

# T~magazine

1° semestre 2023 / Numero 9 - Tentamus Italia



- 1** Una nuova Azienda si unisce al Gruppo Tentamus in Italia!  
*A new company is joining the Tentamus Group in Italy!*

  
A Tentamus Company

---

- 2** PFAS: cosa sono, dove si trovano e quanto sono pericolosi per la salute umana  
*PFAS: what they are, where they are found, and how dangerous they are for human health.*

  
A Tentamus Company

---

- 3** Aria compressa aziendale: contaminanti e campionamento  
*Plant compressed air: sampling and contaminants*

  
A Tentamus Company

---

- 4** “Mi scusi, questo vino sa di 3-MPD”  
*“Sorry, this wine tastes like 3-MPD”*

  
A Tentamus Company

---

- 5** Dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD): un mondo ancora da esplorare  
*In vitro diagnostic medical devices (IVDs): a world yet to be explored*

  
A Tentamus Company

---

- 6** Il saggio di mutagenicità in vitro: THE AMES TEST  
*The in vitro mutagenicity assay - THE AMES TEST*

  
A Tentamus Company

---

- 7** Monitoraggio di *Legionella* in ambienti di lavoro e sistemi di distribuzione domestici  
*Legionellosis monitoring in workplaces and domestic distribution systems*

  
A Tentamus Company

---

- 8** Quantificare l'impatto ambientale dei prodotti e servizi lungo l'intero ciclo di vita. Il metodo LCA: Life Cycle Assessment  
*Quantifying the environmental impact of products and services throughout their entire life cycle. The LCA method: Life Cycle Assessment (LCA)*

  
A Tentamus Company

---

- 9** L'esperto risponde  
*Ask the Expert*



“Romagna mia, Romagna in fiore...”

C'è chi l'ha letto cantando e chi mente!

“Romagna mia, Romagna in fiore...”

Someone read it by singing and who didn't, lies!

Mi ritrovo a scrivere questo editoriale, a pochi giorni dalla terribile alluvione che ha colpito la Romagna. Scrivere di una tale tragedia senza cadere nella polemica o nella presunta inevitabile tristezza è davvero difficile. Vi racconto, allora, semplicemente cosa ho visto e vissuto, con la canzone di Secondo Casadei, nelle orecchie, in sottofondo. Ho visto un territorio colpito duramente cercare di ripartire più forte di prima, ho visto volontari e cittadini lavorare insieme come se si conoscessero da decenni, ho visto ragazzi di sedici anni, su camion e trattori, offrire il loro aiuto indistintamente, ho visto chef stellati cucinare le tagliatelle al ragù, in strada, offrendo ristoro a chi ne avesse bisogno, ho visto i miei colleghi arrivare in azienda con i thermos di caffè e pulire ogni angolo del posto di lavoro per poter tornare alla normalità velocemente, ho visto clienti e fornitori offrire aiuti e supporto, avendo, loro per primi la stessa o peggiore situazione. Ho vissuto e sto vivendo queste giornate circondato da persone che orgogliosamente, con grande e ammirevole dignità, nonostante tutto, hanno la voglia, la forza e il bisogno di regalarvi un sorriso... Adesso ho capito perché: Romagna “Nostra”, lontan da te non si può star!



Nicola Berruti  
Country Manager Tentamus Italia

*I find myself writing this editorial just a few days after the terrible flood that involved Romagna. It is really difficult to write about a similar tragedy without falling into criticism or deep sadness. I will simply tell you what I've seen and experienced, listening in the background Secondo Casadei's song. I've seen a hardly hit land trying to restart stronger than before, I've watched voluntaries and citizens working together as if they knew each other for decades, teenagers on trucks and tractors offering their help without distinction and starred chefs cooking “tagliatelle” on the road, offering some food to all those in need. I've seen my colleagues coming to work with coffee thermos and cleaning every spot in their workplace to go back to normal as fast as possible, I've seen our customers and suppliers, having the same or even worse situation themselves, offering help and support. I'm living these days surrounded by people that proudly, with great, wonderful dignity, despite all that, have the will, the force, and the need to donate a smile... Now I understood why... Romagna “Nostra”... lontan da te non si può star (we can't stay away from you)!*



# Una nuova Azienda si unisce al Gruppo Tentamus in Italia!



# A new Company joins the Tentamus Group in Italy!



**I Gruppo Tentamus è orgoglioso di dare il benvenuto alla Società Pegaso Management Srl all'interno della sua rete internazionale di aziende e laboratori specializzati.**

Il Gruppo Tentamus è orgoglioso di dare il benvenuto alla Società Pegaso Management Srl all'interno della sua rete internazionale di aziende e laboratori specializzati.

Pegaso Management Srl, con sede ad Ancona (AN), offre servizi di consulenza organizzativa e direzionale, ponendosi come un Partner di riferimento in grado di tradurre in progetti le necessità riorganizzative delle imprese. Innovazione e sostenibilità sono gli imperativi sui quali la Pegaso ha costruito la propria evoluzione, rivolgendosi alle aziende che intendono competere innovando e costruendo valore sostenibile dal punto di vista ambientale, sociale ed economico.

L'azienda, inoltre, supporta i propri clienti dell'industria alimentare con servizi di audit e certificazione per sistemi di gestione qualità, tra cui IFS, HACCP, etichettatura, tracciabilità degli alimenti e servizi di consulenza.

"Pegaso Management è il risultato di un percorso iniziato 25 anni fa. Dopo aver maturato importanti esperienze in ambito di compliance normativa (con un focus particolare per il comparto agroalimentare) e nei sistemi di gestione volontaria, siamo riusciti a sviluppare metodi che ci permettono di realizzare progetti di innovazione sostenibile e costruire, così, un valore tangibile per i nostri Clienti.

Nel Gruppo Tentamus, riteniamo di aver trovato il giusto ecosistema per continuare a crescere: una realtà "Global" che sa gestire la propria evoluzione grazie a competenze "Local", vicine quindi alle organizzazioni clienti e al tempo

stesso positivamente contaminate da una visione globale"

- spiega il Dott. Stefano Castignani, CEO di Pegaso Management Srl.

Il CEO di Tentamus Italia, Nicola Berruti, aggiunge - "Con l'ingresso di Pegaso Management nel Gruppo, Tentamus amplia ulteriormente la gamma dei propri servizi. Pegaso rappresenta, infatti, uno step fondamentale per il consolidamento e la crescita sul territorio nazionale. Grazie all'attenzione verso l'innovazione e sostenibilità, saremo in grado di fornire alle aziende clienti servizi di assistenza e consulenza di alta qualità, con l'obiettivo costante di diventare il partner ideale per supportarle nella loro crescita sul mercato globale".

L'attuale management continuerà a svolgere il proprio ruolo, con il supporto dei nuovi colleghi di Tentamus Italia.

Tutto il Gruppo Tentamus dà il benvenuto a Pegaso Management nella sua rete globale ed è entusiasta di iniziare a collaborare insieme.



A Tentamus Company



A Tentamus Company



A Tentamus Company



A Tentamus Company



A Tentamus Company



A Tentamus Company



A Tentamus Company

**The Tentamus Group is proud to welcome Pegaso Management Srl into its international network of specialized companies and laboratories.**

Based in Ancona (Italy), Pegaso Management Srl offers organizational and management consulting services, acting as a reference Partner to translate the reorganization needs of companies into projects. Innovation and sustainability are the requirements on which Pegaso has built its evolution, addressing companies that aim to compete by innovating and building sustainable value from an environmental, social, and economic point of view.

Furthermore, Pegaso supports its clients in the food industry with audit and certification services for quality management systems, including IFS, HACCP, labeling, food traceability and consulting services.

"Pegaso Management is the result of a journey that began 25 years ago. After gaining important experiences in the field of regulatory compliance, with a particular focus on the agri-food sector, and in voluntary management systems, we have been able to develop methods that allow us to carry out sustainable innovation projects, thus building tangible value for our clients.

In the Tentamus Group, we believe we have found the right ecosystem to keep growing: a "Global" reality that knows how to manage its evolution thanks to "Local" skills, close to client organizations, and at the same time positively contaminated by a global vision"- explains Dr. Stefano Castignani, CEO of Pegaso Management Srl.

Nicola Berruti, CEO of Tentamus Italy, says: "With the entry of Pegaso Management into the Group, Tentamus further expands the range of its services. Pegaso represents a fundamental step for consolidation and growth in the national territory. Thanks to the attention towards innovation and sustainability, we will be able to provide high-quality assistance and consulting services to our customers, constantly aiming to become the ideal partner to support them in their growth in the global market."

The current management will continue in their roles with the support of the Tentamus Italy corporate functions.

The entire Tentamus Group welcomes Pegaso to its global network and is looking forward to future cooperation.



## L'AZIENDA IN BREVE

## LOCATION PROFILE

<p><b>I NOSTRI SETTORI:</b> Agroalimentare, Fashion, Arredamento, Industria Manifatturiera, Automotive, Utilities</p>	<p><b>IL NOSTRO TEAM:</b> 15 dipendenti</p>	<p><b>CONTATTI:</b> +39 071 2187284 info@pegasomanagement.com www.pegasomanagement.com</p>	<p><b>LA NOSTRA STORIA:</b> inizia nel 1998</p>	<p><b>SERVIZI SPECIALI:</b> IFS, HACCP, Etichettatura, Servizi di consulenza, Tracciabilità degli alimenti,</p>	<p><b>IL NOSTRO MANAGEMENT:</b> Nicola Berruti Stefano Castignani Gianmarco Dazza</p>	<p><b>INDUSTRIES WE SERVE:</b> Agri-food, Fashion, Forniture, Manufacturing, Automotive, Utilities</p>	<p><b>OUR TEAM:</b> 15 employees</p>	<p><b>CONTACT US:</b> +39 071 2187284 info@pegasomanagement.com www.pegasomanagement.com</p>	<p><b>OUR STORY:</b> began in 1998</p>	<p><b>SPECIAL SERVICE:</b> IFS, HACCP, Labeling, Consulting services, Food Traceability</p>	<p><b>OUR MANAGEMENT:</b> Nicola Berruti Stefano Castignani Gianmarco Dazza</p>
---	---	--	---	---	---	--	--	--	--	---	---

## PFAS: cosa sono, dove si trovano e quanto sono pericolosi per la salute umana

Dott.ssa Elisabetta Genta, Operation Manager di Laemmegroup

**D**al 1/1/2023 è entrato in vigore il regolamento (UE) 2022/2388 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in alcune categorie di alimenti quali: uova, carne, pesce, crostacei, molluschi e frattaglie di varie specie.

Inoltre il Decreto Legislativo 23 febbraio 2023 n.18, "Attuazione della Direttiva UE 2020/2184 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano" rende obbligatorio, dal 12/1/2026 la loro ricerca ed il rispetto dei limiti previsti.

La Comunità Europea ha introdotto i limiti per i PFAS a seguito del Parere EFSA pubblicato a luglio 2020 che ha evidenziato il rischio per la salute umana connesso alla presenza di sostanze perfluoroalchiliche negli alimenti. L'Autorità per la Sicurezza Alimentare ha infatti concluso che queste sostanze possono provocare danni allo sviluppo e avere effetti nocivi sul sistema immunitario.

Ma cosa sono i PFAS? Le sostanze perfluoroalchiliche, o PFAS, sono un gruppo di sostanze chimiche artificiali comprendente l'acido perfluorooctanoico (PFOA), il perfluorooctano sulfonato (PFOS), l'acido perfluorononanoico (PFNA), l'acido perfluoroesano sulfonico (PFHxS) e molte altre. I PFAS sono stati prodotti ed utilizzati sin dagli anni '40 in tutto il mondo per diverse applicazioni industriali. Tecnicamente sono catene alchiliche idrofobiche fluorurate sotto forma di acidi utilizzati in forma liquida con una struttura che li rende resistenti ai processi di degradazione. Vengono utilizzati principalmente per rendere resistenti ai grassi e all'acqua vari materiali come tessuti, carta, contenitori per alimenti, per rivestire padelle antiaderenti e nella produzione di abbigliamento tecnico.

