

T~magazine

2° semestre 2021 / Numero 6 - Tentamus Italia

10TH
ANNIVERSARY



Tentamus[®]

Labs for Life

- 1 | **Un Compleanno Speciale**
A Special Birthday
- 2 | **Due nuovi laboratori si uniscono al Gruppo Tentamus in Italia**
Two new laboratories are joining the Tentamus Group in Italy
- 3 | **Valori di riferimento per la valutazione dei risultati microbiologici**
Reference values for the evaluation of microbiological results
- 4 | **I difetti organolettici nei vini: l'importanza del monitoraggio del *Brettanomyces bruxellensis* e dei suoi metaboliti**
*Organoleptic defects in wine: the importance of monitoring *Brettanomyces bruxellensis* and its metabolites*
- 5 | **BPL - ISO/IEC 17025: due sistemi Qualità a confronto**
GLP and ISO/IEC 17025: two Quality system compared
- 6 | **Il 2021 di Laemmegroup: un anno di crescita, sviluppo ed espansione**
The 2021 of Laemmegroup: a year of growth, development and expansion
- 7 | **Le conservabilità degli alimenti ed i trattamenti termici**
Food shelf life and heat treatments
- 8 | **Pro e contro dei metodi basati sul DNA per l'individuazione di frodi alimentari**
DNA-based methods for the detection of food fraud: drawbacks and opportunities
- 9 | **TentaTINC porta digitalizzazione, automazione e innovazione nei laboratori Tentamus**
TentaTINC: bringing digitalization, automation and innovation to Tentamus labs
- 10 | **L'esperto risponde**
Ask the Expert

“Tra vent’anni sarai più deluso dalle cose che non hai fatto che da quelle che hai fatto. E allora molla gli ormeggi. Lascia che gli alisei riempiano le tue vele. Esplora. Sogna”.

“Twenty years from now you will be more disappointed by the things that you didn’t do than by the ones you did do, so throw off the bowlines, sail away from safe harbor, catch the trade winds in your sails. Explore, Dream”.

(Mark Twain)

...Esplora, sogna!

Ecco... Mi piace pensare che 10 anni fa due giovani amici, intraprendenti e ambiziosi, leggendo questa frase, si siano semplicemente guardati e abbiano deciso di mollare gli ormeggi.

E grazie all'entusiasmo e alla dedizione di quei due giovani, Jochen e Abgar, oggi siamo qui, con più di 3500 colleghi ovunque nel mondo, a festeggiare il decimo anno di questo incredibile viaggio insieme.

Ogni giorno è come se fosse il primo, cresciamo, imparando. Esploriamo nuovi mercati, cercando costantemente di migliorare. La soddisfazione dei nostri clienti e il desiderio di sempre più imprenditori di unirsi al Gruppo, sono il vento che riempie le nostre vele.

Il successo è una conseguenza, non un obiettivo, diceva Flaubert.

Fin dal principio, abbiamo messo al primo posto la volontà di creare qualcosa di unico, essere un partner in grado di fornire un servizio diverso, perseverando negli anni in questa direzione, senza perdere di vista l'obiettivo.

Quello che siamo, dove siamo oggi, è la conseguenza.

Allora, che festa sia, Tanti auguri Tentamus, Tanti auguri a noi. Lacio Drom!



Nicola Berruti
Country Manager Tentamus Italia

...Explore, dream!

I like to think that 10 years ago two bold and ambitious young friends read this sentence, simply looked at each other and decided throw off the bowlines.

And thanks to the enthusiasm and dedication of those two young men, Jochen and Abgar, we are here today – more than 3,500 colleagues all over the world – to celebrate the 10th anniversary of this incredible journey together.

Every day is like the first day; we grow by learning. We explore new markets, constantly striving to improve. Our clients' satisfaction and more and more entrepreneurs wanting to join the Group are the wind in our sails. Success is a consequence and must not be a goal – as Flaubert said.

Right from the start, we put in first place the desire to create something unique and be a partner able to offer a distinct service, carrying on in this direction over the years without losing sight of our goal.

What we are and where we are today is the consequence.

So, let's celebrate. Happy Birthday Tentamus. Happy Birthday to us. Lacio Drom!

Alcune immagini sono state realizzate prima dell'emergenza Covid-19
Some of the pictures were taken before Covid-19 emergency

Un Compleanno Speciale

Il Gruppo Tentamus – partner di servizi per l'analisi, l'ispezione e la certificazione di alimenti, prodotti farmaceutici, integratori alimentari e molti altri – ha celebrato il suo decimo anniversario a novembre 2021. Il Gruppo è stato fondato nel 2011 dal Dott. Jochen P. Zoller e Abgar Barseyten e, da allora si è specializzato in servizi per la qualità e la sicurezza dei prodotti che interessano la salute umana.

In principio, il Gruppo era focalizzato sull'analisi di alimenti e mangimi, espandendosi, in seguito, nel settore farmaceutico con l'aggiunta del laboratorio Quality Services International GmbH (QSI) nel 2012. Negli anni successivi, il Gruppo si è ampliato includendo anche laboratori specializzati in cosmetici (2014), prodotti nutraceutici e integratori (2015), prodotti medici e agrosceienze (2017).

Oggi, il Gruppo Tentamus è un partner globale per i suoi clienti, riconosciuto in tutto il mondo.

Il Dott. Jochen P. Zoller spiega: *“Il nostro core business è l'analisi del prodotto e la tracciabilità del flusso delle merci. Ci consideriamo un fornitore di servizi per i rivenditori e siamo attualmente presenti a livello internazionale con 85 laboratori in 21 Paesi. Le nostre sedi non si trovano solo in numerosi paesi in Europa o negli Stati Uniti, ma ovviamente anche in paesi asiatici come Cina e Giappone”.*

Il focus principale del Gruppo è quello di avere strutture di laboratorio “più vicine al cliente” piuttosto che realizzare grandi laboratori centrali.

Abgar Barseyten aggiunge: *“La vicinanza ai nostri clienti è estremamente importante per noi. Sebbene siamo*

presenti a livello globale e in grado di offrire un'ampia gamma di prodotti e servizi, vogliamo comunque dare supporto ai nostri clienti a livello locale. Vorremmo mantenere questa strategia”.

In futuro, il Gruppo Tentamus continuerà a promuovere e sviluppare i suoi laboratori e società di consulenza esistenti e si espanderà ulteriormente in nuove regioni, paesi e continenti per poter servire i propri clienti nel miglior modo possibile. Attraverso personale altamente qualificato e l'utilizzo di strumentazione di ultima generazione, il Gruppo può inoltre garantire la massima qualità e sicurezza dei prodotti dei suoi clienti nel più breve tempo possibile. In questo senso, anche a nome di tutti i suoi membri, il Gruppo desidera esprimere la sua sincera gratitudine ai suoi clienti più fedeli e

di lunga data, nonché ai nuovi partner e sponsor recentemente acquisiti.

Sono previsti nuovi ed entusiasmanti progetti nel breve e nel lungo termine e il Gruppo Tentamus attende già con ansia i prossimi 10 anni da affrontare insieme, come network e come famiglia.

Contatti

hello@tentamus.com
+49 30 206 038 230

A Special Birthday

The Tentamus Group, service partner for analysis, inspection and certification of food, pharmaceuticals, dietary supplements and many more, celebrates its 10th anniversary in November 2021. Tentamus Group was founded in 2011 by Dr. Jochen P. Zoller and Abgar Barseyten and has since specialized in quality and safety services of products that affect people from the inside.

After initially focusing on food and feed analysis following its founding, Tentamus expanded into the pharmaceutical sector with the addition of the laboratory Quality Services International GmbH (QSI) in 2012. In the following years, the group also expanded to include specialized laboratories in cosmetics (2014), nutraceuticals and dietary supplements (2015), medical devices, and agrosceiences (2017).

Today, the Tentamus Group is a recognized and global partner for its customers worldwide.

Dr. Jochen P. Zoller explains: *“Our core business is product analysis and tracing the flow of goods. We see ourselves as a service provider to retailers and are internationally positioned with currently 85 laboratories in 21 Countries. Our locations are not only located in numerous states in Europe or the USA,*

but of course also in Asian countries such as China and Japan.”

The main focus here is on ‘closer-to-the-customer’ laboratory structures rather than the establishment of large central laboratories.

Abgar Barseyten adds: *“Proximity to our customers is particularly important to us. Although we are globally positioned and can offer an extensive product or service portfolio, we still want to support our customers locally and on site. We would like to maintain this strategy.”*

In the future, the Tentamus Group will continue to promote and develop its existing laboratories and consulting companies, but also expand further into new regions, countries and continents in order to be able to serve its customers in the best possible way. With the help of modern analytical equipment and professional teams, Tentamus Group's customers will be assured of the quality and safety of their products in the shortest possible time.

In this sense, the Tentamus Group, also in the name of all its members, would like to express its sincere gratitude to its long-time and loyal customers as well as to the recently acquired new partners and sponsors. In the short term, but also in the long term, new and exciting projects are planned, so that the Tentamus Group is already looking forward to at least the next 10 years as a network and family.

Contacts

hello@tentamus.com
+49 30 206 038 230



Jochen P. Zoller
CEO, Founder



Abgar Barseyten
CEO, Founder

10TH ANNIVERSARY





Due nuovi laboratori si uniscono al Gruppo Tentamus in Italia

Il Gruppo Tentamus è orgoglioso di dare il benvenuto al Laboratorio di Analisi C.A.I.M. ed MK all'interno della sua rete internazionale di laboratori e fornitori di servizi



Con sede a Follonica (GR), il Laboratorio C.A.I.M. offre servizi di analisi chimica e microbiologica e anche di consulenza, garantendo un prezioso supporto alle aziende che operano nel settore agroalimentare, enologico ed ambientale. C.A.I.M. è tra i leader di mercato per quanto riguarda le analisi enologiche sul territorio nazionale ed è in grado, attraverso personale altamente qualificato e l'utilizzo di strumentazione di ultima generazione, di fornire al mercato un servizio di alta qualità, con tempi di risposta estremamente rapidi. C.A.I.M. dispone, inoltre, di un'agenzia formativa accreditata presso la Regione Toscana, capace di soddisfare le necessità di chi è vincolato al conseguimento di un attestato nei più svariati settori lavorativi, dai corsi sull'igiene alimentare a quelli sulla sicurezza del lavoro. "A 40 anni dalla sua fondazione, C.A.I.M. entra a far parte della famiglia Tentamus, con la volontà di condividere esperienza e com-

petenza con i laboratori partner in Italia e nel mondo, ampliando a sua volta la gamma di servizi da poter offrire a livello locale", spiega Graziana Grassini, Fondatrice di C.A.I.M.

Il Country Manager di Tentamus Italia Nicola Berruti aggiunge: "L'ingresso di C.A.I.M. all'interno del Gruppo come 7° laboratorio con sede in Italia rappresenta un'importante ulteriore step di consolidamento e crescita sul territorio nazionale al fine di garantire al mercato un servizio sempre più completo e radicato in tutti i settori della sicurezza agroalimentare e delle BPL."

C.A.I.M. è accreditato ACCREDIA (Unico Ente Nazionale di Accreditamento) secondo la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025.



Con sede a Città di Castello (PG), il Laboratorio MK (PG), offre servizi di analisi chimiche e microbiologiche, di consulenza e progettazione di processi termici, garantendo, così, un prezioso supporto alle aziende che operano nel settore agroalimentare e ambientale.

Il Laboratorio, nato nel 2010, attraverso personale altamente qualificato e l'utilizzo di strumentazione di ultima generazione, è in grado di fornire al mercato un servizio di alta qualità, con tempi di risposta estremamente rapidi. L'entrata di MK, come ottavo Laboratorio del Gruppo in Italia, rappresenta un importante tassello nello sviluppo nazionale, con lo scopo di implementare la capillarità sul territorio e fornire ai clienti un servizio sempre più completo a livello analitico e di prodotti analizzati.

Nicola Berruti, Country Manager di Tentamus Italia, sottolinea come l'ingresso di MK rappresenti un altro importante pas-

so avanti nella creazione di un Gruppo di Laboratori altamente specializzati sul territorio nazionale, che si distingue per la sua stretta vicinanza al Cliente e per l'alto livello qualitativo dei suoi servizi.

