi di ventilazione non accuratamente puliti e sanificati.

Bioaerosol: "airborne microorganisms" that are ubiquitous in our environment, such as viruses, bacteria, fungi, and spores. Moreover, biological materials fragments can be present, as: pollens, animal hair, skin debris, excrements, and vegetal residues. Most bioaerosols are of such size that they are "inhalable". Factors influencing indoor bioaerosol are dust, heating/cooling systems, moisture, temperature, venting systems not thoroughly cleaned and sanitised.

Batteri psicrofili e mesofili: i batteri psicrofili hanno temperature di crescita basse, comprese tra 0 °C e 25 °C (temperatura ottimale 20-25°C), mentre quelli mesofili hanno temperature di crescita comprese tra 20 °C e 45 °C (temperatura ottimale 30-37°C).

Psychrophilic and mesophilic bacteria: psychrophilic bacteria have low growing temperatures, from 0 °C to 25 °C (optimum temperature: 20-25 °C), while mesophilic bacteria have growing temperatures between 20 °C and 45 °C (optimum temperature 30-37 °C).



Tentamus Locations Network 2022: Service Excellence Worldwide



Credits

Progetto: Tentamus Italia
Coordinamento editoriale: Giuseppe Calvi di Coenzo
Copyediting: Redazione e Laboratori Tentamus Italia
Grafic design e stampa: Tipografia Commerciale Ravenna

T~magazine

2° semestre 2022 / Numero 8 - Tentamus Italia

È vietata la riproduzione anche parziale di questo catalogo.
Reproduction of any part of this catalogue is not allowed.

For further information please use our LocationFinder online at tentamus.com/labs





Tentamus Italia S.r.l.
Via Faentina 207/H
48124 Ravenna



A Tentamus Company

Isemed S.r.l.
Sede legale e operativa:
Via Togliatti 19/X - 40026 Imola (BO)



Renolab S.r.l.
Sede legale e operativa:
Via XXV Aprile 19 - 40016 San Giorgio di Piano (BO)



Centro Analisi C.A.I.M. S.r.l.
Sede legale e operativa:
Via Del Turismo, 196 - 58020 Follonica (GR)



MK S.r.l.
Sede legale e operativa:
Via Giuseppe Antonucci, 2 - 06012 Città di Castello (PG)



Tentamus Agriparadigma S.r.l.
Sede legale:
Via Faentina, 207/H - 48124 Ravenna
Sede operativa Ravenna:
Via Faentina, 224 - 48124 Ravenna
Sede operativa Siracusa:
Strada Benali-Tivoli - 96100 Siracusa
Sede operativa Signa (FI):
Via Giorgio La Pira, 24/26 - 50058 Signa



Laemmegroup S.r.l.
Sede legale e operativa:
Via Vittime del Vajont 18- 10024 Moncalieri (TO)
Sede operativa Manerbio:
Via Lazio 38 - 25025 Manerbio (BS)