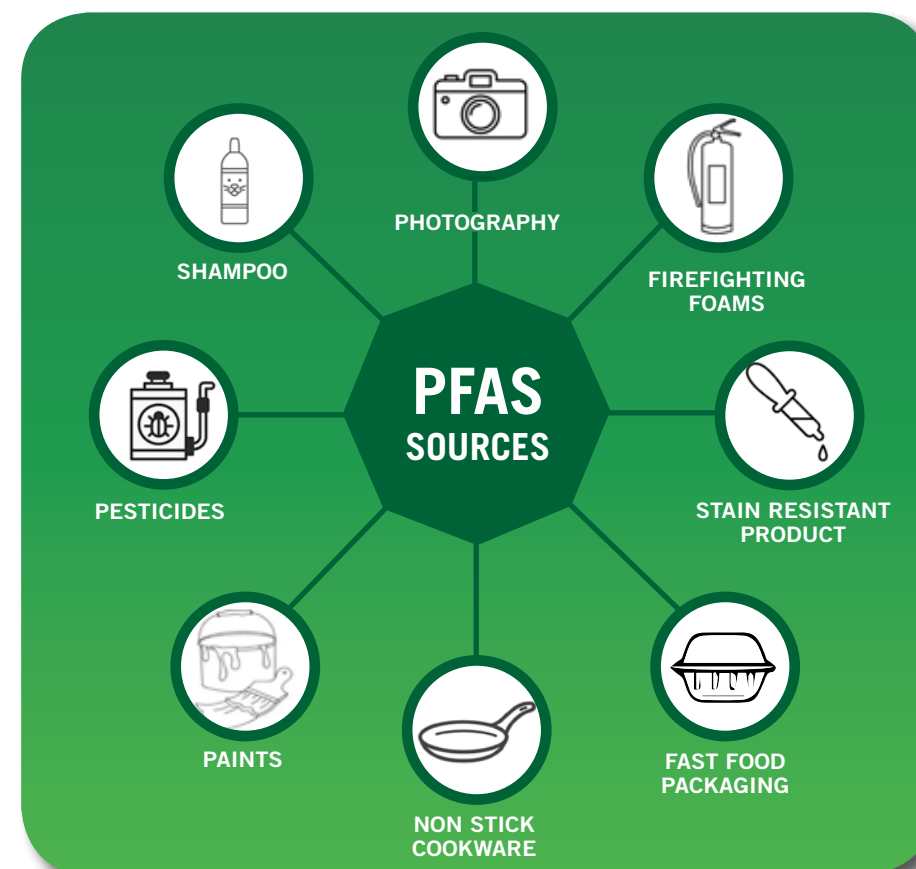
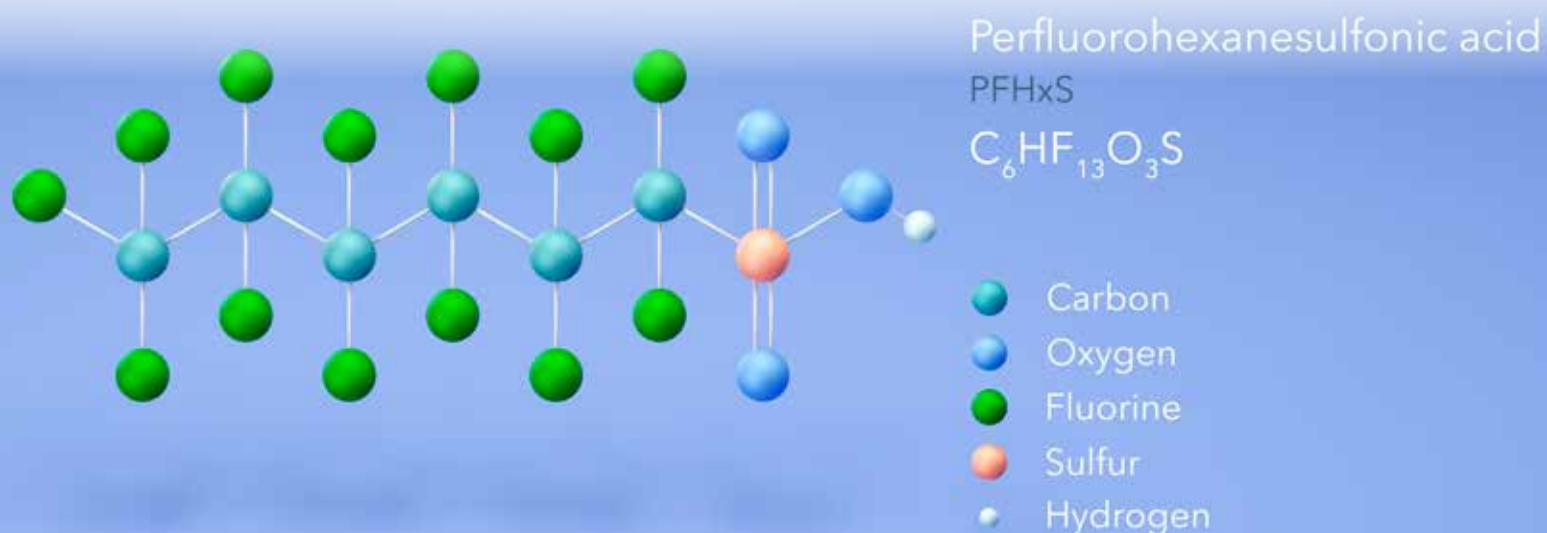
Alcune molecole come PFOA e PFOS, PFNA e PFHxS

non si degradano nell'ambiente né nell'organismo umano o animale e possono accumularsi nel tempo. Una delle potenziali fonti di esposizione per persone ed animali è sicuramente il cibo.

Gli alimenti possono essere contaminati nelle diverse fasi produttive da cause diverse e specificatamente:

- ▶ In campo a causa di terreni e/o acque di irrigazione contaminate.
- ▶ In allevamento a causa dell'utilizzo di mangimi e/o acque di abbeverata inquinate.
- ▶ In produzione per contatto con impianti ed attrezzature da cui migrano tali composti.
- ▶ Durante la vita a scaffale dei prodotti per migrazione dal packaging.

Per quanto sopra queste sostanze devono entrare a far parte della valutazione del rischio di tutti i produttori di alimenti e mangimi. A seguito della pubblicazione del Reg. CE 2388/2022 alcune Direzioni Regionali Sanità animale e Sicurezza alimentare hanno pubblicato Note in cui invitano gli OSA che commercializzano prodotti di origine animale ad implementare i propri piani di autocontrollo prevedendo anche analisi per la ricerca di PFAS su tali prodotti. Gli allevatori da parte loro, nell'ambito delle misure di controllo previste dall'allegato I del regolamento CE 852/2004, devono prendere in considerazione la possibilità di contaminazione a partire dall'acqua di abbeverata e dai mangimi.



Quali sono gli aspetti da prendere in considerazione per una corretta e robusta analisi del rischio? Come sempre quando si parla di contaminanti ambientali la conoscenza della supply chain è fondamentale per la corretta valutazione del grado di rischio a cui le proprie produzioni sono esposte.

Fattori quali:

- ▶ l'origine delle materie prime utilizzate;
- ▶ l'affidabilità dei propri fornitori in termini di attivazione di proprie valutazioni del rischio ed applicazione di piani di controllo;
- ▶ la dislocazione geografica di coltivazioni, allevamenti e stabilimenti di trasformazione;
- ▶ i materiali utilizzati negli impianti di produzione e/o per il confezionamento dei propri prodotti;

possono aumentare o diminuire la probabilità del pericolo PFAS.

In funzione del livello di rischio che ogni OSA identifica, è necessario poi attivare dei piani di monitoraggio per verificare se l'analisi del rischio implementata è corretta. Occorre infatti eseguire un numero di analisi adeguato a supportare le valutazioni sopra esposte. Qualora le analisi andassero poi ad individuare livelli di rischio maggiori rispetto a quelli identificati è necessario rivedere tale valutazione ed incrementare i controlli nonché coinvolgere tutta la supply chain in materia.

Quanto sia alta l'attenzione e la preoccupazione dell'esposizione umana nei confronti di questi in-

quinanti onnipresenti è testimoniato oltre che dalla pubblicazione delle norme prima citate anche dalla Raccomandazione (UE) 2022/1431 della Commissione del 24 agosto 2022 relativa al monitoraggio delle sostanze perfluoroalchiliche negli alimenti, con la quale si chiede di raccogliere dati di occorrenza per una ampia categoria di alimenti di largo consumo tra cui frutta, ortaggi, radici e tuberi amilacei, alghe marine, cereali, frutta a guscio, semi oleosi, alimenti destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia, alimenti di origine animale diversi da quelli già normati, bevande analcoliche, vino e birra. Il periodo di monitoraggio previsto è il triennio 2022-2025 e si raccomanda di estendere il numero di analiti monitorati includendo anche PFAS cosiddetti emergenti.

Al fine di armonizzare i laboratori e garantire risultati tra loro confrontabili, anche in ambito di autocontrollo, in concomitanza con la raccomandazione è stato emanato il Regolamento (UE) 2022/1428 che stabilisce metodi di campionamento e di analisi per il controllo delle sostanze perfluoroalchiliche in alcuni prodotti alimentari.

Laemmegroup e la rete dei laboratori del Gruppo Tentamus fornisce ai propri clienti supporto nella valutazione del rischio, nella predisposizione dei piani di monitoraggio e nell'esecuzione delle analisi.

## PFAS: what they are, where they are found, and how dangerous they are for human health.



Dr. Elisabetta Genta, Operation Manager at Laemmegroup

**S**ince 1/1/2023, the (EU) Regulation 2022/2388, amending (EC) Regulation 1881/2006, came into force relating to maximum values of perfluoroalkyl substances (PFAS) in some food categories: eggs, meat, fish, crustaceans, shellfish and offal of various species.

Moreover, the Legislative Decree N° 18 of 23 February 2023, "Implementation of EU Directive 2020/2184 relating to quality of water intended for human consumption" makes their detection and the respect of required limits mandatory starting from 12/1/2026.

The European Community introduced limits for PFAS following EFSA Advice issued in July 2020, which highlighted the risk for human health related to perfluoroalkyl substances in food. The European Food Safety Authority in fact concluded that these substances could cause damage to the development process and have noxious effects on the immune system.

But what are PFAS? Perfluoroalkyl substances, or PFAS, are a group of artificial chemicals including perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulphonate (PFOS), perfluorononanoic acid (PFNA), perfluorohexansulphonic acid (PFHxS), and many other substances. PFAS have been produced and used since the 1940s all over the world for different industrial applications. From a technical point of view, they are hydrophobic fluorinate alkyl chains in the form of acids that are used in liquid form, with a structure that makes them resistant to degradation processes. They are used mainly to make fat- and water-resistant various materials, including fabrics, paper, food boxes, to coat non-stick pans, and in the production of technical clothing.

Some molecules such as PFOA and PFOS, PFNA, and PFHxS do not degrade in the environment nor in the human or animal body, and they can build up over time.

One of the possible exposure sources for humans and animals surely is food.

Food can be contaminated during the different production steps by different causes, specifically:

- ▶ On the field, due to contaminated soil or irrigation water
- ▶ During farming, due to the use of polluted feed and/or drinking water
- ▶ During production, by the contact with plants and equipment from which these compounds migrate
- ▶ During product shelf life by migration from packaging.

For all these reasons, these substances must become part of the risk assessment for all food and feed producers. Following the issue of Reg. EC 2388/2022, some Regional Directions for Animal Health and Food Safety published some notes where they invite food industry operators marketing products of animal origin to implement their self-control plans and require analyses for the detection of PFAS in these products. Farmers, for their part, within the framework of the control measures provided in Annex I of EC Regulation 852/2004, must consider the possibility of contamination from drinking water and feed.

What are the aspects to consider for a correct and solid risk assessment? As always when talking about environmental contaminants, knowing the exact supply chain is a key step for the correct assessment of the risk degree to which productions are exposed.

Factors such as:

- ▶ the origin of raw materials that have been used,
- ▶ the reliability of suppliers as for their own risk assessment procedures and control plans application,
- ▶ the geographical location of cultures, farming, and transformation plants,
- ▶ materials used in production plants and/or for product packaging,

may increase or decrease the probability of PFAS danger. According to the risk level that each food industry operator identifies, it is required to activate monitoring plans to verify whether the risk assessment is correct. In fact, it is necessary to perform a number of analyses adequate to support the above assessments. If the analyses detect higher risk levels than those identified, it is necessary to review the assessment and increase controls, as well as to involve the whole supply chain.

The high level of attention and concern about human exposure to these ubiquitous pollutants is evidenced not only by the publication of the standards mentioned above but also by Commission Recommendation (EU) 2022/1431 of 24 August 2022 relating to the monitoring of perfluoroalkyl substances in food. The Recommendation asks to collect data for a wide category of consumer foods, including fruits, vegetables, starchy roots and tubers, marine algae, grains, nuts, oilseed, food for infants and young children, food of animal origin different from the already regulated ones, non-alcoholic beverages, wine, and beer. The expected monitoring period is 2022-2025 and it is recommended to extend the number of monitored analytes, including the so-called emerging PFAS.

Together with the Recommendation, (EU) Regulation 2022/1428 has been issued to harmonize laboratories and ensure comparable results, also as for self-control and to lay down sampling and analysis methods for the control of perfluoroalkyl substances in certain foodstuffs.

Laemmegroup and the laboratory network of Tentamus Group provide its customers support for risk evaluation, the implementation of monitoring plans, and the execution of analyses.

## Aria compressa aziendale: contaminanti e campionamento

- Dott.ssa Giulia Carini, Chemistry and Microbiology Manager di MK  
- Dott. Andrea Bartolucci, Chemical Technician di MK

L'aria compressa è utilizzata nei processi di produzione dalla maggior parte delle aziende dell'industria alimentare. Nell'aria compressa possono essere presenti inquinanti come microrganismi, oli minerali e particelle che possono contaminare il prodotto finale e causare un enorme danno all'azienda. Il monitoraggio dell'aria compressa riduce questo rischio ed è fondamentale per proteggere il consumatore e garantire un processo più sicuro.

L'aria può contenere tracce di contaminanti come virus, batteri, funghi, lieviti, oli minerali, particelle solide o gas: quando l'aria viene compressa, il numero di questi contaminanti aumenta in maniera considerevole. L'utilizzo di aria compressa non sufficientemente pulita può causare negli anni un malfunzionamento dei macchinari e contaminare gli alimenti, conferendo ad esempio sapori, odori o umidità indesiderati, con conseguenti perdite di qualità. Le applicazioni tipiche dell'aria compressa nell'industria alimentare sono processi come la pulizia, il riempimento, la miscelazione, la spruzzatura, il taglio, il trasporto e l'imballaggio. Durante queste diverse fasi, a seconda dell'applicazione, si verifica un **contatto diretto** e/o **indiretto** tra l'aria compressa e il prodotto.