"La scelta di entrare a far parte del Gruppo Tentamus rappresenta una nuova ed importante opportunità per noi e i nostri Clienti. Siamo felici ed entusiasti per questa nuova avventura che ci permetterà di condividere competenze, strumentazioni e nuovi metodi analitici con tutti i Laboratori Partner e assicurare, così, qualità e sicurezza ai prodotti dei nostri Clienti" – spiega Marco Boriosi, direttore del laboratorio.

MK è accreditato Accredia (Unico Ente Nazionale di Accreditamento per le attività di prova secondo la norma ISO/IEC 17025.



Informazioni sul Laboratorio di Analisi C.A.I.M.

Il Laboratorio di Analisi C.A.I.M. nasce come laboratorio enologico nel 1981. Successivamente, oltre ad espandere l'operatività di laboratorio a tutte le matrici agroalimentari ed ambientali, C.A.I.M. ha voluto ampliare l'attività fornendo servizi di consulenza e formazione. L'attività principale di C.A.I.M. rimane comunque il laboratorio, ormai uno dei più importanti in Italia nel settore enologico e comunque un ottimo riferimento per gli altri settori merceologici. Per maggior informazioni, visitare il sito www.caimgroup.it.

Contatti:
Centro Analisi C.A.I.M. S.r.l.
 Via del Turismo, 196
 58022 Follonica (Italy)
 Phone: +39 0566 54162
info@caimgroup.it

Informazioni sul Laboratorio di Analisi MK

Il laboratorio MK è un partner sicuro e affidabile per le analisi chimiche e microbiologiche su alimenti, mangimi, acque, aria, terreni e superfici. Offre servizi di consulenza, audit e formazione ed è specializzato nella progettazione di processi termici. Infine, fornisce alle Aziende un servizio di consulenza in tema di prevenzione ambientale e rispetto delle relative normative vigenti. Per maggior informazioni, visitare il sito www.mkambiente.com

Contatti:
MK S.r.l.
 Via Antonucci, 2
 06012 Città di Castello (PG)
 Tel: 075 8512150
info@mkambiente.com



Tentamus®



Two new laboratories are joining the Tentamus Group in Italy

The Tentamus Group is proud to welcome C.A.I.M. & MK analysis Laboratory to its international network of Laboratories and service providers



CAIM
GROUP
A Tentamus Company



MK
A Tentamus Company

The Tentamus Group is proud to welcome C.A.I.M. Analysis Laboratory to its international network of laboratories and service providers. Based in Follonica (Province of Grosseto, Italy), C.A.I.M. Laboratory offers chemical and microbiological analysis and consultation services, providing valuable support to companies operating in the agri-food, oenological and environmental sector.

C.A.I.M. is among the market leaders for oenological analysis in Italy. Through its highly qualified staff and the use of the latest generation equipment and technology, the laboratory is able to provide the market with a high-quality service, with extremely fast response times.

Moreover, C.A.I.M. has a training agency which helps companies to obtain certificates required by law for different working sectors – from courses on food hygiene to those on health and safety. This agency has been accredited by the Tuscany Region (Italy).

“40 years after its foundation, C.A.I.M. joins the Tentamus family with the desire to share experience and expertise with its partner laboratories in Italy and around the world, thus expanding the range of services that can be offered locally”, as Graziana Grassini, Founder of C.A.I.M., explains. Nicola Berruti, Country Manager of Tentamus Italy proudly adds: “C.A.I.M. joining the Group, as the 7th laboratory based in Italy, represents an important further step towards consolidation and growth of the Italian territory, which is aimed at guaranteeing the market an increasingly comprehensive service in all agri-food safety and GLP sectors.”

C.A.I.M. is accredited by ACCREDIA (Italian Accreditation Body) according to the UNI CEI EN ISO/IEC 17025 standard.

CAIM
GROUP
A Tentamus Company

The Tentamus Group is proud to welcome MK Analysis Laboratory to its international network of laboratories and service providers. Based in Città di Castello (Province of Perugia, Italy), the MK Laboratory offers services of chemical and microbiological analysis, consultancy and the design of thermal processes, guaranteeing valuable support to companies operating in the agri-food and environmental sector.

Since the year of its foundation (2010), the laboratory has been able to provide the market with a high-quality service with extremely fast response times thanks to its highly qualified staff and its latest generation equipment.

MK joins the Group as the 8th laboratory based in Italy, representing an important element in the development within the Italian territory, with the aim of strengthening the Group's existing presence nationally and providing its customers with an increasingly comprehensive service in terms of

product analysis.

Nicola Berruti, Country Manager of Tentamus Italy, emphasizes how MK joining the Group represents a further step forward in the creation of a Group made of highly specialized laboratories spread across the Italian territory, which stands out for its close proximity to the client and its high-quality level services.

“The choice to become part of the Tentamus Group represents a new and important opportunity for us and our clients. We are happy and excited about this new adventure that will allow us to share skills, instrumentation and new analytical methods with all the partner laboratories so that we can ensure quality and safety for our customers' products”, explains Marco Boriosi, Laboratory Manager.

MK is accredited by ACCREDIA (Italian Accreditation Body) according to the ISO/IEC 17025 standard.

MK
A Tentamus Company

About CAIM Analysis Laboratory

The C.A.I.M. Analysis Laboratory was founded as an oenological laboratory in 1981. Subsequently, in addition to expanding the operations of the laboratory to all food and environmental matrices, C.A.I.M. expanded the activity by providing consulting and training services. The main activity of C.A.I.M. however remains the laboratory, by now one of the most important ones in Italy in the oenological sector and an excellent reference for other sectors. For further information please visit www.caimgroup.it.

Contacts:

Centro Analisi C.A.I.M. S.r.l.
Via del Turismo, 196
58022 Follonica (Italy)
Phone: +39 0566 54162
info@caimgroup.it

About MK Analysis Laboratory

The MK laboratory is a safe and reliable partner for chemical and microbiological analysis on food, feed, water, air, soil and surfaces. It offers consulting, auditing and training services and specialises in thermal processes design. It also provides companies with a consultancy service on environmental prevention and compliance with the relative regulations in force.

For more information, please visit www.mkambiente.com.

Contacts:

MK S.r.l.
Via Antonucci, 2
06012 Città di Castello (PG)
Tel: 075 8512150
info@mkambiente.com

Valori di riferimento per la valutazione dei risultati microbiologici

Dott.ssa Fulvia Larini, Resp. Analisi Microbiologia e Biologia di Tentamus AgriParadigma

Nell'ambito del *food*, le analisi microbiologiche sono parte integrante del sistema di verifica e valutazione dei prodotti, fornendo utili indicazioni sull'igiene nel processo di produzione, sull'insorgenza di potenziali rischi sanitari e sulla salubrità del prodotto finale. Chi opera nel settore alimentare a qualsiasi livello della filiera, dalla produzione delle materie prime alle fasi intermedie di trasformazione, fino alla produzione del prodotto finito e alla sua distribuzione sul mercato, si trova a confrontarsi con la necessità di monitorare la qualità igienico-sanitaria del processo produttivo e degli alimenti che ne derivano.

I principali riferimenti normativi fanno capo al Regolamento (CE) 2073/2005 e successive modifiche e rettifiche. Questa norma stabilisce criteri di sicurezza alimentare da applicare a prodotti immessi sul mercato e criteri di igiene del processo per la valutazione del sistema di produzione. In base alla categoria di appartenenza dell'alimento, sono definiti i parametri da esaminare, il numero di aliquote da campionare e per quante di esse può essere tollerata una deviazione dal criterio di accettabilità. Per alcuni parametri quantitativi sono riportate una soglia minima (m), che può essere superata in un numero massimo definito di aliquote, e una soglia massima (M) che non può mai essere superata. Valori cosiddetti "accettabili", ovvero compresi tra la soglia minima e la soglia massima, dovrebbero comunque essere valutati criticamente per capire se siano indicativi di una situazione di rischio. Per i criteri di igiene del processo sono indicate inoltre le azioni da intraprendere in caso di risultati insoddisfacenti. Accanto alle norme comunitarie intervengono quelle nazionali, per esempio l'Ordinanza Ministeriale del 7/12/1993 che riguarda la ricerca e la quantificazione di *Listeria monocytogenes* in prodotti da consumarsi previa cottura, a cui si aggiungono eventuali norme regionali e circolari ministeriali.

I controlli previsti dalla normativa sono solitamente rivolti al monitoraggio di parametri potenzialmente patogeni e alla prevenzione di situazioni di pericolo sanitario. Tuttavia, essi non sempre sono esaustivi ai fini del controllo microbiologico del processo e del prodotto. Ogni tipologia di alimento presenta criticità intrinseche alla matrice, legate all'origine delle materie prime e alle modalità di trasformazione e produzione. Spesso, quindi, chi produce o acquista materie prime e alimenti o chi offre consulenza in ambito alimentare, si trova a dover definire i parametri da controllare e i criteri di valutazione dei risultati analitici.

A questo proposito può essere utile consultare le "Linee Guida per il Controllo Ufficiale ai sensi dei Reg. (CE) 882/2004 e 854/2004", approvate il 10/11/2016 dalla Conferenza Stato-Regioni. Sebbene i due Regolamenti citati nel titolo siano poi stati abrogati dal Reg. (UE) 2017/625, le tabelle riportate negli allegati costituiscono tuttora una valida base per la valutazione del rischio e per la definizione di profili analitici e frequenza dei controlli. Nell'Allegato 7 le matrici alimentari sono suddivise per tipologia e per ciascuna di esse sono riportati

criteri di valutazione in base a valori guida o, se esistenti, limiti di legge.

Questo documento prende origine dalle "Linee Guida per l'analisi del rischio nel campo della microbiologia degli alimenti" stilate nell'ambito di un progetto della Regione Piemonte e approvate dalla stessa con D.D. n. 780 del 18.11.2011, dove le tabelle relative alle diverse merceologie riportano limiti di riferimento basati sia sulla normativa vigente sia su indicazioni da letteratura o da legislazione di altri Paesi. La Regione Piemonte, attraverso il suo Centro Interdipartimentale di Ricerca e Documentazione sulla Sicurezza Alimentare (Ce.I.R.S.A) mette inoltre a disposizione in rete (https://www.ceirsa.org/matrici_alim.php) un prezioso database dove è possibile ricavare i limiti in maniera semplice e immediata, selezionandoli per parametro batteriologico o per categoria alimentare.

Le informazioni raccolte da queste fonti, valutate criticamente considerando le caratteristiche specifiche del prodotto in esame, consentono di stabilire un profilo analitico adeguato allo scopo di confrontare i risultati ottenuti con criteri di accettabilità che tengono conto della natura dell'alimento. Nel caso di prodotti per i quali non siano reperibili limiti di riferimento pubblicati, il corretto profilo analitico si predispone in base alle caratteristiche della matrice, stabilendo preliminarmente dei congrui valori di accettabilità che possono comunque essere rivalutati secondo l'andamento dei risultati nel tempo.

Il Laboratorio Tentamus AgriParadigma, attraverso il servizio di Assistenza Tecnica collegato con i reparti analitici di Microbiologia e Biologia Molecolare, offre al cliente la possibilità di essere affiancato nella scelta dei parametri da verificare e nella valutazione degli esiti delle analisi eseguite. Inoltre, se il cliente comunica i propri limiti di riferimento, il Laboratorio può controllare l'accettabilità dei dati ottenuti e segnalare eventuali valori fuori specifica, riportando, se richiesto, un commento sulla conformità dei risultati rispetto ai limiti prestabiliti.