I contaminanti che normalmente sono presenti nell'aria compressa sono: contaminati solidi (polveri), contaminati liquidi (oli minerali), microrganismi. Il gruppo dei contaminanti solidi comprende particelle di impurità come polline, fibre di polvere, fuliggine e metalli pesanti che possono provenire dalla linea di distribuzione. Questi contaminanti sono indipendenti dalla tecnologia di compressore utilizzata.

A seconda dell'ambiente di lavoro queste particelle possono avere anche caratteristiche chimiche tali da provocare corrosione dei serbatoi polmone e del sistema di distribuzione o altri danni collaterali.

Per generare aria compressa sono utilizzati compressori "oil-free" o compressori lubrificati. Nel primo caso l'aria compressa in uscita può non essere automaticamente "oil-free", perché l'aria aspirata contiene idrocarburi o olio in forma gassosa. Nei compressori lubrificati, invece, viene impiegato olio minerale per il raffreddamento e la tenuta. L'aria compressa in uscita è quindi inevitabilmente contaminata da olio. I fattori che determinano il trascinarsi dell'olio sono da imputare agli sforzi meccanici all'interno del compressore che formano vapori, nebbie e micronebbie talmente sottili che i separatori ad uno stadio non sono in grado di fermare.

Dopo la compressione dell'aria ambientale da parte del compressore, l'aria in uscita è calda e satura di umidità: queste condizioni sono ideali per la proliferazione di germi e batteri. I microrganismi

che possono interessare l'aria compressa sono spore fungine, spore batteriche, forme vegetative definite particelle microbiologiche.

Durante il campionamento delle polveri l'aria proveniente dalla linea è deviata all'interno di un porta-filtro contenente un idoneo filtro per la successiva valutazione. La determinazione del quantitativo di polvere raccolta sui filtri è effettuata con metodo gravimetrico a pesata differenziale.

Il campionamento di aerosol e gas o vapori contenuti nella corrente dell'aria compressa si esegue mediante cattura su filtri in fibra di vetro ed adsorbimento su supporto solido specifico (carbone). Il flusso d'aria proveniente dalla linea viene poi convogliato sulla superficie della piastra contenente il terreno nutritivo scelto in base alla ricerca microbiologica da effettuare (Microrganismi a 30°C – TSA Tryptic Soy Agar; Muffe e Lieviti – Sabouraud Dextrose Agar).

La velocità di campionamento è sempre regolata in maniera tale da avere una portata costante e definita. I risultati del campionamento vengono espressi a seconda del parametro come mg/m<sup>3</sup> (polveri e oli) o UFC/m<sup>3</sup> (microrganismi).

Non esistono leggi specifiche valide a livello internazionale che regolamentino l'impiego dell'aria com-

Table 3  
Compressed air purity classes for total oil

Class	Concentration of total oil* (liquid, aerosol and vapour) mg/m <sup>3</sup>
0	As specified by the equipment user or supplier and more stringent than class 1
1	≤ 0,01
2	≤ 0,1
3	≤ 1
4	≤ 5
X	> 5

\* At reference conditions; see Clause 4.

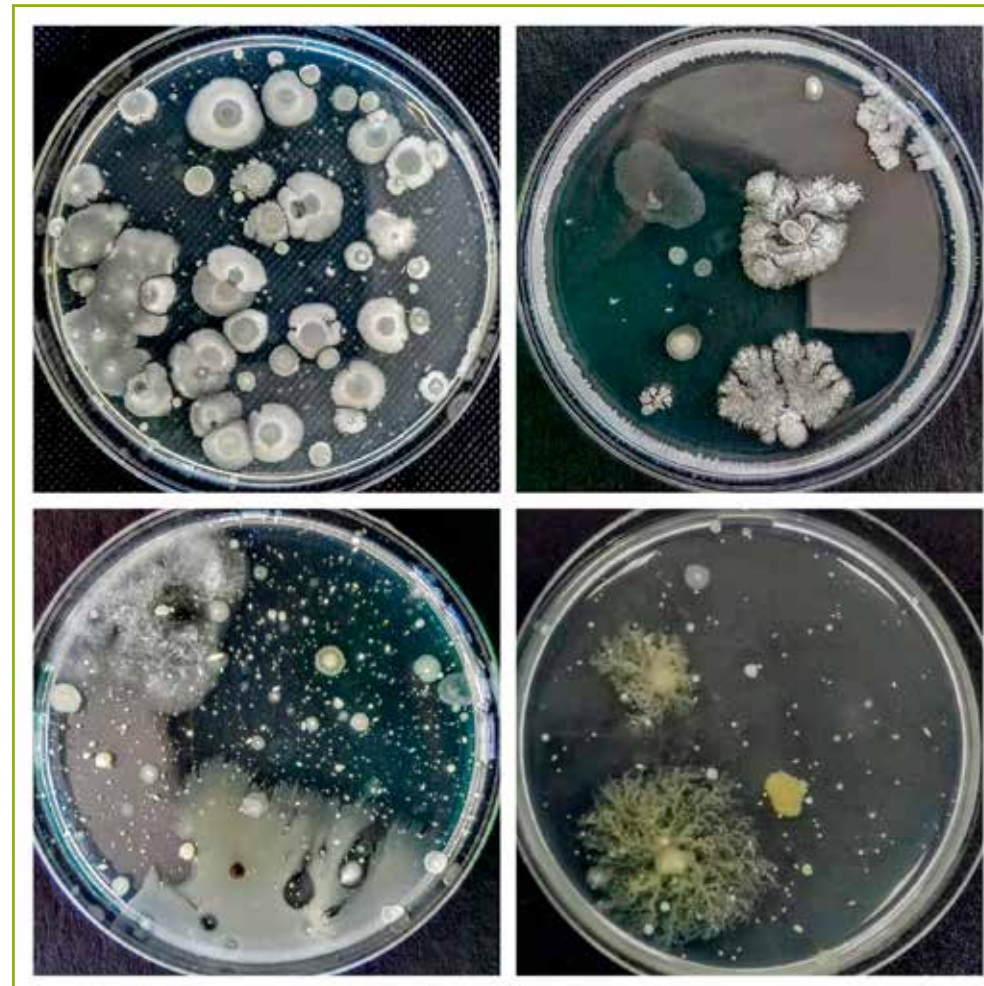
Tabella estratta da ISO 8573-1:2010  
Table extracted from ISO 8573-1:2010 standard

pressa in ambito alimentare. Ciò nonostante la qualità dell'aria compressa ha un impatto diretto sulla sicurezza degli alimenti e per questo le aziende devono monitorarla.

Lo standard BRC (British Retail Consortium) e la British Compressed Air Society (BCAS) hanno sviluppato un codice di condotta che indica gli standard

minimi di purezza (qualità) dell'aria compressa e definisce i livelli ammissibili di impurità, acqua e olio con riferimento ai livelli specificati nella ISO 8573-1. Questo standard internazionale fornisce alcune raccomandazioni generali e specifica la quantità ammissibile dei tre principali contaminanti (particelle solide, acqua e olio) per metro cubo di aria compressa e definisce delle classi di qualità sulla base di questi contaminanti.

Secondo il codice di condotta, il rischio di contaminazione microbiologica deve essere stabilito dalle analisi HACCP. Il livello di microrganismi deve risultare entro i valori di riferimento indicati nella norma ISO 8573-7.



[Value of actual, average measured value (see Annex B) for...]	
Microbiological organism	CFU/m <sup>3</sup> given at reference conditions*
Bacteria	100
Yeast	14
Fungi	No indication
Endoro-bacteria	50
Pressure to which the measurement refers	...MPa [=bar (e)]
[Statement regarding the applicable uncertainty... (see Clause 7)]	
Date of calibration record	yyyy/mm/dd

\* Reference conditions:  
Temperature 20°C  
Pressure 0,1 MPa (= 1 bar).  
Reference humidity does not affect volume in this application.

Figure A.1 - Sample test report

Tabella estratta da ISO 8573-7:2003 / Table extracted from ISO 8573-7:2003 standard

## Plant compressed air: sampling and contaminants

- Dr. Giulia Carini, Chemistry and Microbiology Manager at MK
- Dr. Andrea Bartolucci, Chemical Technician at MK



**C**ompressed air is used during production processes by most companies in the food industry. In compressed air, pollutants such as microorganisms, mineral oils, and particles can be present, which could contaminate the final product and cause huge damage to the company. Compressed air monitoring reduces this risk and is very important to protect consumers and ensure a safer process.

Air can contain contaminant traces such as viruses, bacteria, fungi, yeasts, mineral oils, solid particles, or gases. When the air is compressed, the number of these contaminants rises significantly. The use of not enough clean compressed air can cause machines to malfunction during years and contaminate food, for example by giving undesired tastes, smells or moisture, with a resultant loss of quality.

Typical applications of compressed air in the food industry are processes such as cleaning, filling, mixing, spraying, cutting, transportation, and packaging. During these different stages, and depending on the application, **direct** and/or **indirect contact** takes place between compressed air and the product.

Contaminants that are normally present in compressed air are solid contaminants (dust), liquid contaminants (oils), and microorganisms.

The group of solid contaminants includes impurity particles such as pollen, dust fibres, soot, and heavy metals that may come from the distribution line. These contaminants are independent from the compressing technology used. Depending on the workplace, these particles can also have chemical features that cause the corrosion of balance tanks and of the distribution system or other side damages.

To generate compressed air, oil-free compressors or lubricated compressors are used. In the first case, the outgoing compressed air cannot be automatically oil-free, because the inlet air contains hydrocarbons or oil in a gas form. In the lubricated compressors mineral oil is used for cooling and sealing. The outgoing compressed air is so inevitably contaminated by oil. Factors determining oil dragging are to be attributed to mechanical stresses within the compressor, which form vapours, mists, and micro-mists so thin that separators are not able to stop them.

After ambient air compression by the compressor, the outgoing air is hot and saturated by moisture: these are ideal conditions for germs and bacteria to proliferate. Microorganisms that could affect compressed air are fungi spores, bacteria spores, and vegetative forms defined as microbiological particles.

During dust sampling, the air coming from the line is deviated within a filter holder containing a proper filter to the following assessment. Determination of dust quantity on filters is performed by a gravimetric method with differential weighing.

The sampling of aerosols and gas contained in the stream of compressed air is performed by capture on glass fibre filters and adsorption on a specific solid support (coal).

The air stream coming from the line is then conveyed on the plate surface containing the nutrient medium that is chosen based on microbiologic research to be performed (microorganisms at 30 °C - TSA Tryptic Soy Agar; moulds and yeasts - Sabouraud Dextrose Agar).

The sampling speed is always regulated so as to have a steady and well-defined flow rate.

Depending on the analyte, sampling results are expressed as mg/m<sup>3</sup> (dust and oils) or CFU/m<sup>3</sup> (microorganisms).

There are no specific, internationally valid laws regulating the use of compressed air in the food industry. Nevertheless, the quality of compressed air has a direct impact on food safety and therefore companies must monitor it.

The BRC (British Retail Consortium) standard and the British Compressed Air Society (BCAS) developed a conduct code setting minimum purity levels (quality) for compressed air and defining the allowable levels for impurities, water, and oil, with reference to the levels specified in the ISO 8573-1 Standard. This international standard provides some general information and specifies the allowable quantity for the three main contaminants (solid particles, water, and oil) per cubic metre of compressed air, and sets some quality classes based on these contaminants.

According to the conduct code, the risk of microbiological contamination must be defined by HACCP analyses. Microorganism level must be within the reference values given in the ISO 8573-7 Standard.



## “Mi scusi, questo vino sa di 3-MPD”

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

- Dott. Tommaso Daidone, Chemical Analyst del Centro Analisi C.A.I.M.

La glicerina, o glicerolo, è una tra le molecole più importanti e abbondanti nel vino. Chimicamente si tratta di un **poliolo** (polialcol) che allo stato puro consiste in un liquido sciropposo ed incolore caratterizzato da una pseudo-dolcezza. La sua genesi nel vino deriva direttamente dall'azione dei lieviti durante la fermentazione gliceropiruvica. Essa infatti costituisce la prima molecola, in ordine di abbondanza, tra i prodotti secondari della fermentazione alcolica, raggiungendo concentrazioni comprese tra i 3 ed i 10 g/l in funzione della varietà di uva utilizzata, del tipo di lievito, della quantità iniziale degli zuccheri e della temperatura di fermentazione. La sua esatta concentrazione è facilmente determinabile mediante la stessa metodica analitica utilizzata per la determinazione degli zuccheri in HPLC-RID (cromatografia liquida con rivelatore ad indice di rifrazione).

A differenza di altri prodotti secondari della fermentazione, come l'acido acetico, la presenza del glicerolo in concentrazioni rilevanti conferisce qualità al vino, conferendogli morbidezza, rotondità e dolcezza che vanno a contrastare la durezza e spigolosità conferita dalla componente polifenolica. Il glicerolo può essere prodotto industrialmente attraverso molte vie sintetiche. Le più comuni prevedono il processo di transesterificazione di oli e grassi animali e vegetali o distillazioni e reazioni di prodotti petrolchimici. La glicerina sintetica trova numerosi impieghi in campo cosmetico, farmaceutico e alimentare oltre che nell'industria delle vernici e prodotti affini.

L'aggiunta della glicerina tecnica nel vino al fine di esaltarne le qualità organolettiche non è consentita in quanto rappresenta una sofisticazione portando quindi ad una adulterazione del prodotto finale.

L'individuazione di questo tipo di contraffazione è possibile mediante l'individuazione di alcuni marker specifici: le diglicerine cicliche ed il 3-metossipropan-1,2-diolo (3-MPD).

Queste molecole, infatti, non vengono generate dalla naturale fermentazione causata dai lieviti nel vino e sono presenti come impurezze nelle glicerine tecniche e di conseguenza, se presenti nel vino, confermano che il glicerolo presente nel prodotto è di origine esogena. Le diglicerine cicliche, costituite da due molecole di glicerina legate tra loro, sono sei composti che nascono dalla produzione del preparato tecnico a partire dai prodotti petrolchimici mentre il 3-MPD deriva dalla transesterificazione dei trigliceridi (grassi) per mezzo del metanolo.



L'analisi, come previsto nel metodo ufficiale OIV-MA-AS315-15 R2007, viene eseguita estraendo le molecole d'interesse dalla matrice vino mediante solventi organici ed analizzando l'estratto mediante gascromatografia con detector a spettrometria di massa (GC-MS). L'applicazione di questa tecnica, molto più sensibile rispetto a quella utilizzata per la determinazione del glicerolo, è necessaria in quanto tali molecole sono molto poco abbondanti nella glicerina tecnica e, di conseguenza, la loro concentrazione nel vino è molto bassa.

A fronte di una richiesta sempre maggiore di questa determinazione, sia da parte degli organi di controllo Italiani che da quelli esteri, il laboratorio Centro Analisi CAIM ha messo a punto la metodica analitica, al fine di dare un riscontro rapido ed esaustivo alle aziende interessate. Il laboratorio ha in programma l'accreditamento del metodo in

accordo con la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025 entro la fine dell'anno 2023.

### CURIOSITÀ

La formazione degli archi sulla superficie dei calici durante la rotazione è spesso collegata alla presenza di glicerolo nel vino. Questo in realtà non è corretto in quanto essi dipendono direttamente dal titolo alcolometrico del prodotto. Infatti l'alcol, più volatile rispetto all'acqua e agli altri componenti presenti nel vino, tende a risalire più velocemente le pareti del bicchiere creando così i caratteristici archetti.



## “Sorry, this wine tastes like 3-MPD”

- Dr. Bruno Silverio, Technical Manager of Centro Analisi C.A.I.M.
- Dr. Tommaso Daidone, Chemical Analyst of Centro Analisi C.A.I.M.



**G**lycerine, or glycerol, is one of the most important and abundant molecules in wine. From a chemical point of view, it is a **polyol** (polyalcohol) that in its pure state is a syrup-like uncolored liquid characterized by a pseudo-sweet taste. Its origin in wine directly arises from yeasts' action during glycerol-pyruvic fermentation. In fact, it is the first molecule, as for abundance, among alcoholic fermentation by-products, reaching concentrations between 3 and 10 g/l according to the grape variety, the kind of yeast, the initial amount of sugars, and the fermentation temperature. Its exact concentration is easily detectable by the same analytical method used for the detection of sugars by HPLC-RID (liquid chromatography with refraction index detector). Unlike other fermentation by-products, such as acetic acid, glycerol in high concentration provides qualities to wine, giving it softness, roundness, and sweetness that counteract the hardness and sharpness brought by polyphenol components.

Glycerol can be industrially produced through many synthetic pathways. The most common pathways involve the transesterification process of animal and vegetal oils and fats or distillations and reactions of petrochemical product. Synthetic glycerine has several uses in cosmetics, pharmaceutical, and food sectors and the paints and similar products industry. The addition of technical glycerine in wine to enhance its organoleptic qualities is forbidden since it represents an adulteration of the final product. The detection of this kind of counterfeiting is possible with the detection of some specific markers: cyclic diglycerines and 3-methoxypropan-1,2-diol (3-MPD). In fact, these molecules are not generated by natural fermentation caused by yeasts in wine and are present as impurities in technical glycerine. Consequently, if they are present in wine, they confirm that glycerol in the product is of exogenous origin. Cyclic diglycerines are formed by two glycerine molecules bound to each other. They are six compounds deriving from the production of a technical preparation from petrochemical products, while 3-MPD derives from triglycerides (fats) transesterification by methanol. As required by OIV-MA-AS315-15 R2007 official method, the analysis is performed in isotopic dilution by extracting interest molecules from a wine matrix with organic solvents and analyzing the extract by

gas-chromatography with mass spectrometry detector (GC-MS). The application of this technique, far more sensitive than the one used to detect glycerol, is required since these molecules are very low in abundance in technical glycerine and so their concentration in wine is very low.

In view of the ever-increasing demand for this detection, both by Italian and foreign control bodies, the Centro Analisi CAIM laboratory set the analytical method, to give fast and complete feedback to concerned companies. The laboratory plans method accreditation according to EN ISO/IEC 17025 Standard by the end of 2023.

### FUN FACT

The formation of arcs of wine residue on the glass surface during rotation is often connected to glycerol in wine. This is not correct since arcs directly depend on the alcoholic title of the product. In fact, alcohol is more volatile than water and other components in wine and tends to climb glass walls more rapidly, so creating characteristic arcs.

## Dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD): un mondo ancora da esplorare

Dott.ssa Valentina Balbi, Regulatory Affairs Consultant di ISEMED

A differenza dei dispositivi medici classici, che rientrano in una gestione consolidata da anni grazie alla disponibilità non solo di direttive e regolamento, ma anche di tutta una famiglia di norme e di linee guida (MEDDEV e MDCG in primis), per quanto riguarda i **dispositivi diagnostici in vitro (IVD)** la strada da percorrere è sicuramente ancora impegnativa e corredata di interessantissime sfide.

Il nuovo Regolamento (EU) 2017/746 darà sicuramente rilievo ai dispositivi IVD, spesso scarsamente conosciuti in termini di:

**“Health Technology Assessment” (HTA)**, che si basa su evidenze scientifiche, derivanti da studi, che vengono presi in considerazione per specifiche tipologie di interventi sanitari su determinate popolazioni di pazienti, confrontando i risultati con quelli di altre tipologie di tecnologie sanitarie o con standard/protocolli di cura riconosciuti. Le tecnologie oggetto di valutazione possono essere farmaci, dispositivi medici, vaccini, procedure e, più in generale, tutti i sistemi sviluppati per risolvere problemi di salute e migliorare la qualità della vita.

**“Evidence Based Medicine” (EBM)**, vale a dire una medicina basata sulle evidenze, sull'uso coscienzioso, esplicito, giudizioso e ragionevole delle moderne e migliori evidenze nel prendere decisioni sulla cura dei singoli pazienti. L'EBM integra l'esperienza clinica e i valori dei pazienti con le migliori informazioni di ricerca disponibili, e permetterà di analizzare al meglio dispositivi che possono migliorare la pratica clinica.

La diagnostica in vitro, infatti, costituisce un elemento essenziale nel determinare lo stato di salute di una persona fornendo informazioni in ogni fase del percorso di cura del paziente, dalla prognosi, lo screening, la diagnosi, il monitoraggio della progressione della malattia e previsione delle risposte al trattamento.

Data la fondamentale utilità dei dispositivi IVD, tutti gli attori coinvolti, in particolare i fabbricanti, saranno chiamati a dare un importantissimo contributo alla definizione di quelle linee generali che potranno essere applicate a tali prodotti e che permetteranno la loro giusta collocazione nel mercato dei dispositivi medici.

Vi sono particolari “aspetti” che possono risultare come acquisiti dai fabbricanti (e dalle figure tecniche coinvolte nella realizzazione di IVD), ma che ancora creano notevoli difficoltà quando si tratta di dover calare determinati concetti nella gestione dei processi per lo sviluppo dei dispositivi e la realizzazione della documentazione tecnica, corredo indispensabile per il soddisfacimento dei requisiti generali di sicurezza e prestazione applicabili - Allegato I, IVDR.

In tal senso, dunque, i fabbricanti di dispositivi IVD dovrebbero far proprie alcune questioni, quali ad esempio:

- ✓ cosa è necessario conoscere del proprio dispositivo, in termini di requisiti minimi, per dimostrare la sicurezza e le prestazioni in base alla normativa IVD (IVDR allegato I);
- ✓ quali sono le fasi strategiche dei processi di progettazione, sviluppo e fabbricazione da conoscere e gestire durante la realizzazione di un prodotto IVD (IVDR art. 10 punto 8g e allegati IX-XI);
- ✓ come comprendere le definizioni di valutazione delle prestazioni, e gestirne i processi, che incorporano l'evidenza clinica, ai sensi della normativa vigente, sui diagnostici in vitro (IVDR articolo 56 e allegato XIII parte A);
- ✓ come identificare gli studi analitici di prestazione richiesti ed applicabili (IVDR allegato II punto 6);
- ✓ quali studi sulle prestazioni cliniche esplorare, compresi i requisiti legali e normativi e le considerazioni pratiche (IVDR artt. 57-77 e allegato XIII parte A, MDCG 2022-19 e MDCG 2022-20);
- ✓ quali sono le metodologie da eseguire per verificare e validare correttamente il dispositivo IVD (IVDR allegato II punto 6);
- ✓ come documentare, in modo efficace ed efficiente, le evidenze cliniche mantenendo una adeguata documentazione tecnica per tutto il ciclo di vita del prodotto (IVDR allegato II, MDCG 2022-2).

L'attuazione del Nuovo Regolamento Europeo per i dispositivi diagnostici in vitro (IVDR – EU 2017/746), introduce non solo molte novità come la classificazione, gli obblighi per i fabbricanti, il rafforzamento

dell'attività di vigilanza e sorveglianza post-marketing, ma evidenzia anche diverse criticità soprattutto inerenti alla loro commercializzazione ed un deciso aumento del livello di attenzione da porre su aspetti fondamentali quali la documentazione tecnica.

Per quanto riguarda l'immissione in commercio di tali dispositivi, infatti, è stato previsto un periodo di transizione tra il Regolamento Europeo (EU) 2017/746 e la direttiva della Comunità Economica Europea 98/79/CEE che permetterà il commercio di dispositivi autorizzati da entrambe le normative in base alla classe di rischio del dispositivo stesso.

Il nuovo Regolamento prevede la classificazione degli IVD in quattro classi di rischio (A-B-C-D) in funzione della destinazione d'uso e dei rischi che esso comporta. Solo la classe a minor rischio (A) può e continuerà ad usufruire dell'autocertificazione per l'immissione in commercio, mentre le altre classi saranno soggette a verifica e certificazione da parte di Organismi Notificati.

Questo aumento in termini di sicurezza, grazie all'entrata in vigore del regolamento IVDR, permetterà sicuramente un up-grade in termini di efficacia clinica, ma i fabbricanti dovranno prevedere di investire nell'implementazione di un'ideale documentazione da sottoporre all'Organismo Notificato ai fini dell'ottenimento della Marcatura CE in conformità ai requisiti del Regolamento IVDR.

Il team di ISEMED ha maturato una profonda esperienza in merito ai dispositivi medico-diagnostici in vitro e può assistere i fabbricanti nella marcatura di nuovi dispositivi o in transito dalla direttiva 98/79/CEE al Regolamento IVDR in maniera sicura ed efficace, ma al tempo stesso metodica e pragmatica.



## In vitro diagnostic medical devices (IVDs): a world yet to be explored



Dr. Valentina Balbi, Regulatory Affairs Consultant at ISEMED

Unlike classical medical devices, belonging to a well-consolidated management thanks to the availability of directives and regulations, but also of a family of standards and guidelines (first of all MEDDEV and MDCG), for what concerns **in vitro diagnostic medical devices (IVDs)**, the route ahead is surely still demanding and full of interesting challenges.

The new EU Regulation 2017/746 will surely highlight IVD devices, often poorly known for:

**“Health Technology Assessment” (HTA)**, based on scientific evidence, resulting from studies that are considered for specific kinds of health procedures on certain patient populations, by comparing the results with those from other kinds of health technologies or with well-known care standards/protocols. These technologies can be drugs, medical devices, vaccines, procedures, and, more generally, all the systems developed to solve health issues and improve life quality.

**“Evidence-Based Medicine” (EBM)**, that is a medicine based on evidence, on the conscientious, explicit, judicious, and reasonable use of modern and better evidence to take decisions on single patient care. The EBM integrates clinical experience and patient values with the best research information available,

and it will allow us to analyze, at best, devices that could improve the clinical practice. In fact, in vitro diagnostics, is essential, to determine the health status of a subject, providing information at each step of the care pathway of a patient, starting from prognosis to screening, diagnosis, the monitoring of illness progression, and forecasting of treatment responsiveness.

Given the fundamental usefulness of IVD, all actors involved (particularly the manufacturers) will be asked to give an important contribution to define general guidelines that could be applied to those products and that will allow their correct collocation in the market of medical devices.

There are some particular “aspects” that may be acquired by manufacturers and technical people involved in IVD production. These aspects still create considerable difficulties when it comes to the implementation of certain concepts in process

management for the development of devices and the realization of technical documentation that are indispensable equipment for fulfilling general safety and performing applicable requirements, as for Annex I IVDR.