Esempi di valutazione dei risultati

Prodotto in esame	Risultato	Requisiti di legge	Limiti di riferimento (Linee Guida)	Valutazione risultato
Carne macinata di pollo da consumare previa cottura	Assenza di <i>Salmonella</i> spp. (analizzata 1 singola aliquota)	Non applicabile: limite definito per 5 aliquote (Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., All. I P.to 1.5)	Vedi normativa	Accettabile in quanto rispetta il requisito di assenza. Per la verifica dei requisiti di legge è necessaria l'analisi su 5 aliquote.
	Presenza di <i>Salmonella</i> spp. in 1 su 5 aliquote analizzate	0 aliquote positive su 5 aliquote analizzate (Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., All. I P.to 1.5)	Vedi normativa	Non conforme (nessuna aliquota delle 5 analizzate può risultare positiva)
	Presenza di <i>Salmonella</i> spp. (analizzata 1 singola aliquota)	0 aliquote positive su 5 aliquote analizzate (Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., All. I P.to 1.5)	Vedi normativa	Non conforme (anche una sola aliquota positiva risulta non accettabile, nonostante non siano state analizzate le altre 4 previste dalla normativa)
Carne fresca di pollame	Presenza di <i>Salmonella</i> spp. in 1 su 5 aliquote analizzate	0 aliquote positive per <i>S. typhimurium</i> o <i>S. enteritidis</i> su 5 aliquote analizzate (Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., All. I P.to 1.28)	Vedi normativa	Necessaria la tipizzazione: risultato conforme se non si tratta di <i>S. typhimurium</i> o <i>S. enteritidis</i>
Carne macinata di pollo da consumare previa cottura	Presenza di <i>Listeria monocytogenes</i> (analizzata 1 singola aliquota con metodo qualitativo)	Non applicabile: limite definito per 3 aliquote con analisi quantitativa MPN (O.M. 7/12/1993)	Vedi normativa	Necessaria la quantificazione con tecnica MPN su 3 aliquote
	Assenza di <i>Listeria monocytogenes</i> (analizzata 1 singola aliquota con metodo qualitativo)	Non applicabile: limite definito per 3 aliquote con analisi quantitativa MPN (O.M. 7/12/1993)	Vedi normativa	Accettabile in quanto rispetta il requisito di assenza. Per la verifica dei requisiti di legge è necessaria la quantificazione con tecnica MPN su 3 aliquote
	Assenza di <i>Listeria monocytogenes</i> (analizzate 3 aliquote con metodo qualitativo)	Non applicabile: limite definito per 3 aliquote con analisi quantitativa MPN (O.M. 7/12/1993)	Vedi normativa	Conforme se la sensibilità del metodo qualitativo garantisce la rilevazione di concentrazioni inferiori alla soglia prevista secondo normativa.
	Presenza di <i>Listeria monocytogenes</i> quantificata su 3 aliquote con tecnica MPN: 7,4 MPN/g - 15 MPN/g - 21 MPN/g	Non oltre 11 MPN/g in 1 u.c., non oltre 110 MPN/g in 2 u.c. (O.M. 7/12/1993)	Vedi normativa	Conforme
Salume stagionato (Aw ≤ 0,92) con conservabilità superiore a 5 gg	Assenza di <i>Listeria monocytogenes</i> su 5 aliquote analizzate con metodo qualitativo	0 aliquote positive su 5 aliquote analizzate (Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., All. I P.to 1.3)	Vedi normativa	Conforme
Frutta e ortaggi IV gamma	Muffe e lieviti: 1.200 UFC/g	/	Database Ce.I.R.S.A. Soddisfacente: ≤ 10 ⁴	Soddisfacente
Farina	<i>Bacillus cereus</i> : 1.200 UFC/g	/	Database Ce.I.R.S.A. (Cereali e prodotti della macinazione) Soddisfacente: ≤ 10 ² Accettabile: 10 ² ≤ x ≤ 10 ⁴	Accettabile
Spezie	Microrganismi mesofili aerobi: 3,2 x 10 ⁷ UFC/g	/	Database Ce.I.R.S.A. Soddisfacente: < 5x10 ⁵ Accettabile: 5x10 ⁵ ≤ x ≤ 5x10 ⁶ Non soddisfacente: > 5x10 ⁶	Non soddisfacente

Examples of results evaluation

Product	Results	Legal requirements	Reference limits (Guidelines)	Results evaluation
Chicken minced meat to be consumed after cooking	Absence of Salmonella spp. (1 single portion analysed)	Not applicable: limit defined for 5 portions (Comm. Reg. (EC) 2073/2005 and subsequent amendments and additions, Annex I, 1.5)	See legislation	Acceptable as it meets the absence requirement. To verify the legal requirements, an analysis on 5 portions is required.
	Presence of Salmonella spp. in 1 out of 5 analysed portions	0 positive portions out of 5 analysed portions (Comm. Reg. (EC) 2073/2005 and subsequent amendments and additions, Annex I, 1.5)	See legislation	Non-compliant (none of the 5 analysed portions can be positive)
	Presence of Salmonella spp. (1 single portion analysed)	0 positive portions out of 5 analysed portions (Comm. Reg. (EC) 2073/2005 and subsequent amendments and additions, Annex I, 1.5)	See legislation	Non-compliant (even a single positive portion is not acceptable, although the other 4 portions required by the legislation have not been analysed)
Fresh poultry meat	Presence of Salmonella spp. in 1 out of 5 analysed portions	0 positive portions for S. typhimurium or S. enteritidis out of 5 analysed portions (Comm. Reg. (EC) and subsequent amendments and additions, Annex I, 1.2B)	See legislation	Typing required: compliant result if it is not S. typhimurium or S. enteritidis
Chicken minced meat to be consumed after cooking	Presence of Listeria monocytogenes (1 single portion analysed with qualitative method)	Not applicable: limit defined for 3 portions with MPN quantitative analysis (M. O. 7/12/1993)	See legislation	Quantification with MPN method on 3 portions is necessary
	Absence of Listeria monocytogenes (1 single portion analysed with qualitative method)	Not applicable: limit defined for 3 portions with MPN quantitative analysis (M. O. 7/12/1993)	See legislation	Acceptable as it meets the absence requirement. To verify the legal requirements, quantification with MPN method on 3 portions is necessary
	Absence of Listeria monocytogenes (3 portions analysed with qualitative method)	Not applicable: limit defined for 3 portions with MPN quantitative analysis (M. O. 7/12/1993)	See legislation	Compliant if the sensitivity of the qualitative method guarantees the detection of concentrations which are lower than the threshold required by law
	Presence of Listeria monocytogenes found in 3 portions with MPN quantitative analysis: 7,4 MPN/g – 15 MPN/g – 21 MPN/g	Less than 11 MPN/g in 1 sample unit, less than 110 MPN/g in 2 sample units (M. O. 7/12/1993)	See legislation	Compliant
Seasoned cured meat (Aw ≤ 0.92) with 5+ days of shelf life	Absence of Listeria monocytogenes on 5 portions analysed with qualitative method	0 positive portions out of 5 analysed portions (Comm. Reg. (EC) 2073/ and subsequent amendments and additions, Annex I, 1.3)	See legislation	Compliant
Fresh-cut fruit and vegetables	Moulds and yeasts: 1,200 UFC /g	/	Ce.I.R.S.A database Satisfactory: ≤ 10 ⁴	Satisfactory
Flour	Bacillus cereus: 1,200 CFU/g	/	Ce.I.R.S.A database (Cereals and milling products) Satisfactory: ≤ 10 ² Acceptable: 10 ² ≤ x ≤ 10 ⁴	Acceptable
Spices	Aerobic mesophilic microorganisms: 3.2 x 10 ⁷ CFU/g	/	Ce.I.R.S.A database Satisfactory: < 5x10 ⁵ Acceptable: 5x10 ⁵ ≤ x ≤ 5x10 ⁶ Unsatisfactory: > 5x10 ⁶	Unsatisfactory

Reference values for the evaluation of microbiological results



Dott.ssa Fulvia Larini, Head of Microbiology and Biology at Tentamus AgriParadigma

In the food sector, microbiological analyses are part and parcel of the product verification and evaluation system as they provide useful information on hygiene in the production process, on the onset of potential health risks and on the healthiness of the final product. People working in the food sector need to monitor the hygienic-sanitary quality of the production process and the resulting foods. And this applies to any level of the supply chain – from the production of raw materials to the intermediate stages of transformation, up to the production of the end product and its distribution on the market.

The main regulatory references refer to Commission Regulation (EC) 2073/2005 and subsequent amendments and additions. This standard establishes food safety criteria to be applied to products placed on the market and process hygiene criteria for the evaluation of the production system. Based on the category to which the food belongs, we have different parameters to be examined, the number of portions to be sampled and for how many of them a deviation from the acceptability criterion can be tolerated. For some quantitative parameters, we have a minimum threshold (m), which can be exceeded in a defined maximum number of portions, and a maximum threshold (M) that can never be exceeded. The so-called “acceptable” values, i.e. between the minimum and maximum thresholds, should in any case be critically assessed to understand if they are indicative of a risk situation. For the process hygiene criteria, we also have the actions to be taken in case of unsatisfactory results.

Alongside the Community regulations there are also National regulations to refer to, for example the Ministerial Ordinance of 7/12/1993 concerning the research and quantification of Listeria monocytogenes in products to be consumed after cooking, to which are added regional regulations and ministerial circulars, if applicable.

The controls envisaged by the legislation are usually aimed at monitoring potentially pathogenic parameters and at preventing health hazards. However, they are not always exhaustive for the microbiological control of the process and the product. Each type of food presents intrinsic criticalities to the matrix, linked to the origin of the raw materials and to the processing and production methods. Therefore, those who produce or buy raw materials and foods or those who offer advice in the food sector often find themselves having to define the parameters to be controlled and the criteria for evaluating the analytical results.

In this regard, it may be useful to consult the “Guidelines for Official Control pursuant to Regulation (EC) No 882/2004 and Regulation (EC) No 854/2004”, approved on 10/11/2016 by the State-Regions Conference. Although the two Regulations mentioned in the title were later repealed by Regulation (EU) 2017/625, the table below still represents a valid basis for risk assessment

and for the definition of analytical profiles and frequency of controls. In Annex 7 the food matrices are divided by type and for each of them there are evaluation criteria based on guide values or legal limits, if any. This document originates from the “Guidelines for risk analysis in the field of food microbiology” drawn up as part of a project of the Italian region of Piemonte and approved by the same with Executive Decree No 780 of 18/11/2011, where the tables relating to the various product categories show reference limits based both on current legislation and on indications from literature or legislation of other countries. The Piemonte Region, through its Interdepartmental Centre for Research and Documentation on Food Safety (Ce.I.R.S.A) also makes available online (https://www.ceirsa.org/matrici_alim.php) a precious database where it is possible to obtain limits in a simple and immediate way, selecting them by bacteriological parameter or by food category.

The information collected from these sources – which are critically evaluated considering the specific characteristics of the product in question – allow to establish an analytical profile suitable for the purpose and to compare the results obtained with acceptability criteria that take into account the nature of the food. In the case of products for which published reference limits are not available, the correct analytical profile is prepared on the basis of the characteristics of the matrix, preliminarily establishing appropriate values of acceptability which can still be re-evaluated according to the trend of results over time.

Through the Technical Assistance service connected with the analytical departments of Microbiology and Molecular Biology, the Tentamus AgriParadigma Laboratory offers its clients the possibility of being supported when choosing the parameters to be verified and in the evaluation of the results of the analyses performed. Furthermore, if the client communicates their reference limits, the Laboratory can check the acceptability of the data obtained and report any out-of-specification values, as well as make a comment on the compliance of the results with the predetermined limits - if required.

I difetti organolettici nei vini: l'importanza del monitoraggio del *Brettanomyces bruxellensis* e dei suoi metaboliti

Dott. Alessio Carnemolla, Enologo e Responsabile Commerciale di C.A.I.M.