In that sense, IVD manufacturers should take up some issues, such as:

- ✓ the knowledge about the device, as for minimal requirements, to demonstrate safety and performance based on IVD legislation (IVDR Annex I);
- ✓ the strategic steps in designing, development, and manufacturing processes I have to know and manage during the production of an IVD product (IVDR art. 10(8g) and Annexes IX-X-XI);
- ✓ the understanding of performance assessment definitions, and of processes incorporating clinical evidence to manage, according to in-force legislation about in vitro diagnostic devices (IVDR art. 56 and Annex XIII part A);
- ✓ the capacity to identify performance analytical studies required and applicable (IVDR Annex II point 6);
- ✓ the studies on clinical performance I have to explore, including legal and regulatory requirements and practical considerations (IVDR arts. 57-77 and Annex XIII part A, MDCG 2022-19, and MDCG 2022-20);
- ✓ the methodologies to be performed to verify and correctly validate the IVD device (IVDR Annex II point 6);
- ✓ the best way to record, effectively and efficiently, clinical evidence, I keeping adequate technical documentation for all product lifecycle (IVDR Annex II, MDCG 2022-2).

The implementation of the new Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) not only introduces many new features such

as classification, obligations for manufacturers, the strengthening of post-marketing surveillance, and supervision, but it also highlights some critical points above all concerning their marketing and a marked increase in the level of attention to be paid to fundamental aspects such as technical documentation.

With regard to the marketing of these devices, a transitional period was planned between European Regulation (EU) 2017/746 implementation and the EEC Directive 98/79/EEC that will allow the marketing of devices authorized according to both regulations based on their risk class.

The new Regulation requires IVD's classification into four risk classes (A-B-C-D) depending on the intended use and the risks it entails. Only the lower-risk class (A) will take advantage of self-certification for marketing, while other classes will be subjected to verification and certification by Notified Bodies.

This increase in safety, thanks to the IVDR Regulation, will surely allow an upgrade in terms of clinical efficacy, but manufacturers must expect to invest in the implementation of appropriate documentation to be submitted to the Notified Body to obtain CE Marking according to IVDR Regulation requirements.

ISEMED team has a deep experience with in vitro diagnostic medical devices and can assist manufacturers in the CE marking process of new devices or in the transition of devices from the Directive 98/79/EEC to IVDR Regulation safely and effectively, but also methodically and pragmatically.



A Tentamus Company

## Il saggio di mutagenicità in vitro: THE AMES TEST

- Dott.ssa Irene Calanchi, Microbiology Analyst di Renolab  
- Dott.ssa Francesca Turra, Microbiology Analyst di Renolab

### DEFINIZIONI

- ✔ **MUTAZIONE** S'intende una variazione permanente della quantità o della struttura del materiale genetico di una cellula. Il termine «mutazione» designa sia i mutamenti genetici ereditari, sia le modificazioni sottostanti del DNA.
- ✔ **DNA** Acronimo per acido desossiribonucleico, una grande molecola composta da nucleotidi a cui è affidata la codificazione delle informazioni genetiche; costituisce la sostanza fondamentale del gene ed è responsabile della trasmissione dei caratteri ereditari.
- ✔ **GENE** Porzione di DNA che contiene le informazioni per produrre una o più proteine. È l'unità fisica e funzionale del materiale ereditario che è trasmesso dai genitori ai figli.
- ✔ **AUXOTROFO** Organismo incapace di sintetizzare un determinato composto organico necessario per la propria crescita (come vitamine o amminoacidi) e che può crescere dunque solo se la sostanza viene fornita dall'esterno.
- ✔ **PROTOTROFO** Contrario di auxotrofo, microrganismo in grado di sintetizzare tutti i composti organici necessari.
- ✔ **FENOTIPO** Insieme delle caratteristiche morfologiche e funzionali che un organismo manifesta e che sono determinate dall'interazione tra fattori ambientali e genotipo, ovvero la costituzione genetica di un individuo.

### INTRO

Gli agenti mutageni sono tutte quelle sostanze che provocano cambiamenti della sequenza del DNA e che potenzialmente potrebbero quindi determinare un'alterazione dell'informazione genetica portando all'aumento del rischio cancerogeno. Si preferisce il termine "agenti" e non di "sostanze" in quanto esistono mutageni di diversa natura, fisici biologici e chimici. A questi ultimi appartengono diverse categorie come i solventi (es. benzene), i coloranti (es. ammine aromatiche), metalli pesanti (es. composti del cromo esavalente), sostanze contenute nel fumo di sigaretta ma anche sostanze di origine naturale che possiamo ritrovare negli alimenti (es. aflatoxina B1).



La classificazione in questo ambito è stabilita da diversi enti riconosciuti tra cui: UE (Regolamento CLP), IARC, ACGIH, EPA, NTP. In questo articolo faremo riferimento all'attuale normativa imposta dall'UE. Il regolamento CLP (Classification, Labelling and Packaging) dell'UE (Regolamento CE n. 1272/2008) impone che tutti i prodotti chimici messi in commercio che mostrano attività mutagena o cancerogena riportino in etichetta e nella scheda di dati sulla sicurezza, un codice di indicazione di pericolo (H340 per i mutageni e H350 per i cancerogeni) e un pittogramma che metta in allerta i consumatori. Definisce inoltre i limiti di concentrazione che determinano la classificazione di una miscela.

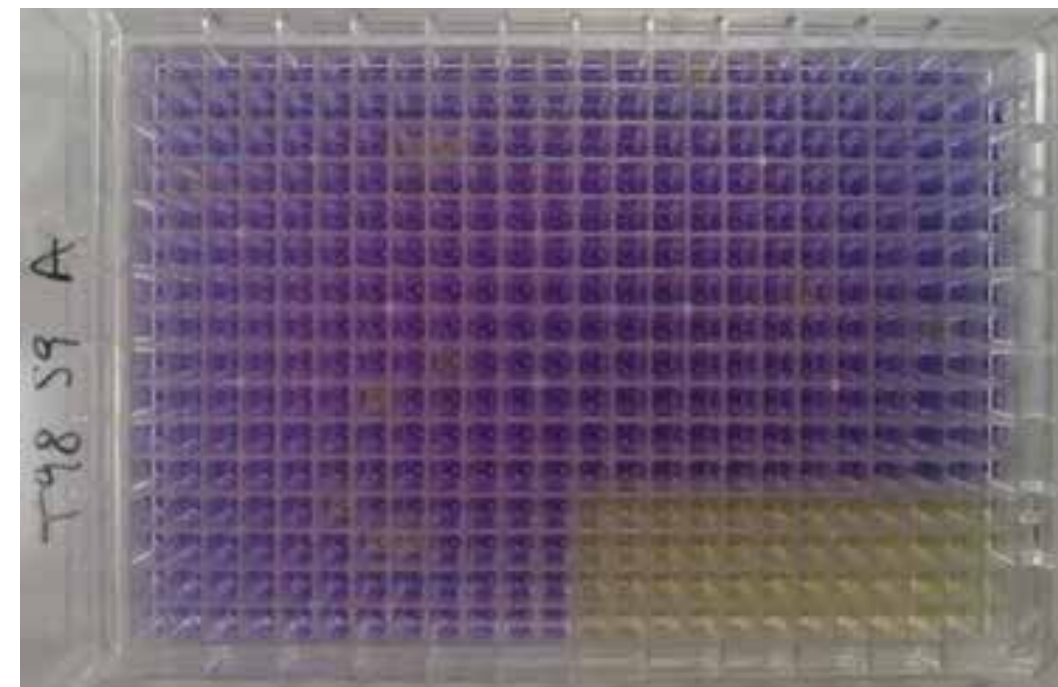
### VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ MUTAGENA

L'attività mutagena di una molecola può essere valutata in laboratorio mediante dei test *in-vitro* utilizzando dunque cellule o tessuti. Uno dei saggi più utilizzati è il test di Ames, ideato nel 1973 dal biochimico americano Bruce Nathan Ames, che viene eseguito esponendo una coltura batterica all'agente in esame.

Il principio si basa sul presupposto che la struttura del DNA è uguale in ogni organismo vivente, perciò è possibile impiegare anche organismi semplici come i batteri per individuare rapidamente dei mutageni, senza la necessità di utilizzare i mammiferi come cavie.

Il saggio prevede l'utilizzo di microrganismi auxotrofi, non in grado di effettuare la biosintesi di un amminoacido essenziale per la loro sopravvivenza. Il test ha l'obiettivo di quantificare quanto il composto chimico in analisi è in grado di indurre una mutazione che permetta ai batteri di riacquistare la loro capacità di crescere in un ambiente privo di quella sostanza vitale e quindi di sintetizzare l'amminoacido prima mancante.

Normalmente si impiegano ceppi di *Salmonella Thyphimurium* che presentano un deficit nella via biosintetica dell'amminoacido istidina (His) e ceppi di *Escherichia Coli* auxotrofi per l'amminoacido triptofano (Trp). In questo modo i batteri risultano incapaci di proliferare in terreni privi del rispettivo amminoacido. Se la sostanza in esame



**Figura 1** - Esempio di 384-well plate: ceppo di Salmonella T98 auxotrofo, a contatto con le diverse diluizioni del prodotto in esame, c+ (pozzetti virati in giallo in basso a dx) e c-.

**Figure 1** - Example of a 384-well plate: auxotrophic Salmonella T98 strain contacting different dilutions of the substance to be tested, c+ (wells turned yellow, bottom right) and c-.

è mutagena, indurrà una mutazione determinando il riacquisto la capacità di sintetizzare l'amminoacido necessario alla loro crescita e quindi di poter proliferare in un terreno che ne è privo; da auxotrofi diventano perciò prototrofi.

Storicamente, il test veniva eseguito utilizzando terreni di coltura solidi sui quali venivano fatti crescere i microrganismi mutati. Al centro della piastra veniva posizionato un dischetto di cotone imbevuto con la sostanza in esame. Dopo 48 ore di incubazione, si andava a valutare l'alone di inibizione della crescita cellulare.

Se la molecola in esame fosse stata mutagena, i batteri sarebbero andati incontro ad una mutazione (reversione) nel gene compromesso permettendo così al batterio di sintetizzare determinando la sopravvivenza della coltura.

Attualmente, in seguito all'enorme aumento del numero di sostanze che necessitano questo tipo di analisi, è stato possibile sviluppare test molto più rapidi rispetto al classico test di Ames, come AMES TEST MPF (Micro Plate Format) che pur rimanendo fedele ai principi del test classico, offre numerosi vantaggi come:

- Ceppi batterici controllati
- Velocità o Semplicità o Praticità o Basso costo

La tecnica diminuisce notevolmente il consumo del campione, oltre che a ridurre la laboriosità ed i rischi di errore che comporta. Inoltre, elimina la potenziale variabilità fra i test eseguiti separatamente, causati dalla necessità di un maggior numero di passaggi, essendo quindi più riproducibile.

### PROCEDURA ANALITICA

La linea guida OECD 471 per il test delle sostanze chimiche raccomanda l'uso di almeno 5 ceppi batterici che vengono esposti in triplicato a 6 concentrazioni del campione da testare, assieme ad un controllo positivo e un controllo negativo, per 90 minuti in terreno contenente His (per Salmonella) o Trp (per E.coli). Dopo l'esposizione, le colture vengono diluite con un terreno privo di His o Trp e con all'interno un indicatore di pH. La sospensione cellulare così ottenuta viene aliquotata nei pozzetti di una piastra da 384 pozzetti. Nel giro di due giorni, le cellule che hanno subito la reversione formeranno colonie e il metabolismo dei batteri ridurrà il pH presente nel terreno determinando il cambiamento del colore nei pozzetti. I pozzetti che hanno cambiato colore vengono contati e comparati con il controllo negativo (solvente).

Attraverso il know how del team di microbiologia, Renolab è in grado di offrire una vasta gamma di saggi in vitro per valutare non solo la mutagenicità ma anche la tossicità delle sostanze per cosmetici, PMC e tutte le sostanze chimiche che necessitano di una classificazione. In combinazione con il test di Ames l'offerta si amplia con altri test in-vitro per valutare corrosione/irritazione cutanea e oculare OECD 431, OECD 437, OECD 439, OECD 492 ma anche la sensibilizzazione cutanea OECD 442.

# The *in vitro* mutagenicity assay - THE AMES TEST

- Dr. Irene Calanchi, Microbiology Analyst at Renolab

- Dr. Francesca Turra, Microbiology Analyst at Renolab

## DEFINITIONS

- ✓ **MUTATION** is understood to be a permanent variation of the quantity or the structure of a cell's genetic material. The term "mutation" designates both hereditary genetic mutations and DNA underlying modifications.
- ✓ **DNA** Acronym for deoxyribonucleic acid, a big molecule composed of nucleotides, to which genetic information codification is assigned, represents the basic substance of a gene and is responsible for the transmission of hereditary features.
- ✓ **GENE** A portion of DNA containing all information to produce one or more proteins. It is the physical and functional unit of hereditary material being transmitted by parents to their children.
- ✓ **AUXOTROPH** Organism unable to synthesise a particular organic compound needed for its growth (such as vitamins or amino acids) and that can grow only if that substance is supplied from outside.
- ✓ **PROTOTROPH** on the contrary of auxotroph, is amicroorganisms able to synthesise all organic compounds needed.
- ✓ **PHENOTYPE** Set of morphological and functional characteristics manifested by an organism that is determined by the interaction of environmental factors and genotype, i.e. the genetic makeup of an individual.

## INTRO

Mutagen agents are all those substances that cause modifications in the DNA sequence and that potentially could determine an alteration of the genetic information, bringing a higher cancer risk.

We prefer the term "agents" and not "substances" since different mutagens exist, physical, biological, and chemical mutagens. Chemical mutagens includes several categories, such as solvents (e.g. benzene), dyes (e.g. aromatic amines), heavy metals (e.g. hexavalent chromium compounds), substances contained in cigarette smoke, but also substances of natural origin we can find in food (e.g. aflatoxin B1).

The classification in this area is established by several recognised bodies among which: EU (CLP Regulation), IARC, ACGIH, EPA, and NTP. In this article, we will refer to the in-force legislation by the EU.

European Union's CLP Regulation (Classification, Labelling and Packaging) (CE Regulation n. 1272/2008) imposes that all chemical products marketed showing mutagenic or cancerogenic activity should report on the label or the MSDS a code indicating danger (H340 for mutagens and H350 for cancerogenic substances) and a pictogram alerting consumers. The Regulation also defines concentration limits determining the classification of a mixture.

## ASSESSMENT OF MUTAGENIC ACTIVITY

The mutagenic activity of a molecule can be assessed in the laboratory through in vitro tests using cells or tissues. One of the most used assays is the Ames test, created in 1973 by the American biochemist Bruce Nathan Ames, which is performed by exposing a bacterial culture to the agent to be detected.

The principle assumes that DNA structure is the same in every living organism, so it is possible to use even simple organisms, such as bacteria, to rapidly detect mutagens, without the necessity of using mammals as test subjects.

The assay provides the use of auxotrophic microorganisms, that are not able to perform biosynthesis of an essential amino acid for their survival. The test target is to quantify how much the analysed chemical compound can induce a mutation allowing these bacteria to regain their ability to grow in an environment free from that vital substance, and so to synthesise the amino acid that was missing.

Normally Salmonella Typhimurium strains are used showing a deficit in the Histidine (His) amino acid biosynthetic pathway, and auxotrophic Escherichia Coli strains for the Tryptophane (Trp) amino acid. That way bacteria are not able to proliferate in media free from the relevant amino acid. If the substance to be assessed is mutagenic, it will induce a mutation and bacteria regain their ability to synthesise the amino acid needed for their growth so they can proliferate in a medium that is devoid of it. From auxotrophic bacteria, they become prototrophic bacteria.

In the past, the test was performed using solid culture media on which mutated microorganisms were grown. A cotton disc was placed in the middle of the plate and soaked in with the substance to be tested. After 48h incubation, scientists evaluated the halo of inhibition of cell growth.

If the molecule was mutagenic, bacteria underwent a mutation (reversion) in the concerned gene, allowing bacteria to synthesise the amino acid and so leading the culture to survive.

Currently, due to the huge increase in the number of substances requiring this kind of analysis, much more rapid tests have been developed than the classic Ames test, such as AMES TEST MFP (Micro Plate Format) which remains faithful to the classic test principles, but also offers many advantages such:

- Controlled bacteria strains
- Velocity or Simplicity or Practicality or Low cost

This technique significantly reduces sample consumption, other than reducing hard work and the risk of error involved. Moreover, it deletes the possible variability among separate tests, caused by a higher number of steps, and so it is more reproducible.

## ANALYTICAL PROCEDURE

The OECD 471 guideline for chemicals test recommends the use of at least 5 bacteria strains that are exposed in triplicate at 6 concentrations of the sample to be tested, together with a positive control and a negative control, for 90 minutes in a medium containing His (for Salmonella) or Trp (for E. coli). After the exposition, cultures are diluted with a medium free from His or Trp and containing a pH indicator. The cell suspension obtained is aliquoted into the wells of a 384-well plate. After two days, cells undergoing reversion will form colonies and bacteria metabolism will reduce the pH of the medium, causing the colour change in the wells. Wells colour changed are counted and compared to the negative control (solvent).

Thanks to the laboratory know-how, Renolab can offer a wide range of in vitro tests to evaluate not only mutagenicity, but also the toxicity of substances for cosmetics, SMUs, and all chemicals requiring classification. Together with the Ames test, the offer includes other in vitro tests to assess skin and eye corrosion/irritation (OECD 431, OECD 437, OECD 439, OECD 492) and skin sensitization (OECD 442).

## Monitoraggio di *Legionella* in ambienti di lavoro e sistemi di distribuzione domestici

Dott.ssa Fulvia Larini,  
Microbiology and Molecular Biology Manager di Tentamus Agriparadigma

**L**egionella è un genere di batteri aerobi Gram-negativi comprendente molte specie, alcune delle quali associate a patologie nell'uomo. In particolare, *Legionella pneumophila* è responsabile di un quadro clinico che può andare da sintomi simil-influenzali che si risolvono senza conseguenze, fino a complicanze polmonari anche letali. *L. pneumophila* di sierogruppo 1 causa la maggior parte delle sintomatologie severe. Condizioni come età avanzata, patologie croniche o deficit immunitario costituiscono fattori di maggior rischio.

Il batterio è ampiamente diffuso negli habitat acquatici, soprattutto caldi, e presenta un'alta tolleranza a variazioni di temperatura e di pH. È frequente l'accumulo di *Legionella* nelle zone più critiche degli impianti idrosanitari, ovvero nei raccordi tra le tubazioni e nei punti dove si formano incrostazioni e biofilm. L'infezione avviene prevalentemente tramite inalazione di aerosol contaminati; per questo motivo va posta particolare attenzione a docce, impianti di nebulizzazione, vasche per idromassaggio, fontane decorative, impianti di condizionamento, torri di raffreddamento. Il Testo Unico sulla sicurezza nei luoghi di lavoro (D. Lgs. n. 81/2008) ha introdotto il monitoraggio di *Legionella* come misura di prevenzione del contagio

in tutti gli ambienti lavorativi, ritenendo una potenziale fonte di rischio anche il semplice utilizzo dei servizi igienici. *Legionella* si inserisce quindi già da tempo tra gli agenti di rischio biologico che il datore di lavoro è tenuto a considerare e controllare. Le "Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi" approvate dalla Conferenza Stato-Regioni nel 2015 suggeriscono, oltre alle modalità di prelievo e analisi dei campioni, anche azioni di prevenzione, contenimento o trattamento in base alla concentrazione di *Legionella* riscontrata e alla tipologia di ambiente o struttura.

Il 23 febbraio 2023 è stato emanato il Decreto Legislativo n. 18 (GU n. 55) che riporta le modalità di attuazione della direttiva europea UE 2020/2184

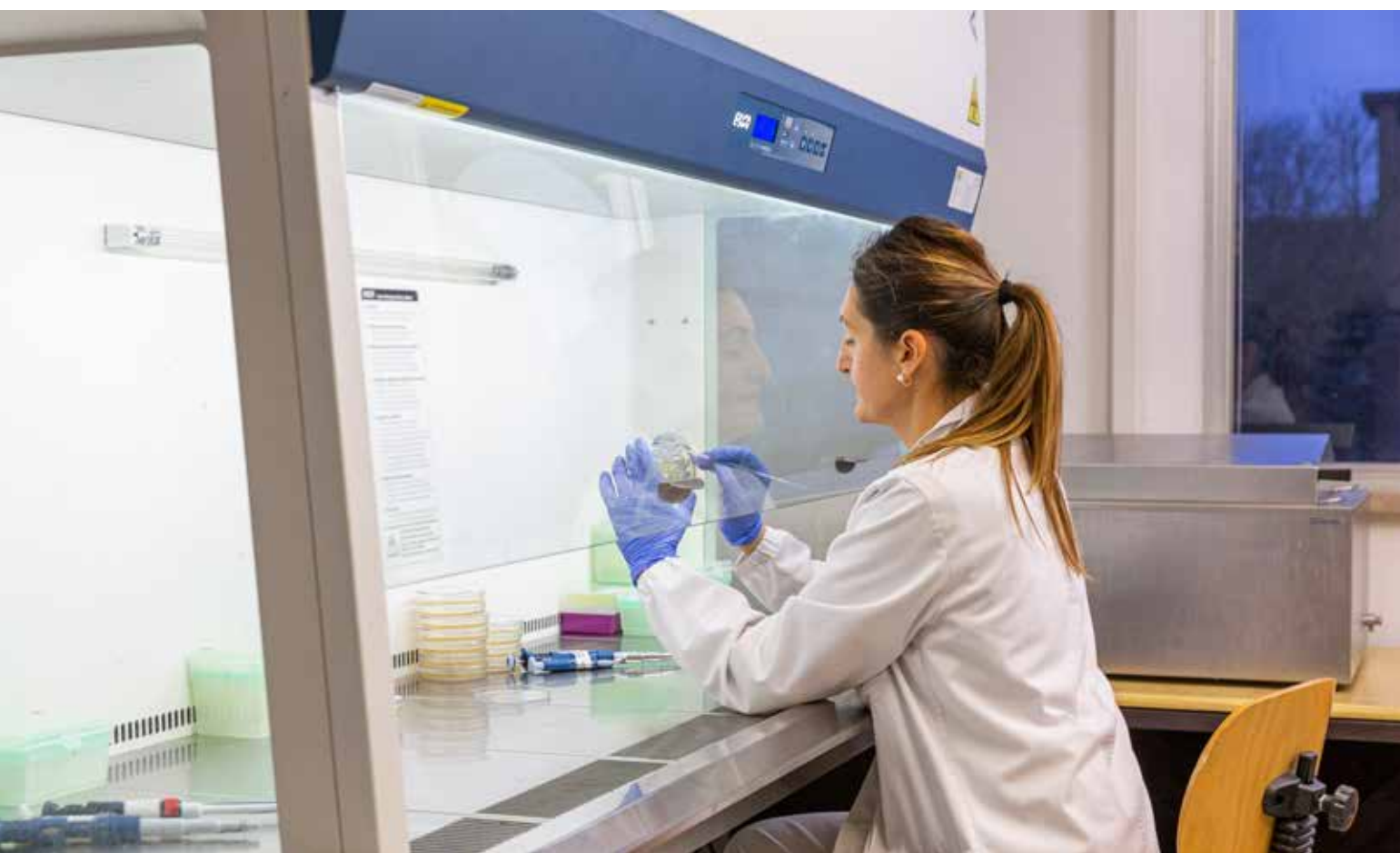
del 16/12/2020, introducendo *Legionella* tra i parametri microbiologici da considerare nella valutazione della qualità dell'acqua destinata al consumo umano e prevedendo una valutazione del rischio degli ambienti idrici. La presenza di *Legionella* è segnalata come potenziale rischio strettamente collegato con i sistemi di distribuzione domestici, ovvero i circuiti idrici di strutture pubbliche e private. È previsto un monitoraggio particolarmente focalizzato sui locali prioritari: ospedali, strutture sanitarie, case di riposo, strutture per l'infanzia, scuole e istituti di istruzione, strutture ricettive, strutture della ristorazione pubblica e collettiva, navi, centri sportivi e commerciali, strutture ricreative ed espositive, caserme e istituti penitenziari. Si tratta dunque di garantire una maggiore sorveglianza nei luoghi frequentati da molte persone o da categorie potenzialmente più predisposte all'infezione. L'allegato VIII del D. Lgs. n. 18/2023 riporta le azioni a carattere di obbligo e di raccomandazione per le diverse tipologie di struttura, con riferimento al Rapporto ISTISAN 22/32 (Linee Guida per la valutazione e la gestione del rischio per la sicurezza dell'acqua nei sistemi di distribuzione interni degli edifici prioritari e non prioritari e di talune navi ai sensi della direttiva (UE) 2020/2184).

Il valore di parametro per *Legionella* è fissato a 1.000 UFC/litro. Provvedimenti correttivi possono comunque rendersi necessari anche per valori inferiori a questo limite, ad esempio per strutture

che ospitano individui fragili o nel caso di infezioni e focolai. In questi casi va confermata la fonte dell'infezione e identificata la specie di *Legionella*.

In Tentamus Agriparadigma operiamo a supporto di aziende, consulenti e privati, indicando le procedure corrette da seguire per la raccolta e la consegna dei campioni e fornendo i contenitori adeguati. In alternativa mettiamo a disposizione un servizio di campionamento da parte di tecnici abilitati.

Il laboratorio di microbiologia esegue l'analisi quantitativa di *Legionella spp.* e *Legionella pneumophila*, con identificazione del relativo sierogruppo, secondo il metodo normato ISO 11731:2017 accreditato da Accredia. L'analisi prevede la filtrazione di 1 litro di acqua. Il campione viene in questo modo concentrato ed esaminato mediante coltura in appositi terreni selettivi. La presenza di colonie tipiche viene confermata tramite test sierologici e/o molecolari, che consentono anche l'individuazione del sierogruppo. Oltre alle acque (di rete, di piscina, minerali, sotterranee, naturali o industriali) possono essere esaminati tamponi di superficie, depositi e biofilm.



## Legionellosis monitoring in workplaces and domestic distribution systems

Dr. Fulvia Larini, T. Agriparadigma Microbiology and Molecular Biology Manager



**L**egionella is a genus of Gram-negative aerobic bacteria that includes many species, some of them associated with human diseases. Specifically, Legionella pneumophila is the cause of a clinical frame varying from flu-like symptoms that resolve with no consequences, up to pulmonary consequences that may be lethal. L. pneumophila serogroup 1 causes the most severe symptoms. Conditions such as older age, chronic diseases or immune deficits are factors of major risk.