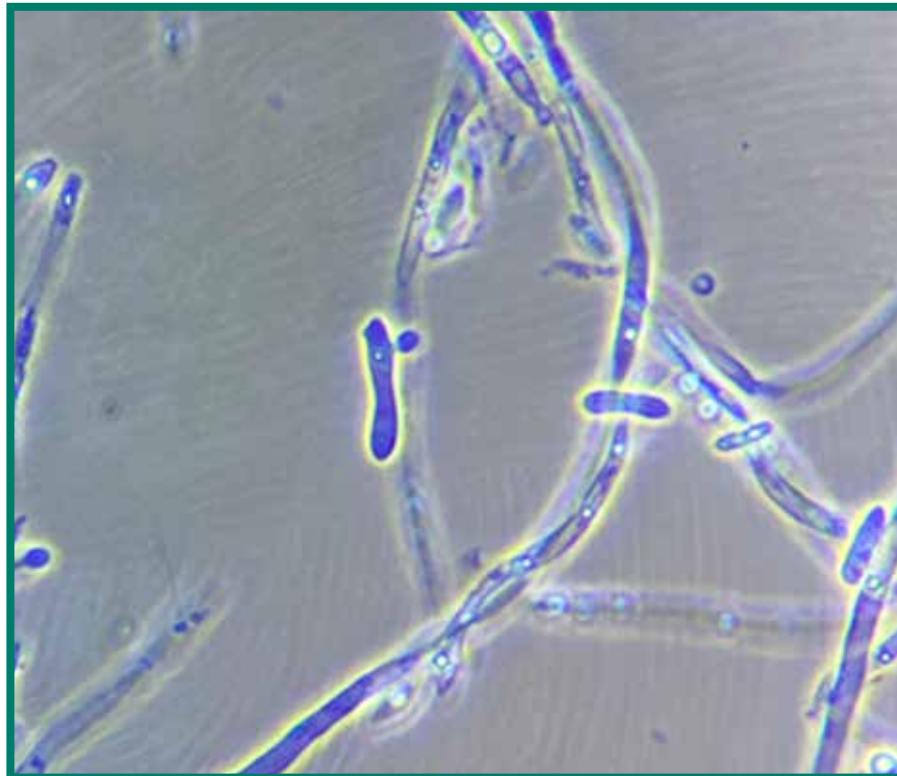
Il settore vitivinicolo rappresenta un'eccellenza del Made in Italy. Con una produzione 2020 di 49 milioni di ettolitri, il 19% della produzione mondiale, l'Italia si conferma ancora una volta il primo produttore mondiale di vino (fonte ISTAT). Tra le etichette certificate a denominazione di origine, l'Italia conta ben 332 D.O.C. e 77 D.O.C.G., mentre i vini a indicazione geografica sono 118 (Federdoc, 2020).

Secondo il D.M. del 12 marzo 2019 che disciplina gli esami analitici e organolettici per i prodotti DOP, i vini a denominazione di origine devono essere sottoposti a esami analitici di tipo chimico-fisico da parte di un laboratorio accreditato e ad esame organolettico da parte di una commissione di degustatori nominata dalla Camera di Commercio territoriale. Spesso, la presenza di difetti olfattivi di varia natura, rilevati in sede di degustazione, comporta una non conformità del vino e un conseguente declassamento, causando una notevole perdita economica da parte del produttore.

Tra le anomalie riscontrate in sede di analisi organolettica, quella che incide in maniera preponderante è il difetto definito dai tecnici "Brett" causato da alcuni metaboliti prodotti dal lievito *Brettanomyces bruxellensis*. I composti responsabili della deviazio-

ne organolettica sono il 4-etilfenolo, il 4-etilguaiacolo, il 4-vinilfenolo e il 4-vinilguaiacolo. Tali sostanze, a basse concentrazioni, possono contribuire alla complessità aromatica del vino (sentori di pepe, sidro, chiodi di garofano) mentre a concentrazioni superiori alla soglia di percezione possono influenzare negativamente il profilo organolettico del vino, conferendo sentori sgradevoli quali il sudore di cavallo, medicinale, cuoio e stalla. Pur essendo tipico dei vini rossi, CAIM ha riscontrato la presenza di questo difetto anche su vini bianchi ottenuti con macerazione delle bucce o prodotti in assenza o riduzione di solfiti.

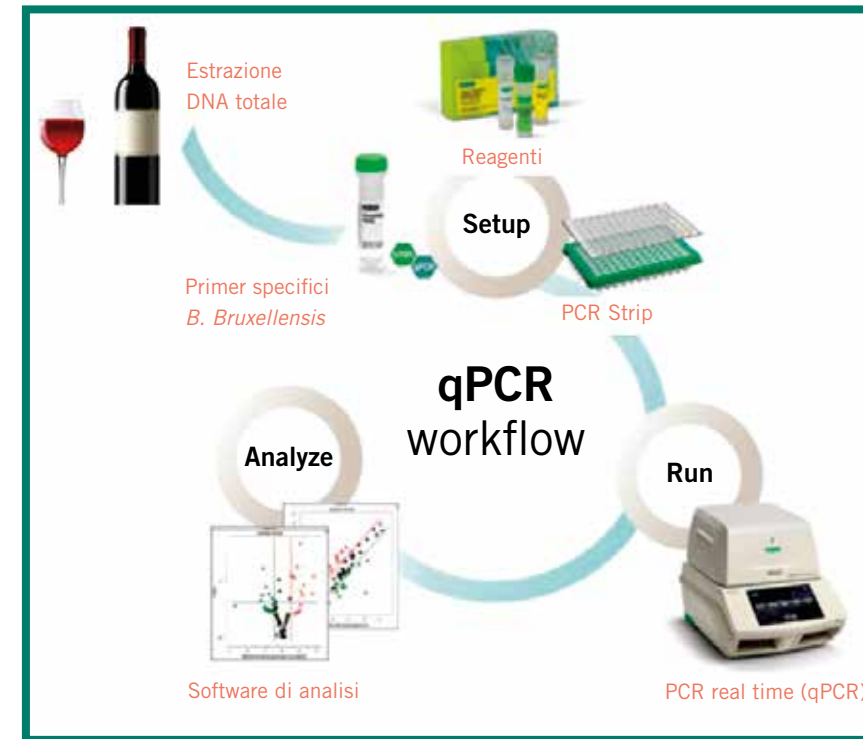
Questa anomalia del vino deriva dall'azione di lieviti appartenenti al genere *Brettanomyces/Dekkera* spp., riconosciuto da molti autori come parte del microbiota presente sull'uva, sulle attrezzature impiegate in cantina e nel vino. *Brettanomyces/Dekkera* spp. risulta già presente nei vigneti e da questi viene trasferito in cantina. Alcuni autori hanno descritto la sua presenza nell'aria in zone predisposte alla vinificazione, dimostrando così che anche l'aria stessa può essere veicolo di contaminazione. Il microrganismo è quindi in grado di contaminare potenzialmente tutte le superfici di cantina quali attrezzature, vasche in cemento e legno delle botti e barriques, penetrando all'interno del legno stesso e rendendo la sanificazione dei contenitori spesso inefficace. Questo tipo di lievito può svilupparsi sin dalla fine della fermentazione alcolica, proseguire durante l'affinamento, e addirittura successivamente all'imbottigliamento del vino finito. La specie più



ne di origine risulta contaminato proprio a causa di una assenza di monitoraggio durante le fasi di produzione, con interventi correttivi di scarsa efficacia eventualmente applicati solo al termine della produzione enologica.

Il monitoraggio

Oltre all'analisi della concentrazione di *Brettanomyces bruxellensis* risulta di fondamentale importanza la valutazione dei **marcatori chimici** cosiddetti **fenoli volatili** (4-etilfenolo, il 4-etilguaiacolo, il 4-vinilfenolo e il 4-vinilguaiacolo), i metaboliti responsabili del difetto organolettico. La frequenza di monitoraggio è solitamente associata alle fasi successive alla fermentazione alcolica, in cui la stabilità biologica del prodotto non è stata ancora pienamente raggiunta. Tra i fattori che



diffusa nel corso della vinificazione risulta essere *Brettanomyces bruxellensis*: difficile da isolare e da individuare a causa della limitata velocità di crescita e della bassa concentrazione, oltre ad una possibile condizione di scarsa coltivabilità (VBNC, Viable but not culturable). Questi motivi rendono la ricerca molto complessa da eseguire con tecniche microbiologiche tradizionali che prevedono la coltura in piastra. Queste limitazioni possono essere superate adottando metodi coltura-indipendenti basati sulle tecniche di analisi del DNA mediante PCR, in grado di fornire risultati precisi e affidabili. L'individuazione accurata e tempestiva della presenza di *B. bruxellensis* lungo le varie fasi della filiera, a partire dal vigneto per arrivare in cantina, è di fondamentale importanza per adottare idonee azioni correttive ed evitare le deviazioni organolettiche caratteristiche. La maggior parte del vino scartato nelle commissioni di assaggio per la certificazione della denominazio-

maggiormente influenzano la qualità e la rappresentatività dei dati, il **campionamento** risulta essere di fondamentale importanza in quanto i lieviti possono depositarsi sul fondo del serbatoio o della botte. Pertanto, la quantificazione accurata può essere eseguita solo dopo avere rimesso in sospensione il deposito. Infatti, in assenza di rimescolamento della massa si rischia di non rilevare la presenza del lievito o di quantificarlo in modo inaccurato ottenendo un valore in UFC/ml che non può essere riferito alla massa totale del vino.

Al fine di formare le aziende vinicole, C.A.I.M. ha sviluppato un protocollo di campionamento chiaro e facilmente applicabile al fine di garantire la massima rappresentatività del dato analitico.



Alessio Carnemolla

Enologo e Responsabile commerciale del Centro Analisi C.A.I.M.

Laureato in Viticoltura ed Enologia presso l'Università di Pisa (2013) e Sommelier FISAR (2017). Lavora nel settore enologico dal 2009. Dal 2016 entra in C.A.I.M. prima come Enologo nel Reparto Enologia e successivamente anche come Commerciale. Attualmente si occupa anche dei Progetti finanziati dalla regione Toscana per la diffusione delle tecnologie nel settore vitivinicolo.

Oenologist and Sales Manager at C.A.I.M. Analysis Laboratory

Alessio graduated in Viticulture and Oenology at the University of Pisa (2013) and is a certified Sommelier by FISAR (Italian Federation of Sommeliers Hoteliers and Restaurateurs) (2017). He has been working in the wine sector since 2009. In 2016 he first joined C.A.I.M. as an Oenologist in the Oenology Department and his role later expanded to include sales management. He is also currently involved in projects funded by the Italian region of Tuscany for the introduction of technologies in the wine sector.



Organoleptic defects in wine: the importance of monitoring *Brettanomyces bruxellensis* and its metabolites



Dr. Alessio Carnemolla, Sales Area Manager e Wine Specialist at C.A.I.M.

The wine sector represents a Made in Italy excellence. With a production of 49 million hectolitres in 2020 –19% of world production – Italy is once again confirmed as the world's leading wine producer (Source: ISTAT, Italian National Institute of Statistics). Italy counts as many as 332 DOC and 77 DOCG among the labels certified with a designation of origin, while there are 118 wines with geographical indication (Federdoc, 2020).

According to the Ministerial Decree 12/03/2019 governing the analytical and organoleptic tests for PDO products, wines with a designation of origin must undergo chemical-physical analytical tests by an accredited laboratory as well as organoleptic examination by a commission of tasters appointed by the territory's Chamber of Commerce. The presence of various types of olfactory defects detected during the tasting very often leads to a non-conformity of a given wine and a consequent downgrading, causing a considerable economic loss for the producer.

Among the anomalies found during the organoleptic analysis, the one that has the most significant impact is the defect commonly called as "Brett", which is caused by some metabolites produced by the *Brettanomyces bruxellensis* yeast. The compounds responsible for the organoleptic deviation are 4-ethylphenol, 4-ethylguaiacol, 4-vinylphenol and 4-vinylguaiacol. At low concentrations, these substances can contribute to the aromatic complexity of the wine (hints of black pepper, cider, cloves). However, if these are found to be above the perception threshold, they can negatively affect the organoleptic profile of the wine, giving unpleasant hints such as horse sweat, medicine, leather and stable. Although it is typical of red wines, C.A.I.M. has found this defect also in white wines obtained with skin maceration or when produced with no or low sulphites.

This anomaly comes from the action of yeasts belonging to the *Brettanomyces/Dekkera* spp. genus, recognised by many as part of the microbiota present on grapes, on the equipment used in the cellar and in the wine itself. *Brettanomyces/Dekkera* spp. can already be found in vineyards, from which it is then transferred to the cellar. Some have described its presence in the air in areas intended for winemaking, also showing that even the air itself can be a vehicle for contamination. The microorganism is therefore able to potentially contaminate all cellar surfaces such as equipment, concrete tanks and wooden barrels and barriques, penetrating inside the wood itself and making the sanitisation of the containers often ineffective. This type of yeast can develop from the end of the alcoholic fermentation and continue during wine refinement but also after bottling finished wine. The most widespread species in the course of winemaking is *Brettanomyces bruxellensis*, which is difficult to isolate

and identify due to its limited growth rate and low concentration, as well as a possible condition of poor cultivability (VBNC, Viable but nonculturable). These are the reasons why the research is very complex to perform using traditional microbiological techniques that involve plate culture. These limitations can be overcome by adopting culture-independent methods based on DNA analysis techniques by PCR, which can provide accurate and reliable results. An accurate and timely identification of *B. bruxellensis* presence along the various stages of the supply chain – from the vineyard to the cellar – is of vital importance if we want to take corrective action and avoid any organoleptic deviations.