The bacterium is widely spread in aquatic habitats, above all the warmer ones, and has a great tolerance for temperature and pH variations. Legionella accumulation is frequent in most critical points in water and sanitary installations, i.e., in pipe fittings and where scaling and biofilm are forming. The infection takes place mainly by inhalation of contaminated aerosol. For that reason, special attention is to be paid to showers, spraying systems, whirlpool baths, decoration fountains, air-conditioning systems, cooling towers.

The Consolidated law on occupational health (Leg. Decree N° 81/2008) introduced Legionella risk assessment as a contagion prevention measure in all workplaces, considering a potential source of risk even the simple use of toilets. Legionella, therefore, is already included among biological risk agents that the employer must consider and monitor. The "Guidelines for the prevention and control of legionellosis", approved by the 2015 State-Region Conference, suggest prevention, control, and treatment actions, besides sampling and spicemen analysis, based on the Legionella concentration detected and the kind of environment or facility.

On 23 February 2023, Legislative Decree N° 18 has been issued reporting modes of implementation of the EU Directive 2020/2184 of 16/12/2020, which inserts Legionella among the microbiological parameters to be considered in the analysis of water intended for human consumption and requires a risk assessment for the aquatic environments. The presence of Legionella is signalled as a potential risk, strictly related to domestic sanitary systems, as well as sanitary systems in public and private facilities. A specific monitoring is required for priority locations: hospitals, health facilities, retirement homes, childcare facilities, schools and instruction institutes, hotels, public and collective catering facilities, ships, sport and commercial centres, recreational facilities and exhibition centres, barracks, and prisons. It is therefore a matter of ensuring higher surveillance in locations frequented by many people or by categories potentially more prone to infection. Annex

VIII of Leg. Decree 18/2023 reports the mandatory and recommended actions for the different types of structures, with reference to ISTISAN Report 22/32 (Linee Guida per la valutazione e la gestione del rischio per la sicurezza dell'acqua nei sistemi di distribuzione interni degli edifici prioritari e non prioritari e di talune navi ai sensi della direttiva (UE) 2020/2184 - Guidelines for the risk assessment and management for water safety in distribution systems of some ships).

The parameter value for Legionella is set to 1,000 CFU/litre. However, corrective measures may be necessary even for lower values, for example for facilities housing fragile people or in case of infections and outbreaks. In these instances, the source of infection is to be confirmed and the Legionella species must be identified.

At Tentamus Agriparadigma, we work supporting companies, consultants, and private people, pointing out the correct procedures to be followed to collect and deliver samples, and providing proper containers. Alternatively, we make available a sampling service with authorised technicians.

The microbiology laboratory performs the quantitative analysis of Legionella spp. and Legionella pneumophila, with the indication of serogroup thereof, according to the ISO 11731:2017 Standard and Accredia accredited method. The analysis requires filtration of 1 litre of water. The sample is so concentrated and examined by culture in proper selective media. The presence of typical colonies is confirmed by serological and/or molecular tests, which allow also to identify the serogroup. Other than water (sanitary, pool, mineral, underground, natural or industrial water), we can examine surface swabs, build-ups, and biofilm.

## Quantificare l'impatto ambientale dei prodotti e servizi lungo l'intero ciclo di vita.

### Il metodo LCA: Life Cycle Assessment

Ing. Erica Ragni, Sustainability Project Manager di Pegaso Management

La sempre maggiore attenzione di consumatori, regolatori, autorità pubbliche e mondo produttivo riguardo la Sostenibilità, in particolare quella ambientale, sta portando le Aziende ad utilizzare strumenti in grado di orientare le proprie scelte di produzione e di consumo in ottica sostenibile. All'interno di questo scenario il **Life Cycle Assessment (LCA)** sta diventando centrale e funzionale in quanto metodologia affidabile, oggettiva e standardizzata che consente di valutare gli impatti ambientali associati ad un prodotto, processo o attività, identificando e quantificando l'energia, i materiali consumati ed i residui rilasciati nell'ambiente lungo l'intero ciclo di vita. L'analisi può essere applicata a qualsiasi tipo di prodotto e a qualsiasi decisione in cui gli impatti ambientali sono di interesse.

Il riferimento normativo internazionale per l'esecuzione dello studio LCA è rappresentato dalle norme ISO della serie 14040, più nello specifico dalla UNI EN ISO 14040 e dalla UNI EN ISO 14044, le quali stabiliscono che un prodotto o servizio viene esaminato in tutti i suoi stadi attraverso un'articolazione in quattro fasi principali:

- 1. Definizione degli obiettivi e campo di applicazione:** rappresenta la pianificazione iniziale di uno studio LCA dove vengono definiti gli obiettivi dello studio, l'unità per la quale si misura l'impatto ambientale, i confini del sistema (in termini di ampiezza), il fabbisogno di dati e le relative assunzioni.
- 2. Inventario:** rappresenta la costruzione vera e propria del modello della realtà del sistema studiato. È in questa fase, la più laboriosa, che vengono quantificati tutti i flussi in ingresso e in uscita per ciascun processo del ciclo di vita del prodotto o servizio.
- 3. Valutazione dell'impatto del ciclo di vita:** le informazioni ottenute nell'analisi dell'inventario vengono classificate e aggregate nelle diverse categorie d'impatto a seconda degli effetti che possono avere sull'ambiente.
- 4. Interpretazione dei risultati:** è il processo di analisi critica che permette di trarre le conclusioni, spiegare le limitazioni dei risultati ottenuti, di fornire delle raccomandazioni per ridurre l'impatto ambientale sulla base degli obiettivi prefissati.

Per le Aziende che decidono di intraprendere uno studio LCA molteplici sono gli utilizzi e vantaggi:

- » Identificazione delle **opportunità di miglioramento**, dal punto di vista ambientale, di un particolare ciclo produttivo di un prodotto, contribuendo anche all'ottimizzazione dell'uso delle risorse e all'efficientamento dell'intero sistema dell'Organizzazione.
- » **Supporto alle decisioni**, nell'industria ma anche nelle organizzazioni governative e non governative, di pianificazione strategica, progettazione o riprogettazione di prodotti o di processi.
- » Accesso ad **appalti della Pubblica Amministrazione**.
- » Ottenimento di **dichiarazioni o etichette ambientali**: l'analisi LCA costituisce il primo passo per lo sviluppo di schemi di etichettatura ambientale come l'Environmental Product Declaration (EPD), la Product Carbon Footprint (ISO 14067) e il Product Environmental Footprint (PEF).
- » Sviluppo di **strumenti di marketing e comunicazione verso gli stakeholder**: i risultati LCA possono essere utilizzati per dimostrare l'impegno di un'azienda verso la sostenibilità e fornire evidenze delle prestazioni ambientali agli stakeholder, ai clienti e agli enti normativi.

Il Team Pegaso Management supporta e accompagna le Aziende in tutte le fasi dello studio e fornisce gli strumenti per ottimizzare la fase di raccolta e calcolo dei dati. L'elaborazione della gran mole di dati e la modellizzazione del sistema oggetto di studio, infatti, vengono effettuati tramite appositi software che lavorano nel rispetto degli standard ISO.

## Quantifying the environmental impact of products and services throughout their entire life cycle.

### The LCA method: Life Cycle Assessment (LCA)

Eng. Erica Ragni, Sustainability Project Manager at Pegaso Management



The increasing attention from consumers, regulators, public authorities, and the business world regarding sustainability, particularly environmental sustainability, is leading companies to use tools that guide their production and consumption choices from a sustainable perspective. Within this scenario, **Life Cycle Assessment (LCA)** is becoming central and functional as a reliable, objective, and systematic approach that evaluates the environmental aspects and potential impacts associated with a product, process, or activity from cradle to grave. It considers all stages of a product's life cycle, including raw material extraction, production, distribution, use, and disposal. The analysis can be applied to any type of product and decision where environmental impacts are of interest.

The international normative reference for LCA studies is the ISO 14040 series standards, specifically UNI EN ISO 14040 and UNI EN ISO 14044. These standards establish that a product or service is examined in all its stages through a four-phase step articulation structure:

- 1. Goal and scope definition:** This initial step establishes the purpose scope and goals of the study, defines the system boundaries, identifies the intended application of the results, and determines the functional unit for comparison.
- 2. Life Cycle Inventory (LCI):** In this phase, data is collected on the inputs (e.g., energy, materials) and outputs (e.g., emissions, waste) associated with each stage of the product's life cycle. This data is typically organized in a life cycle inventory database.
- 3. Life Cycle Impact Assessment (LCIA):** The LCI data is evaluated and categorized based on various impact categories, such as greenhouse gas emissions, resource depletion, acidification, and toxicity. LCIA methodologies help quantify and aggregate the environmental impacts across different categories.
- 4. Interpretation of results:** The final step involves analyzing and interpreting the results of the LCA study. This includes assessing the significance of the impacts, identifying hotspots where improvements can be made, and considering the implications for decision-making and communication.

Furthermore, for companies that decide to perform an LCA study, there are multiple uses and benefits:

- » Identification of **environmental hotspots**: LCA analysis helps identify the critical points that contribute most to the environmental impact of a product or service. This allows companies to focus their efforts on improving those areas.
- » **Informed decision-making**: LCA provides valuable information for decision-making processes. It helps companies identify sustainable alternatives, optimize processes, and make informed choices regarding materials, design, and production methods.
- » Access to **public procurement opportunities**.
- » Obtaining **environmental declarations or labels**: LCA analysis constitutes the initial step for the development of Environmental Labeling schemes such as Environmental Product Declaration (EPD), Product Carbon Footprint (ISO 14067), and Product Environmental Footprint (PEF).
- » Developing **marketing and communication tools for stakeholders**: LCA results can be used to demonstrate a company's commitment to sustainability and provide evidence of environmental performance to stakeholders, customers, and regulatory bodies.

The Pegaso Management Team supports companies in all stages of the study, providing tools to optimize data collection and calculation. The processing of a large amount of data and the modeling of the studied system are carried out using specific software that works in compliance with ISO standards.



**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 alla vostra Azienda di riferimento; i nostri tecnici saranno a disposizione per rispondere alle vostre domande. Le più frequenti e significative verranno riprese nel prossimo numero in uscita a dicembre 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. your questions. The most frequent and significant ones will be taken up in the next issue to be published in December 2023.**

#### Quali parametri microbiologici bisogna ricercare per valutare la salubrità di un alimento?

Un alimento salubre dal punto di vista microbiologico deve essere esente da microrganismi oltre la soglia di rischio. In particolare, è opportuno escludere la presenza di agenti infettivi o produttori di tossine pericolose per la salute umana o animale. Tuttavia non esiste un profilo microbiologico standard, applicabile a tutte le tipologie di alimenti. Per fare qualche esempio, *Bacillus cereus* è più frequente in cereali e alimenti ricchi di amido; *Salmonella* e stafilococchi coagulasi positivi (che comprendono *S. aureus*) si trovano più spesso in carni, uova e latticini. La ricerca di Vibrio (tra cui *V. cholerae* e *V. parahaemolyticus*) è particolarmente indicata in pesce e molluschi; quella di *Campylobacter* nelle carni, soprattutto di pollame. La scelta del profilo analitico non può prescindere dai requisiti cogenti, con l'eventuale aggiunta di ulteriori analisi in base alla natura del campione. Un risultato negativo nel campione esaminato non implica necessariamente l'assenza del microrganismo nell'intero lotto o partita, ma se il campionamento è stato eseguito correttamente rappresenta una valida indicazione. Spesso la normativa prevede l'analisi di più unità campionarie proprio per aumentare il margine di confidenza del risultato.

#### Which microbiological parameters do I have to detect to evaluate food salubrity?

*Microbiologically healthy food should be free from microorganisms beyond the risk threshold. Specifically, it is necessary to exclude the presence of infectious agents or producers of dangerous toxins for human and animal health. However, it does not exist any standard microbiological profile, which is applicable to all kinds of food. To make some examples, Bacillus cereus is more frequently found in grains and starch-rich food; Salmonella and positive coagulase staphylococci (including S. aureus) are more frequently found in meat, eggs, and dairy products. Vibrio (including V. cholerae and V. parahaemolyticus) detection is particularly suited for fish and shellfish, Campylobacter detection in meat, mainly poultry. The choice for the analytical profile cannot disregard mandatory requirements, with the possible addition of further analyses, according to the sample nature. A negative result in the examined sample does not necessarily imply that the microorganism is absent in the whole batch or lot, but if sampling has been correctly performed, it represents valid information. Legislation often requires analysis of more sample units, to increase the confidence margin of the result.*



• [agriparadigma@agriparadigma.it](mailto:agriparadigma@agriparadigma.it)

#### Se si parla di controlli analitici per piscine ad uso natatorio, qual è la differenza tra acqua di approvvigionamento e acqua di immissione in vasca?

L'acqua di approvvigionamento è utilizzata per l'alimentazione della vasca e per gli usi sanitari e potabili dell'impianto. Questa deve possedere i requisiti di potabilità previsti dalla normativa vigente secondo i metodi utilizzati per il controllo delle acque destinate al consumo umano (DI n°18). L'acqua di immissione in vasca è costituita dall'acqua di immissione, ricircolo e di reintegro nella vasca e deve possedere i requisiti e limiti analitici riportati nei decreti regionali specifici per ogni regione, corrispondenti ai requisiti dell'acqua di vasca della piscina.