Most of the wine that ends up being discarded during tasting commissions for the designation of origin certification is contaminated precisely due to a lack of monitoring during the production phases, with ineffective corrective measures that may have been applied only at the end of wine production.

Monitoring

In addition to the analysis of *Brettanomyces bruxellensis* concentration, what is of utmost importance is the evaluation of the **chemical markers** called **volatile phenols** (4-ethylphenol, 4-ethylguaiacol, 4-vinylphenol and 4-vinylguaiacol) – which are the metabolites responsible for the organoleptic defect. The monitoring frequency is usually associated with the phases following alcoholic fermentation, in which the product's biological stability has not yet been fully achieved. Among the factors that most influence data quality and representativeness, **sampling** is of key importance as the yeasts can deposit on the bottom of the tank or barrel. Therefore, accurate quantification can only be performed after the deposit is suspended. In fact, when the mass is not mixed, there might be risk of not detecting the presence of yeast or of quantifying it in an inaccurate way, obtaining a value in UFC/ml which cannot be referred to the total mass of the wine.

With the aim to train wineries, C.A.I.M. has developed a clear and easily applicable sampling protocol in order to guarantee the maximum representativeness of analytical data.

BPL - ISO/IEC 17025: due sistemi Qualità a confronto

Dott.ssa Luisa Maccaferri, Test Facility Manager di Renolab

Il concetto di qualità è stato sempre contrapposto al concetto di quantità; in periodi diversi l'uno ha prevalso sull'altro. Oggi, almeno nel mondo occidentale, in cui la disponibilità di beni primari è più che soddisfatta, è diventato un valore primario la qualità.

Il settore delle analisi è un sistema produttivo e, come tale, rivolto alla massimizzazione del profitto; questo comporta un ipotetico rischio per la qualità.

Per noi che produciamo dati analitici, la qualità è quella del dato, e si compone dei seguenti requisiti:

- affidabilità, riferibilità: sono connesse all'accuratezza del metodo analitico usato nella fase di produzione del cosiddetto dato grezzo
- sicurezza, integrità: riguardano la fase successiva di elaborazione ed archiviazione del dato

I due più importanti sistemi qualità che certificano i laboratori di analisi si rifanno a:

- Principi di Buone pratiche di Laboratorio (BPL)
- Norma ISO/IEC 17025

PRINCIPI BPL

I principi BPL sono indirizzati ai laboratori che conducono studi non clinici, in supporto alla registrazione di prodotti (fitofarmaci, biocidi, additivi, integratori, farmaci, medicinali veterinari, cosmetici) che immessi sul mercato possono avere un impatto sulla salute pubblica.

Dagli anni '70, in seguito alla scoperta di studi fraudolenti, i governi appartenenti all'OCSE iniziano a discutere per stabilire un set di norme condivise a livello internazionale sulla qualità di questi studi.

Nel 1981 l'OECD pubblica "I principi di buone pratiche di laboratorio" in cui vengono individuati i punti cruciali relativi alla gestione degli studi, nelle diverse fasi in cui vengono pianificati, eseguiti, controllati, registrati e riportati.

In seguito a questa prima pubblicazione, linee-guida specifiche vengono periodicamente emesse come integrazione ed aggiornamento della prima serie.

I principi BPL sono recepiti a livello nazionale e tradotti in leggi; vengono istituiti gli Organi Nazionali di Controllo, autorità incaricate del monitoraggio.

I laboratori che vengono riconosciuti conformi a questi principi sono certificati come Centri di saggio BPL.

• Applicazione

L'applicazione delle BPL è limitata agli studi finalizzati alla registrazione (o al rinnovo) di determinati prodotti chimici.

Gli studi cui si applicano le BPL sono spesso di tipo multidisciplinare e possono prevedere l'esecuzione di una serie di test individuali da condurre durante lunghi periodi di tempo; un tipico esempio sono gli studi di tossicità a lungo termine sugli animali: essi comprendono test chimici, fisici, bio-chimici, istopatologici, clinico-patologici. I diversi tipi di test possono essere eseguiti da più centri di sperimentazione, ognuno specializzato in una disciplina.

Molto spesso si usano test che devono essere messi a punto appositamente per lo studio specifico.

I principi BPL hanno la forma di principi generali e non scendono nel dettaglio tecnico specifico: essi devono poter essere adattati alla varietà degli studi, dei test usati e dei prodotti oggetto dello studio.

L'oggetto della conformità BPL è lo studio intero nelle sue diverse fasi: la programmazione, il protocollo, la fase sperimentale e la relazione finale.

NORMA ISO/IEC 17025

La prima origine risale alla guida ISO 25 pubblicata nel 1978 che si prefigge lo scopo di fissare e condividere a livello internazionale un set di criteri di base richiesti per dimostrare la competenza tecnica dei laboratori.

La ISO/IEC 17025, inizialmente pubblicata nel 1999 e revisionata nel 2005 e nel 2018, è uno standard internazionale che, in alcuni casi, il laboratorio può scegliere di applicare o meno, mentre in altri casi può essere mandatario da parte dagli enti regolatori.

È stata scritta da un gruppo di esperti nominati dai vari organismi nazionali, membri ISO, e infine concordata e pubblicata dopo un approfondito ed esteso processo di revisione a livello internazionale.

A livello governativo sono istituiti Enti Nazionali di Accreditamento incaricati della verifica della qualità e competenza dei laboratori: i laboratori che risultano conformi alla ISO/IEC 17025 sono riconosciuti come laboratori "Accreditati".

• Applicazione

La ISO/IEC 17025 si applica ad un grande numero di laboratori che conducono test in condizioni ripetitive, secondo metodologie note e ben acquisite da parte del personale che li esegue, su campioni di tipo definito.

Oltre alla competenza tecnica del laboratorio accreditato per un determinato test, la ISO/IEC 17025 si occupa di tutti gli aspetti gestionali che intervengono in maniera critica nella fornitura di un servizio come, appunto, sono le analisi.

Anche se tecnicamente molti test per i quali sono richiesti studi BPL potrebbero essere eseguiti da un laboratorio accreditato ISO/IEC 17025, i dati ottenuti non sarebbero accettabili a scopi registrativi, in quanto un laboratorio non compreso nel programma di monitoraggio dei centri di saggio non sarebbe ispezionabile dagli ONC BPL.



DIFFERENZE TRA BPL E ISO/IEC 17025

CERTIFICAZIONE BPL	ACCREDITAMENTO ISO/IEC 17025
Obiettivo: garantire la qualità e l'integrità dei dati che verranno usati dagli enti regolatori per la valutazione del rischio per la salute derivante dalla messa in commercio di un prodotto chimico.	Obiettivo: istituire un sistema di verifica attraverso un organismo indipendente per garantire al cliente l'affidabilità e la competenza di un laboratorio.
La conformità BPL si occupa della coerenza e della completezza dei dati allegati alla documentazione dello studio, che devono garantire la tracciabilità e permetterne la ricostruzione. La valutazione tecnico-scientifica spetta al destinatario finale dello studio, l'autorità regolatoria ricevente.	Verifica periodica della qualità tecnica tramite partecipazione a "Proficiency tests", con cui il laboratorio dimostra la capacità di fornire dati affidabili e scientificamente validi. Particolare rilevanza dei rapporti con i clienti che sono il destinatario finale dell'analisi.
MAD (Mutual Acceptance of Data): accettazione intergovernativa dei dati prodotti in studi BPL condotti in paesi diversi.	ILAC-MRA (International Laboratory Accreditation Cooperation - Mutual Recognition Arrangement): accettazione multilaterale da parte degli organismi di accreditamento dei risultati prodotti dai laboratori accreditati da organismi di altri Paesi.





GLP and ISO/IEC 17025: two Quality system compared



Dr. Luisa Maccaferri, Test Facility Manager at Renolab

The concept of quality has always been opposed to the concept of quantity; in different periods one prevailed over the other. Today, at least in the Western world, where the need for primary goods is more than satisfied, quality has become a primary value.

Since the analysis sector itself is a productive system, and as such aimed at maximizing profit, a possible risk to quality may occur.

As we produce analytical data, the quality concerns the data and consists of the following requirements:

- reliability, traceability: they are connected to the accuracy of the analytical method used in the production phase of the so-called raw data
- security, integrity: these concern the next phase of data processing and archiving

The two most important quality systems that certify analysis laboratories refer to:

- Principles of Good Laboratory Practice (GLP)
- ISO/IEC 17025 standard

GLP PRINCIPLES

The GLP principles are addressed to laboratories that carry out non-clinical studies in support of the registration of products – i.e. pesticides, biocides, additives, supplements, drugs, veterinary medicines, cosmetics – which can have an impact on public health when placed on the market.

Since the 1970s, following the discovery of fraudulent studies, governments belonging to the OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) have begun to discuss in order to establish a set of internationally agreed standards on the quality of these studies.

In 1981, the OECD published “The Principles of Good Laboratory Practices” in which we can identify the key points regarding the management of studies in the various phases in which they are planned, carried out, checked, recorded and reported.

Following its first publication, specific guidelines are periodically issued as an integration and update of the first series.

GLP principles are implemented nationally and translated into laws; National Control Bodies are then established to be in charge of monitoring.

Laboratories that are recognised as conforming to these principles are certified as GLP test sites.

IMPLEMENTATION

GLP implementation is limited to studies for the registration (or renewal) of certain chemicals.

GLP are often implemented to studies of multidisciplinary nature and may involve the execution of a series of individual tests to be conducted over long periods of time. A typical example is long-term toxicity studies on animals: they include chemical, physical, bio-chemical,

histopathological, and clinical-pathological tests. The different types of tests can be performed by multiple testing centres, each of which specialises in a discipline. The performed tests are very often developed specifically for a given study.

GLP principles take the form of general principles, they do not go into specific technical detail: they must be able to be adapted to the variety of studies, tests used and products under study.

The object of GLP compliance is the entire study in its various phases: planning, protocol, trial and final report.

ISO/IEC 17025 STANDARD

Its first origin dates back to the ISO Guide 25 published in 1978, which aims to establish and share internationally a set of basic criteria required to demonstrate the laboratories' technical expertise.

Initially published in 1999 and later revised in 2005 and 2018, ISO/IEC 17025 is an international standard that in some cases the laboratory can choose whether to implement it or not, but in other cases it may be mandated by regulatory bodies.

ISO/IEC 17025 standard was written by a group of experts nominated by various national bodies, ISO members, and finally agreed and published after a thorough and extensive international review process.

At the government level, National Accreditation Bodies are established to be in charge of verifying laboratories' quality and expertise; the laboratories conforming to ISO/IEC 17025 are recognised as “accredited” laboratories.

IMPLEMENTATION

ISO/IEC 17025 standard applies to a large number of laboratories that carry out tests on samples of a given type, under repetitive conditions and according to methods previously acquired by the staff performing them.

In addition to the accredited laboratory's technical expertise for a given test, ISO/IEC 17025 standard deals with all the management aspects that are critically involved when a service – such as analysis – is provided.

While technically many tests for which GLP studies are required could be performed by an ISO/IEC 17025 accredited laboratory, the data obtained would not be acceptable for registration purposes – this is because a laboratory not included in the test sites' monitoring program cannot be inspected by GLP National Control Bodies.

DIFFERENCES BETWEEN GLP AND ISO/IEC 17025

GLP CERTIFICATION	ISO/IEC 17025 ACCREDITATION
Objective: to guarantee the quality and integrity of the data that will be used by the regulatory bodies for the health risk assessment of a chemical product to be put on the market.	Objective: to set up a verification system through an independent body in order to certify a given laboratory's reliability and expertise.
GLP compliance deals with the consistency and completeness of the data attached to the study documentation, which must ensure traceability and allow for its reconstruction. The technical-scientific evaluation is up to the final recipient of the study, i.e. the receiving regulatory authority.	Regular verification of technical quality with “Proficiency tests” through which a given laboratory demonstrate its ability to provide reliable and scientifically valid data. Particular emphasis is put on relationships with clients, i.e. the final recipient of the analysis.
MAD (Mutual Acceptance of Data): intergovernmental acceptance of data produced in GLP studies conducted in different countries.	ILAC-MRA (International Laboratory Accreditation Cooperation - Mutual Recognition Arrangement): multilateral acceptance by accreditation bodies of the results produced by laboratories accredited by bodies of other countries.

Il 2021 di Laemmegroup: un anno di crescita, sviluppo ed espansione

Sono passati tre anni da quando Laemmegroup è entrata a far parte del Gruppo Tentamus, ed è proprio a partire da quella data che il laboratorio ha intrapreso un nuovo cammino di crescita basato sull'industrializzazione di tutti i suoi processi interni. Grazie all'acquisizione di nuovi spazi adiacenti e comunicanti all'azienda, i reparti produttivi sono stati ampliati e ottimizzati. Il polo biologico ha visto raddoppiare la propria capacità produttiva per le analisi microbiologiche a partire dalla fase di campionamento e per tutte le fasi a seguire, mentre per le analisi di biologia molecolare le migliorie riguardano principalmente l'introduzione di nuovi sistemi estrattivi automatizzati. Ingenti investimenti, soprattutto dal punto di vista tecnico, sono stati destinati al polo chimico. Sono stati raddoppiati e ottimizzati

gli spazi dedicati al campionamento, è stato creato un locale interamente destinato alle analisi dei residui di sostanze farmacologiche attive e si sta procedendo all'ampliamento strumentale con nuove linee analitiche per singole analisi. Eliminazione dei cambi di set analitici e riduzione dei tempi di risposta sono solo alcuni dei risvolti positivi che l'azienda sta vivendo e continua ad attuare. Infine, su volere del Gruppo Tentamus, Laemmegroup ha reso operativa un nuovo laboratorio, denominato, ai sensi dell'accreditamento UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018, Sede D, geograficamente distaccato dalla sede principale, con strumentazione nuova e di ultima generazione per analisi microbiologiche.

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

I nostri Talenti

Dott.ssa Elisabetta Genta, Operation Manager

Siamo un'azienda che fornisce ai propri clienti servizi altamente qualificati dove la competenza, professionalità e specializzazione delle persone sono una conditio sine qua non per poter soddisfare e performare secondo le aspettative dei clienti, le richieste del mercato e i requisiti dell'accreditamento. Conoscenza, passione e unione del team sono gli ingredienti con cui cerchiamo di organizzare i nostri collaboratori e il processo di crescita aziendale e di gruppo. Una sfida continua ma soprattutto uno stimolo per tutte le persone che ogni giorno danno il loro importantissimo contributo al raggiungimento di questi obiettivi.

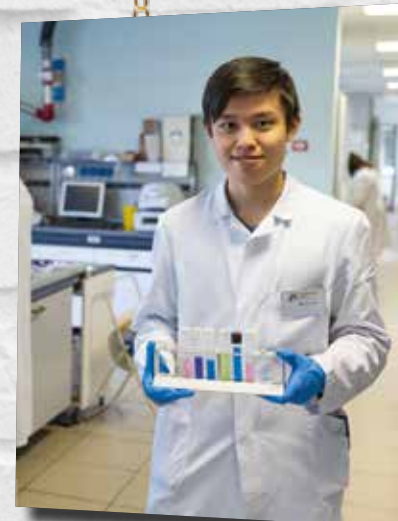
"Solo con il lavoro di squadra si vincono i campionati ..." - (Michael Jordan)

Il Mercato

Dott. Simone Cagna, Sales Manager

In un mercato sempre più esigente, frenetico e dinamico, il Gruppo Tentamus dimostra di tenere il passo. L'ampliamento della sede storica ed il programma di investimenti messo in campo, permettono di rafforzare e migliorare i servizi offerti, così da poter cogliere tutte le sfide che si presenteranno. Inoltre, la nuova sede lombarda traduce, nella pratica, la filosofia del "pensare globale, agire locale". Che tutte le strade portino a Manerbio è forse esagerato, ma che la sua posizione strategica permetta di ridurre i tempi di trasporto, soprattutto per i campioni deperibili, è un grande plus che possiamo offrire alle aziende dell'asse lombardo-veneto.

• MONCALIERI •



La Qualità

Dott.ssa Eleonora Logreco, Quality Manager

Il sistema di gestione è un elemento imprescindibile in qualsiasi realtà aziendale, soprattutto in un mercato estremamente dinamico quale quello in cui operiamo. In una realtà in continuo cambiamento, che manifesta ogni giorno nuove esigenze, è necessario dotarsi degli opportuni strumenti per assicurare la propria competitività ed affermazione sul mercato. La norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 si pone come guida in tal senso, offrendo gli strumenti necessari per una corretta impostazione del sistema di gestione che ha, come fine ultimo, la promozione della fiducia nelle attività svolte dal laboratorio. Il laboratorio è parte attiva nei cambiamenti anche dal punto di vista della qualità. Grazie all'apertura delle analisi al mercato europeo, in particolar modo a quello tedesco, il settore istologico sta ampliando il proprio ventaglio di metodi di analisi che a breve avranno il valore aggiunto dell'accreditamento. Parallelamente il settore microbiologico sta investendo risorse adottando metodi alternativi validati per quanto riguarda la ricerca di patogeni. Non ultimo, il nuovo laboratorio a Manerbio è in fase di accreditamento in quanto una nuova sede di analisi, soprattutto se effettua test microbiologici, non può risultare altrimenti competitiva.

• MANERBIO •



The 2021 of Laemmegroup: a year of growth, development and expansion



Laemmegroup joined the Tentamus Group three years ago now; and it is precisely from that date that the laboratory has embarked on a new growth path based on the industrialisation of all its internal processes. Thanks to the acquisition of new spaces closely connected to the company, the Production departments have been expanded and improved. The Biology Unit has doubled its production capacity for microbiological analyses, starting from the sampling phase and for all following phases. For molecular biology analysis, the improvements mainly concern the introduction of new automated extraction systems. Considerable investments have been destined to the Chemistry Unit, especially for its technical resources. The spaces dedicated to sampling have been doubled and improved; an en-

tire room has been created specifically for the residues analysis of active pharmacological substances and new instrumentation has been introduced, including new analysis lines for individual analysis. The elimination of analytical sets changes and the reduction of response times are just some of the positive outcomes that the company has achieved so far, but it does not end here. Finally, at the behest of the Tentamus Group, Laemmegroup has inaugurated a new laboratory called Headquarters D – pursuant to the UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2018 accreditation – which is detached from the main office and has new and of latest generation equipment for microbiological analysis.

Dr. Valeria R. Giancotti
Technical Manager



Our Talents

Dr. Elisabetta Genta, Operation Manager

We are a company that provides its clients with highly specialised services where our staff's expertise, professionalism and specialisation are essential to meet our clients' expectations, market demands and accreditation requirements.

Knowledge, passion and team unity are the elements with which we try to organise our collaborators. And the growth process for the company and the Group itself is certainly a continuous challenge, but also serves as a motivation for all the people who make their very important contribution every day to achieve these goals.

“Talent wins games, but teamwork and intelligence wins championships...” – (Michael Jordan)

The Quality

Dr. Eleonora Logreco, Quality Manager

The management system is a key element in any business reality, especially in an extremely dynamic market such as the one in which we operate. In a constantly changing reality that generates new needs every day, we need ensure our own competitiveness and affirmation on the market by having the appropriate tools. The UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 standard acts as a guide in this regard by offering the necessary tools for a correct management system setting, which has the promotion of trust in the activities carried out by the laboratory as its ultimate goal. The laboratory plays an active role in these changes also in regards to quality. Opening up analysis services to the European market – especially the German one – led the histological sector to expand its range of analysis methods that will soon be accredited. At the same time, the microbiological sector is investing resources by adopting alternative methods for pathogens research. Last but not least, the new laboratory in Manerbio is currently pending accreditation as a new analysis centre – it cannot otherwise be competitive, especially if it carries out microbiological tests.

The Market

Dr. Simone Cagna, Sales Manager

The Tentamus Group continues to keep up with an increasingly demanding and ever-changing market.

The expansion of the main Headquarters and the investment program put in place allow to develop and improve the services offered, so as to be able to meet all the challenges that may arise. Furthermore, the new office in the region of Lombardy (Northern Italy) put the philosophy of Think globally, act locally into practice.

Saying that all roads lead to Manerbio is perhaps an exaggeration, but its strategic position allows to reduce transport times, especially for perishable samples. And that is a plus value we can offer to companies based in the Lombardy-Veneto area in Italy.

Le conservabilità degli alimenti ed i trattamenti termici

Dott. Marco Boriosi, Direttore del Laboratorio MK

Produrre un alimento sicuro significa ridurre a livelli statisticamente accettabili la presenza di batteri patogeni e loro tossine, minimizzando, così, le contaminazioni nella fase di realizzazione dello stesso.

Se parliamo di conserve o di prodotti a cui sia necessario garantire una durabilità nel tempo, come ad esempio le conserve, la strada più efficace e sicura prevede necessariamente un trattamento termico del prodotto finito nella confezione destinata allo scaffale.

La progettazione di un processo termico prevede alcune fasi preliminari al fine di individuare il modus operandi più appropriato: pastorizzazione o sterilizzazione, a seconda che necessiti di temperature blande (inferiori a 200°F/63,3°C) o superiori (fino a 250°F/121,1°C) e la cui durata temporale sia tale da garantirne sicurezza e durabilità.

Queste fasi possono essere così riassunte:

- 1) Analisi del prodotto da un punto di vista chimico, caratterizzandolo in termini di pH, acqua libera e viscosità.
- 2) Individuazione dei batteri patogeni target, ovvero delle specie che possono sussistere nell'ambiente caratterizzato dalle valutazioni, citate al punto precedente, e che possono deteriorare il prodotto sia dal punto di vista della salubrità che da quello organolettico.
- 3) Valutazione del contenitore che accoglierà il prodotto finito (geometria, tipo di materiale).
- 4) Esame delle tecnologie a cui è possibile ricorrere per somministrare calore al prodotto finito e delle temperature massime che il prodotto può supportare. Ad esempio, alimenti ad alto contenuto significativo di proteine e zuccheri non possono essere trattati a temperature troppo elevate poiché si otterrebbe un imbrunimento del colore.

Al termine delle valutazioni preliminari si sviluppa il processo termico in cui i parametri fondamentali sono temperatura e tempo: questi sono tra loro interconnessi, in quanto il protrarsi del tempo potrebbe far minimizzare le temperature di cottura e viceversa.

I trattamenti a temperature più contenute (Pastorizzazione) sono quelli progettati nell'individuazione di batteri target:

pH del prodotto	Target	Processo termico
<3,70	Organismi vegetativi, Lieviti e muffe	70°C per 5 minuti
Tra 3,70 e 4,00	Anaerobi butirrici	85°C per 5 minuti
Tra 4,00 e 4,20	Anaerobi butirrici	93,3°C per 5 minuti
Tra 4,20 e 4,40	Anaerobi butirrici e altri bacilli sporigeni acido tolleranti	93,3°C per 10 minuti

Si ricorre, invece, a temperature più alte (Sterilizzazione) quando i target sono batteri patogeni maggiormente termoresistenti e sporigeni, come ad esempio il Clostridium Botulinum ed, in particolare, le tossine prodotte dallo stesso durante la fase riproduttiva.

Questo batterio è sporigeno, pertanto in assenza di ossigeno si sviluppano spore termoresistenti che una volta trovate in ambiente favorevole tornano ad essere la forma vegetativa del Botulinum, con possibile formazione delle tossine letali.

Inoltre, le tossine del Botulinum non causano rigonfiamento o collasso dei contenitori e non modificano, se non blandamente, odore o sapore dell'alimento in cui sono contenute.

In alimenti poco acidi (pH>4,60) e con acqua libera superiore a 0,92 la progettazione del processo termico è mirata sempre alla distruzione delle spore del Botulinum.

Questo processo avviene con temperatura di riferimento a 121,1°C. Tale temperatura non può essere raggiunta in condizioni ordinarie (ad es. con ebollizione acqua) ma in macchinari più sofisticati in cui il mezzo riscaldante è normalmente vapore o acqua surriscaldati.