#### When speaking about analytical monitoring for swimming pools, what is the difference between supply water and pool intake water?

*Supply water is used to supply the pool and for sanitary and potable uses of the system. This water must comply with potability requirements expected by in-force legislation, according to methods for the analysis of water intended for human consumption (Italian Leg. Decree n° 18). The pool intake water is composed of intake, recirculation, and make-up water and must have requirements and analytical limits according to region-specific regional decrees, which correspond to swimming pool water requirements.*



• [info@mkambiente.it](mailto:info@mkambiente.it)

#### È possibile misurare la circolarità di un'Organizzazione?

Il 30 novembre 2022 in Italia è stata pubblicata la specifica tecnica UNI/TS 11820 "Misurazione della circolarità - Metodi ed indicatori per la misurazione dei processi circolari nelle organizzazioni" che rappresenta una tappa importante nel cammino dell'economia circolare. La metodologia è stata messa a punto dalla commissione tecnica UNI/CT 057, che si sta occupando dell'elaborazione di standard sull'economia circolare. La sua stesura ha coinvolto oltre 150 organizzazioni italiane. La UNI/TS 11820 rappresenta uno strumento operativo che introduce un set di 71 indicatori di economia circolare atti a valutare, attraverso un sistema di misurazione su base 100, il livello di circolarità di una organizzazione o gruppo di organizzazioni, inclusa anche la pubblica amministrazione, permettendo di calcolarne il livello di circolarità complessivo. In questa occasione l'Italia si è posta all'avanguardia sull'economia circolare, lo Standard UNI/TS 11820 è una tappa che si inserisce in un percorso più ampio che porterà all'elaborazione della norma ISO 59020, che fornirà uno strumento di misurazione della circolarità a livello internazionale.

#### Is it possible to measure the Circularity of an Organization?

*An important milestone in the journey into Circular Economy was the publication, on November 2022 in Italy, of the technical specification UNI/TS 11820 "Measurement of Circularity - Methods and Indicators for Measuring Circular Processes in Organizations". The methodology was developed by the technical committee UNI/CT 057, which is responsible for the development of standards on Circular Economy. The drafting process involved over 150 Italian organizations. UNI/TS 11820 introduces a set of 71 indicators essential to assess, by using an independent 100-based measurement system, the level of circularity of a single organization or groups of organizations, also including public administrations, regardless of the sector or the size. It allows the calculation of their circularity level. On this occasion, Italy has positioned itself at the forefront of the Circular Economy. The UNI/TS 11820 standard is a step that fits into a broader journey leading to the development of the ISO 59020 standard, which will provide an internationally recognized tool for measuring circularity.*



• [info@pegasomangement.com](mailto:info@pegasomangement.com)

**Gli animali si alimentano allo scopo di mettere a disposizione del proprio organismo i principi nutritivi necessari per le funzioni biologiche vitali (mantenimento), ma anche per le altre attività fisiologiche generali. Tuttavia, non tutto ciò che è ingerito è utilizzabile dall'animale. Esistono diverse forme di energia, ma quale energia è completamente disponibile per il metabolismo?**

Sottraendo all'energia lorda (EL) l'energia persa con le urine, con il metano e con le feci si ottiene l'energia metabolizzabile (EM) che risulta essere quella parte di energia disponibile per le ossidazioni cellulari e per la sintesi, ad esempio necessaria ai tessuti e alla produzione di latte. Convenzionalmente il valore di ME di un alimento viene determinato tramite equazioni di regressione a partire dalla composizione analitica dei differenti nutrienti per le varie specie ed in funzione delle diverse produzioni. Specie diverse posseggono equazioni differenti. Ad esempio la stima del valore energetico di un mangime per bovini tiene conto delle proteine grezze, lipidi grezzi, fibra grezza e degli estrattivi inazotati. Per polli si tiene invece conto delle proteine e dei lipidi grezzi, in aggiunta all'amido e agli zuccheri. Ciascun nutriente dovrà essere moltiplicato da opportuni fattori convenzionali tabulati. Dal momento che le variabili, considerate dai diversi studiosi, in tale ambito, sono molte, è buona norma citare sempre la fonte tramite la quale si determina il valore energetico.

**Animals feed to provide their bodies with the nutrients required for vital biological functions (maintenance), but also for other general physiological activities. However, not all feed they ingest is usable by animals. Different energy forms exist, but which energy is completely available for metabolism?**

*By subtracting from gross energy (GE) the energy lost by urine, methane, and feces, we obtain the metabolizable energy (ME), that is that part of energy available for cellular oxidation and for synthesis, for example, the energy required for tissues and milk production. By convention, the ME value for a feed is determined through regression equations, starting from the analytical composition of different nutrients for the species and according to different productions. Different species have different equations. For example, the energy value estimation for a cattle feed accounts for raw proteins, raw lipids, raw fibers, and nitrogen-free extracts. For poultry the estimation accounts for raw proteins and lipids, plus starch and sugars. Each nutrient must be multiplied by suitable conventional tabulated factors. Since variables considered by different researchers are many, it is good practice to always cite the source by which we determine the energetic value.*



• [info@laemmegroup.it](mailto:info@laemmegroup.it)

#### Sarà obbligatorio indicare sulle bottiglie gli ingredienti e le caratteristiche nutrizionali del vino. Cosa si intende per "ingredienti" per questo tipo di prodotti? Da quando sarà obbligatorio indicarlo?

L'obbligatorietà di indicare in etichetta gli ingredienti ed i valori nutrizionali del vino decorrerà a partire dall'8 dicembre 2023 in seguito all'entrata in vigore del Reg. (UE) 2021/2117. Sarà possibile fornire tali informazioni attraverso un'etichetta elettronica o e-label ad eccezione degli allergeni e del valore energetico che dovranno essere specificati direttamente sulla bottiglia. È previsto un periodo di transizione di 2 anni ma tutti i vini prodotti dopo l'8 Dicembre 2023 dovranno riportare tali informazioni. I regolamenti Reg. (UE) n. 1169/2011 e Reg. (UE) 2019/934 elencano le pratiche enologiche autorizzate e la loro classificazione come additivi o coadiuvanti tecnologici. Solo gli additivi sono soggetti ad etichettatura. Tra questi troviamo, per esempio, correttori di acidità, conservanti, antiossidanti e stabilizzanti.

#### It will be mandatory to report on bottle labels ingredients and nutritional characteristics of wines. What do we mean by "ingredients" in this kind of product? When will it be mandatory to report that?

*Reporting of ingredients and nutritional values of wine on labels will be mandatory since 8th December 2023, following the implementation of Reg. (EU) 2021/2117. It will be allowed to provide this information on an electronic label (e-label), except for allergens and the energetic value, which will be specified directly on the bottle. A two-year transition period is planned, but all wines produced after 8th December 2023 shall report this information. Reg. (EU) 1169/2011 and Reg. (EU) 2019/934 list authorized oenological practices and their classification as additives or processing aids. Only additives, such as acidity regulators, preservatives, antioxidants, and stabilizers, are subject to the labelling.*



• [info@caimgroup.it](mailto:info@caimgroup.it)

#### Quale processo garantisce una efficace valutazione di sicurezza biologica per un dispositivo medico?

La valutazione di sicurezza biologica ha l'obiettivo di garantire la protezione di utenti e pazienti da potenziali rischi biologici derivanti dall'uso di un dispositivo medico, come previsto dal Regolamento (EU) 2017/745 (MDR) allegato I, GSPR 1, 3 e 8 e quelli applicabili del punto 10. È necessario definire una procedura che stabilisca le modalità di pianificazione, conduzione, documentazione ed aggiornamento delle attività che preveda, come output, il piano ed il report di valutazione biologica (BEP e BER). La ISO 10993-1 è il riferimento per la determinazione dei rischi biologici derivanti dall'uso di un dispositivo medico, correlata con il processo di valutazione e gestione del rischio secondo la ISO 14971. La ISO 10993-18 specifica le modalità per la caratterizzazione chimico-fisica di un dispositivo medico, mentre le altre parti della serie riguardano gli aspetti specifici ed i relativi test. La loro applicabilità dipende dalla destinazione d'uso, dalla tipologia, dalla durata del contatto e dalle caratteristiche del dispositivo medico. Occorre precisare che l'identificazione e la quantificazione dei materiali costituenti, così come il processo produttivo, inclusi il confezionamento e l'eventuale sterilizzazione, il trasporto e la conservazione impattano sulla biocompatibilità del prodotto finito e vanno complessivamente considerati nella valutazione del rischio biologico.

#### Which process assures an effective biological safety evaluation for a medical device?

*The biological safety evaluation aims to assure users' and patients' protection from any biological risks arising from the use of a medical device, as it is required by EU Regulation 2017/745 (MDR) Annex I, GSPR 1, 3 e 8 and the applicable ones at point 10. A procedure must be defined setting planning, performing, documentation, and activity updating modes requiring, as an output, the biological evaluation plan and report (BEP and BER). ISO 10993-1 is the reference for determining biological risks deriving from the use of a medical device, related to ISO 14971 for risk evaluation and management. ISO 10993-18 specifies modes for the chemical-physical characterization of a medical device, while the other parts of the ISO series are related to specific aspects and relevant tests. Their applicability depends on the intended use, the type of medical device, the duration of contact, and medical device features. The identification and quantitation of constituent materials, as well as the production process, including packaging and any sterilization, transportation, and storage, have an impact on the final product biocompatibility and are to be considered in the biological risk assessment.*



• [info@enolab-glp.com](mailto:info@enolab-glp.com)

#### Quali possono essere i limiti del test di Ames?

Il limite principale del test di Ames originale è l'impossibilità di valutare l'effetto genotossico diretto e indiretto, ovvero derivato dal metabolismo delle sostanze.

#### Cosa significa metabolizzare una sostanza?

Il processo di metabolizzazione ha come scopo finale la riduzione dell'attività biologica della sostanza al fine di eliminarla dall'organismo.

#### What may be the limits of the Ames test?

The main limit of the original Ames test is the impossibility to evaluate the direct and indirect, i.e. derived from substances metabolism, genotoxic effect.

#### What is meant by metabolising a substance?

The metabolization process main goal is to reduce the biological activity of a substance to discard it from the body.



• [info@enolab-glp.com](mailto:info@enolab-glp.com)

# T-word FOR YOU

**Il contatto diretto** avviene quando l'aria compressa è direzionata verso il prodotto o verso l'imballaggio primario che entra in contatto con il prodotto (es. nei processi di essiccazione o come mezzo di trasporto per alimenti secchi). In alcune applicazioni l'aria compressa viene addirittura introdotta direttamente nel prodotto. Un esempio è la produzione di gelato che deve la sua consistenza cremosa all'aria compressa che viene soffiata nel composto base.

*Direct contact takes place when the compressed air is directed to the product or the packaging into contact with the product (e.g. during drying processes or as a transportation medium for dry food). In some applications, compressed air is even directly introduced into the product. One example is ice cream production, owing its creamy texture to the compressed air being blown in the base compound.*

**Il contatto indiretto** con i prodotti alimentari avviene quando l'aria compressa raggiunge un prodotto a una certa distanza e diluita con aria ambiente, come per esempio la pulizia e l'asciugatura, la soffiatura delle superfici di imballaggio per il controllo della qualità oppure il trasporto degli imballi alimentari.

*The indirect contact with food products takes place when the compressed air reaches a product at a defined distance and is diluted with ambient air. Some examples are cleaning and drying, blowing of packaging surfaces for quality control, or food packaging transportation.*

**Polioli** sono carboidrati costituiti da più unità alcoliche che rivestono grande importanza nelle scienze dell'alimentazione grazie agli effetti benefici per la salute. Essi hanno un basso indice glicemico e insulinico e basso valore energetico. I polioli contribuiscono inoltre alla formazione di acidi grassi a catena corta, anch'essi utili componenti salutistici per l'uomo.

*Polyols They are carbohydrates made up of several alcoholic units and are of great importance for the food science thanks to their beneficial health effects. They have a low glycaemic and insulin index and a low energetic value. Polyols contribute to short-chain fatty acids formation, which are also useful health components for humans.*

**I Dispositivi Medico-Diagnostici in vitro (IVD)** sono dispositivi medici semplici o di tecnologia sofisticata che si utilizzano per effettuare tests su campioni prelevati dal corpo umano come sangue, fluidi o tessuti. La diagnostica in vitro è in grado di rilevare malattie o altre condizioni e può essere utilizzata per monitorare la salute generale di una persona per aiutare a prevenire, trattare e curare le malattie.

*In vitro diagnostic medical devices (IVDs) are simple or advanced medical devices used to perform tests on samples taken from the human body such as blood, fluids or tissue. IVDs can detect diseases or other conditions and can be used to monitor a person's overall health to help prevent, treat, and cure diseases.*

# T~magazine

1° semestre 2023 / Numero 9 - Tentamus Italia

## Credits

Progetto: Tentamus Italia

Coordinamento editoriale: Giuseppe Calvi di Coenzo

Copyediting: Redazione e Aziende Tentamus Italia

Graphic design e stampa: Tipografia Commerciale Ravenna

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



## Tentamus Locations Network 2023: Service Excellence Worldwide



For further information please use our LocationFinder online at [tentamus.com/labs](https://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 Antoniucci, 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)



**Pegaso Management S.r.l.**

**Sede legale:**

Via Metauro 74C - 60126 Ancona

**Sede operativa:**

Via Sandro Totti 12D - 60131 Ancona