Gli autoclave operano con l'obiettivo di raggiungere temperature prossime ai 121°C, utilizzando vapore con tecniche di varia natura: acqua spray surriscaldata, vapore saturo diretto, immersione in acqua surriscaldata.

Nella progettazione di un processo termico di sterilizzazione si definisce:

D: tempo riduzione decimale di un microrganismo.

Z: Costante resistenza termica di un microrganismo.

MK collabora da anni con molte aziende conserviere attraverso un know-how sviluppato con formazioni mirate negli anni e svolte soprattutto a Parma presso agenzie di formazione che usufruiscono di tecnici della Food and Drug Administration. La progettazione dei processi termici (sia pastorizzazione che sterilizzazione) o la verifica degli stessi è uno dei servizi che il nostro laboratorio fornisce da molti anni.



Food shelf life and heat treatments

Dr. Marco Boriosi, Laboratory Manager at MK



Producing a safe food means reducing the presence of pathogenic bacteria and their toxins to statistically acceptable levels, and therefore minimising contamination in the production phase.

If we talk about products for which it is necessary to guarantee durability over time, such as preserves, the safest and most effective way necessarily involves a heat treatment of the finished product within the package destined for the shelf.

The design of a thermal process involves some preliminary phases in order to identify the most appropriate modus operandi: pasteurisation or sterilisation depending on whether it needs mild temperatures (below 200°F/63.3°C) or high temperatures (up to 250°F/121.1°C) and whose time duration is such as to guarantee safety and durability.

These phases can be summarised as follows:

- 1) Perform product analysis from a chemical point of view, specifically in terms of pH, free water and viscosity.
- 2) Identify target pathogenic bacteria, i.e. species that may exist in the environment characterised by the assessments mentioned in the previous bullet point and that can deteriorate the product's healthiness and organoleptic characteristics.
- 3) Evaluate the finished product's container (e.g. geometry, type of material).
- 4) Determine the technologies that can be used to supply heat to the finished product and the maximum temperatures that the product can endure. For example, foods that are rich in proteins and sugars cannot be processed at very high temperatures as this would result in a browning of their colour.

At the end of the preliminary assessments, the thermal process is developed having temperature and time as main parameters. These are interconnected as the prolongation of time could minimise cooking temperatures and vice versa.

The treatments at lower temperatures (i.e. pasteurisation) are those designed to identify target bacteria:

product's pH	Target	Thermal process
<3,70	Vegetative organisms, yeasts and moulds	70°C for 5 minutes
Between 3.70 and 4.00	Butyric anaerobes	85°C for 5 minutes
Between 4.00 and 4.20	Butyric anaerobes	93.3°C for 5 minutes
Between 4.20 and 4.40	Butyric anaerobes and other acid-tolerant spore-forming bacilli	93.3°C for 10 minutes

Conversely, treatments at higher temperatures (i.e. sterilisation) are used when the targets are pathogenic bacteria which are more heat-resistant and spore-forming, such as Clostridium Botulinum and in particular the toxins produced by it during the reproductive phase.

This bacterium is spore-forming. Therefore, in the absence of oxygen, it can develop heat-resistant spores that, once found in a favourable environment, become the vegetative form of Botulinum with the possible formation of deadly toxins.

Furthermore, the Botulinum toxins do not cause the containers to swell or collapse and do not change, if not mildly, the smell or taste of the food in which they are contained.

In low acid foods (pH>4.60) and with free water higher than 0.92, the design of the thermal process is always aimed at the destruction of Botulinum spores.

This process takes place with a reference temperature of 121.1°C, which cannot therefore be reached in ordinary conditions (e.g. with boiling water) but in more sophisticated machinery in which the heating medium is usually superheated steam or water.

The autoclaves operate with the aim of reaching temperatures close to 121°C, using steam with various techniques: superheated water spray, direct saturated steam, immersion in superheated water.

Detail of the autoclave operating with superheated water spray up to 140°C.

When designing any thermal process of sterilisation, the following is defined:

D: decimal reduction time of a microorganism.

Z: Constant thermal resistance of a microorganism.

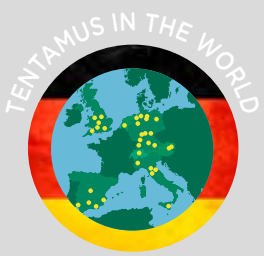
MK has always collaborated with many canning companies through a know-how developed with targeted training over the years and carried out at training agencies – especially in Parma – that employ Food and Drug Administration technicians. The design of thermal processes (both pasteurisation and sterilisation) or their verification is one of the services that our laboratory has been providing for many years.



TENTAMUS NEL MONDO

Pro e contro dei metodi basati sul DNA per l'individuazione di frodi alimentari

Dott.ssa Katrin Neumann, Lab Manager di LifePrint



La frode alimentare è sempre stato un problema nell'industria alimentare: a causa delle sue numerose sfaccettature, esistono diversi approcci per rilevarlo. Uno di questi è l'identificazione del DNA presente nel prodotto.

Un metodo basato sul DNA frequentemente utilizzato è la PCR, con il quale è possibile rilevare, con accuratezza, sequenze target specifiche precedentemente definite.

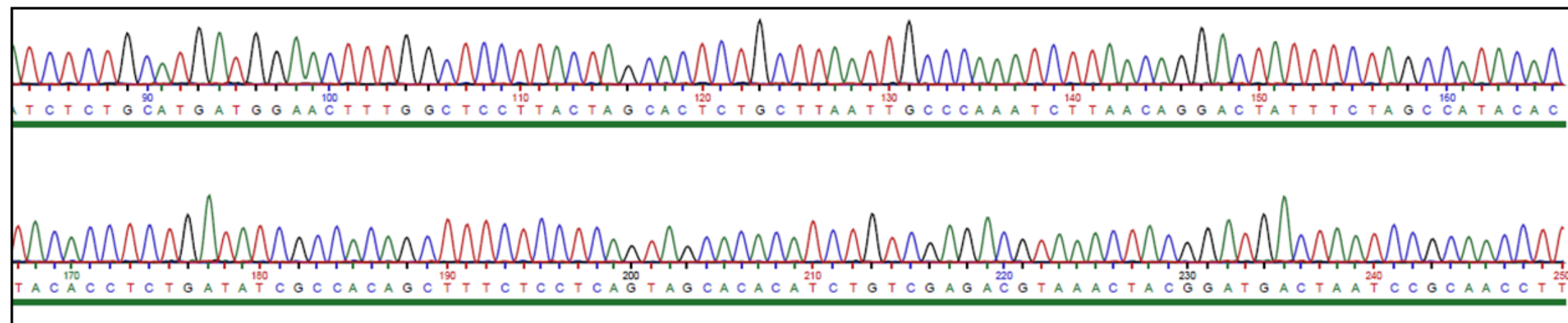
Al contrario, il sequenziamento del DNA è un metodo non mirato per l'identificazione delle specie, limitato solo dall'intervallo di amplificazione che può eseguire una coppia di primer (ad esempio tutti gli animali, tutti i vertebrati, tutti i pesci). Le coppie di primer con una gamma più piccola di specie amplificabili sono spesso in grado di distinguere meglio tra specie strettamente correlate. Una specie che non soddisfa le aspettative viene automaticamente identificata se il suo DNA è amplificabile con i primer utilizzati.

Tuttavia, questo metodo non è adatto per le miscele poiché il DNA di una seconda specie presente nel campione non viene identificato oppure porta a risultati non valutabili. La possibilità di rilevamento è quindi più completa rispetto alla PCR, ma il metodo di sequenziamento del DNA non può fornire informazioni sulla composizione delle specie di un campione. Le miscele di altre specie potrebbero quindi passare inosservate. Con il Next Generation Sequencing (NGS), un altro metodo non mirato, l'identificazione della composizione delle specie è possibile anche per campioni misti. L'NGS è il metodo di scelta per l'individuazione di frodi alimentari perché è in grado di rilevare simultaneamente milioni di sequenze da campioni diversi. Il metodo è principalmente di tipo qualitativo, ma per la valutazione può essere preso in considerazione il numero di diverse sequenze ottenute per ciascuna specie. Per

specie strettamente imparentate, l'identificazione può essere possibile solo a livello di genere. Solitamente i limiti di rilevanza dipendono molto dal contenuto di DNA dei tessuti utilizzati (normalmente compresi tra lo 0,5% e l'1% circa). Poiché i metodi di sequenziamento di solito prendono di mira specie vegetali o vertebrati, una miscela di, ad esempio, un materiale vegetale assieme a un materiale vertebrato passerà inosservato quando si utilizza il metodo per i vertebrati.

Tutti questi metodi basati sul DNA funzionano solo quando il materiale contenente DNA è rimasto sufficientemente intatto. Gli amidi o l'olio, ad esempio, spesso non contengono più DNA utilizzabile e non verranno quindi rilevati.

lifeprint
DNA ANALYSIS
A Tentamus Company



TENTAMUS IN THE WORLD

DNA-based methods for the detection of food fraud: drawbacks and opportunities

Dr. Katrin Neumann, Lab Manager at LifePrint



Food fraud is always an issue in the food industry. Due to its many facets, there are different approaches to detecting it. One of them is the identification of the DNA present in the product.

A frequently used DNA-based method is PCR, with which specific previously defined target sequences can be detected very sensitively.

In contrast to this, DNA sequencing (barcoding) is a non-targeted method for species identification, limited only by the range of amplification a primer pair can do (e.g. all animals, all vertebrates, all fishes). Primer pairs with a smaller range of amplifiable species are often better able to distinguish between closely related species. A species that does not meet the expectation is automatically identified if its DNA is amplifiable with the primers used.

However, this method is not suitable for mixtures, since DNA from a second species in the sample is either not identified or leads to non-evaluable results. The detection possibility is thus more comprehensive than with PCR, but the method cannot provide information on the species

composition of a sample. Admixtures of other species might go unnoticed.

With Next Generation Sequencing (metabarcoding), another non-targeted method, the identification of the species composition is possible even for mixed samples. Millions of sequences can be determined simultaneously from different samples, making this the method of choice for the detection of food fraud. The method is primarily qualitative, but the number of different sequences obtained for each species can be taken into account for evaluation. For very closely related species, identification may only be possible down to the genus level. Generally, the detection limits depend very much on the DNA content of the tissues used but are normally between 0.5% and about 1%. Since sequencing methods usually target either plant or vertebrate species, an admixture of e.g. a plant material to a vertebrate material will go unnoticed when using the method for vertebrates.

All these DNA-based methods only work for material containing sufficiently intact DNA. Starches or oil e.g., often do not contain usable DNA anymore and will not be detected.

lifeprint
DNA ANALYSIS
A Tentamus Company



TENTAMUS NEL MONDO

TentaTINC porta digitalizzazione, automazione e innovazione nei laboratori Tentamus

Dott. Mathias Pohl, Capo del Centro di Tecnologia & Innovazione Tentamus (TentaTINC)



Tentamus ha lanciato il Tentamus Technology & Innovation Center per aiutare i laboratori a realizzare idee innovative.

L'uso di tecnologie innovative è divenuto parte integrante del mondo del lavoro.

Se implementate correttamente, esse portano benefici tangibili e intangibili come: il miglioramento delle vendite e delle relazioni con i clienti / il miglioramento della qualità dei risultati fornendo un ambiente solido per la sicurezza e l'integrità dei dati / la riduzione dei costi e degli sprechi / il miglioramento delle condizioni di lavoro dei dipendenti con un ambiente di lavoro meno ripetitivo, più innovativo e digitale.

Avendo tutto ciò in mente, un team di scienziati guidato dal Dott. Mathias Pohl, ha iniziato a sviluppare e implementare progetti di innovazione presso il Quality Services International a Brema (Germania). I CEO, i business manager e i manager dei laboratori, così come i tecnici e i fornitori di servizi, sono stati tutti incoraggiati a condividere le loro idee.

In poco tempo le richieste sono cresciute. Una gamma diversificata di esperti è stata impiegata per soddisfare queste crescenti esigenze. Le collaborazioni si sono rafforzate con gli esperti locali dei diversi laboratori.

È così che nel 2021 nasce TentaTINC, il Centro di Tecnologia e Innovazione Tentamus.

Come tutti i laboratori di innovazione di successo, il TentaTINC è composto da un team di esperti in vari campi tra cui ingegneria chimica, informatica e scienza dei dati, scienza dei materiali, biologia. Due project manager si assicurano che le idee siano allineate al business dei laboratori e monitorati costantemente. Rispecchiando la rete internazionale Tentamus, il team TentaTINC parla attualmente 7 lingue diverse. Esempi di know-how del TentaTINC includono l'automatizzazione e la digitalizzazione dei flussi di lavoro, l'automazione dell'inserimento dei dati, la convalida del sistema informatico (CSV),



TentaTINC

Tentamus Technology & Innovation Center

l'intelligenza artificiale applicata all'analisi delle immagini microscopiche, interfaccia web personalizzata e software per usi interni ed esterni. Gli obiettivi di TentaTINC sono di

trovare soluzioni digitali a problemi di routine, di consultare i laboratori Tentamus su nuove tecnologie, di realizzare progetti innovativi e di rafforzare la collaborazione tra i laboratori Tentamus.

- **Anno di fondazione:** 2021
- **Servizi:** Innovazione, Tecnologia, Digitalizzazione
- **Numero di dipendenti:** 8
- **Capo e fondatore:** Dr. Mathias Pohl
- **Servizi speciali:** intelligenza artificiale, data science, gestione dei progetti, sistema di convalida del computer, digitalizzazione e automazione dei processi, ingegneria chimica, sviluppo software

Attuali partner di laboratorio TentaTINC:

- Adamson Analytical Laboratories, AromaLAB, Bilacon, Lifeprint, Quality Services International, Tentamus pharma e med Deutschland

Contatto TentaTINC: mathias.pohl@tentamus.com

TENTAMUS NEL MONDO

TentaTINC: bringing digitalization, automation and innovation to Tentamus labs

Dr. Mathias Pohl, Head of the Tentamus Technology & Innovation Center (TentaTINC)



Tentamus has launched the Tentamus Technology & Innovation Center to help laboratories in realizing innovative ideas.

Innovation, technology and digitalization are integrative and fundamental parts of industry and labs. When properly managed and implemented, they bring tangibles and intangibles benefits to laboratories that work in highly regulated industries. Examples include, improvement of sales and customer relationships by speeding up turn-around time, improving quality of results by providing a solid environment for data safety and integrity, reducing costs and wastes, improve employees' conditions and engagement by providing a less repetitive, more innovative and digital work environment.

With this knowledge in mind, a team of scientists and innovators lead by Dr. Mathias Pohl, started to develop and implement innovation projects at the IT department of Quality Services International in Bremen (Germany). CEO, business and lab managers, technicians and service providers alike, were encouraged to share their thoughts and ideas.

The demand in projects started to increase, reflecting the general need of such a service inside the Tentamus group. A diverse range of experts was employed to accommodate these growing demands and needs. Fruitful collaborations continued with the local lab experts.

Thus in 2021 TentaTINC, The Tentamus Technology and Innovation Center was born.

As all successful Innovation labs, TentaTINC consists of a team of experts in various fields including chemical engineering, computer and data science, material science, biology. Two projects' managers make sure that ideas are business-aligned and kept on track. Reflecting the international Tentamus network, TentaTINC team currently speaks 7 different languages.

Examples of TentaTINC know-how and projects include automatization and digitalization of workflows, data entry automation, computer system validation (CSV), artificial intelligence applied to microscopic image analysis, customized web interface and software for internal and external uses.

TentaTINC aims are to find digital solutions to routine problems, to consult you on new technology, to make your innovative projects happen, to strengthen the collaboration between the laboratories.

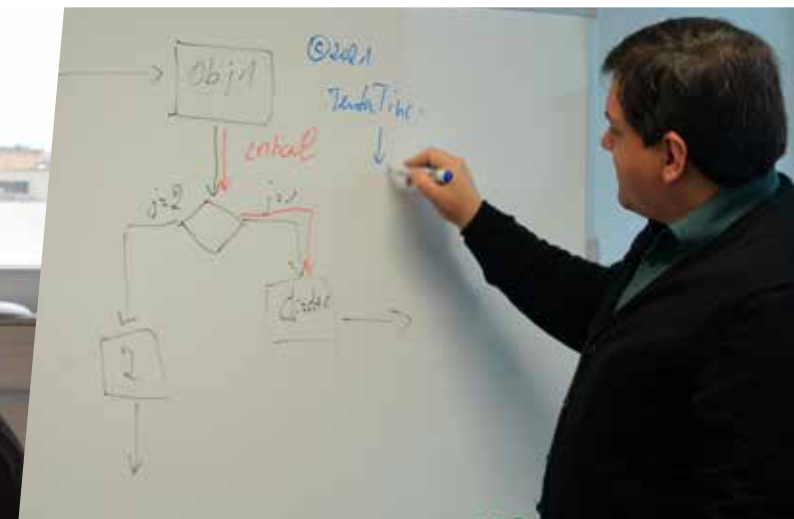


- **Year of foundation:** 2021
- **Service:** Innovation, Technology, Digitalization
- **Number of employees:** 8
- **Head and founder:** Dr. Mathias Pohl
- **Special service:** artificial intelligence, data science, project management, computer validation system, process digitalization and automation, chemical engineering, software development

Current TentaTINC lab partners:

- Adamson Analytical Laboratories, AromaLAB, Bilacon, Lifeprint, Quality Services International, Tentamus pharma and med Deutschland

Contact: mathias.pohl@tentamus.com



L'esperto RISPONDE

Ask the Expert



Cari Lettori, all'interno di questo spazio, abbiamo voluto racchiudere alcune, fra le tante, domande che ci avete inviato in questi mesi. Continuate a scrivere al vostro Laboratorio di riferimento; i nostri tecnici saranno a vostra disposizione per rispondere alle vostre domande. Le più frequenti e significative verranno riprese nel prossimo numero in uscita a giugno 2022.

Dear readers, in this column, we wanted to include some of the many questions you have sent us in the past few months. Please continue to send queries to your reference laboratory; our technicians will be at your disposal to answer your questions. The most frequent and important questions will be featured in the next issue coming out in June 2022.

Qual è la differenza tra prodotto fuori norma per superamento LMR e fuori norma per impiego non consentito?

I prodotti di origine italiana per poter essere definiti conformi devono rispettare due requisiti: conformità rispetto al limite di legge e conformità rispetto al campo di applicazione. Il limite di legge dei principi attivi sulle varie matrici è stato armonizzato con l'introduzione del Reg. (UE) 396/2005, quindi un principio attivo ha lo stesso limite di legge in tutti gli stati membri. Il campo di applicazione viene valutato in base all'autorizzazione all'immissione in commercio di un prodotto fitosanitario che viene rilasciato dal singolo Paese membro. In Italia, l'autorizzazione all'immissione in commercio viene rilasciata dal Ministero della Salute, a seguito della presentazione di dati dell'azienda produttrice. Sul territorio italiano è possibile utilizzare solo prodotti registrati dal Ministero della Salute Italiano. Questa informazione si trova sull'etichetta del prodotto commerciale. Es. tebuconazolo 0.138+/-0.069mg/kg su Limoni origine Sicilia. Limite di legge è 5mg/kg (Reg. UE n.1514/2018) ma non esistono prodotti registrati per il limone, quindi il prodotto è non conforme per violazione del campo di impiego.

• agriparadigma@agriparadigma.it •

What is the difference between a product which is non-compliant for exceeding the MRL and a product which is non-compliant for unauthorised use?

In order to be defined as compliant, products of Italian origin must comply with two requirements: compliance with the legal limit and compliance with the field of use. The legal limit of active ingredients in various matrices has been harmonised with the introduction of Regulation (EC) No 396/2005, so an active ingredient has the same legal limit in all EU member states. The field of use is assessed on the basis of the marketing authorisation of a plant protection product issued by an individual member country. In Italy, the marketing authorisation is issued by the Ministry of Health, following the submission of data from the manufacturer. On the Italian territory it is possible to use only products registered by the Italian Ministry of Health. This information can be found on the commercial product label. For instance, tebuconazole 0.138 +/- 0.069 mg/kg on Sicilian lemons. The legal limit is 5 mg/kg (Commission Regulation (EU) 2018/1514) but there are no registered products for lemon, so the product is non-compliant due to violation of the field of use.



DNA di controllo endogeno? Cos'è e perché si usa

Il DNA di controllo endogeno corrisponde ad un gene presente in tutti i campioni ad un livello di espressione consistente. Mediante la tecnica della Real-Time PCR viene quindi amplificata una sequenza di DNA che deve essere presente all'interno del campione e che rappresenta un controllo per verificare la bontà di estrazione del DNA. Sulla base dell'amplificazione di questo controllo, è quindi possibile determinare se il processo di estrazione del DNA dal prodotto, sottoposto all'analisi, è andato a buon fine (DNA presente) ed è amplificabile (DNA non degradato).

Si tratta quindi di un controllo di processo a tutela del dato finale che deve sempre essere presente e mostrare un segnale di amplificazione. Differentemente la seduta di analisi deve essere ripetuta.

Il DNA di controllo endogeno presente all'interno del campione, oggetto di analisi, deve soddisfare i criteri di accettabilità definiti per ciascuna matrice in sede di validazione.

• info@laemmegroup.it •

What is endogenous control DNA and why is it used?

Endogenous control DNA corresponds to a gene found in all samples at a consistent expression level. Using the Real-Time PCR technique, a DNA sequence is then amplified and must be present within the sample, representing a control to verify the quality of DNA extraction. Based on the amplification of this control, it is therefore possible to determine whether the DNA extraction process from the product subjected to analysis has been successful (DNA present) and is amplifiable (DNA not degraded).

It is indeed a process control to protect the final data which must always be present and show an amplification signal – otherwise the analysis session must be repeated.

During validation, the endogenous control DNA found within the analysed sample must meet the acceptability criteria defined for each matrix.



Cosa cambia nel regolamento europeo in materia di sicurezza alimentare con l'introduzione del Regolamento 2019/1381 entrato in vigore il 27 marzo 2021?

Il Regolamento EU 2019/1381, detto anche "Transparency Regulation", è la risposta dell'autorità europea preposta per la valutazione del rischio nella catena alimentare (EFSA) alla crescente domanda di trasparenza da parte di gruppi organizzati di cittadini nei confronti della sicurezza dei prodotti (principalmente chimici, ma non solo) immessi in commercio. Con questo Regolamento europeo viene revisionata la GFL (General Food Law) con l'introduzione del principio della "Trasparenza e Sostenibilità della valutazione del rischio nella catena alimentare", che si prefigge di garantire affidabilità, obiettività ed indipendenza degli studi usati dall'EFSA per la valutazione del rischio.

I dati provenienti dagli studi sottoposti all'EFSA sono resi pubblici fin dalla prima richiesta di registrazione da parte dell'industria, con la creazione di un database di pubblica consultazione. L'obbligo di pre-notifica impedisce che studi con risultato negativo possano essere nascosti e garantisce che siano inseriti nel dossier di valutazione.

Il database aperto alla pubblica consultazione aumenta la tempestività e l'efficacia della comunicazione tra i vari soggetti interessati.

I gruppi di esperti scientifici dell'EFSA saranno meglio organizzati e comprenderanno esperti nominati dagli Stati membri; ne conseguirà una maggiore indipendenza del processo decisionale.

• info@renolab-glp.com •

With the introduction of Regulation 2019/1381 which entered into force on 27th March 2021, what are the changes in the European regulation on food safety?

The EU Regulation 2019/1381, also known as the "Transparency Regulation", is the response of the European Food Safety Authority (EFSA) to the growing demand for transparency towards the safety of products – mainly but not limited to chemicals – placed on the market.

With this EU Regulation, the GFL (General Food Law) is revised with the introduction of the principle of "Transparency and Sustainability of risk assessment in the food chain", which aims to ensure the reliability, objectivity and independence of the studies used by the EFSA for risk assessment.

The data from the studies submitted to EFSA are made public from the first request for registration by the industry, with the creation of a database for public consultation.

The pre-notification obligation prevents studies with negative results from being hidden and ensures that they are included in the evaluation dossier. The database open to public consultation increases the communication's timeliness and effectiveness between the various stakeholders.

EFSA's Scientific Panels will be better organised and include experts nominated by Member States, resulting in greater independence of the decision-making process.



Come si distinguono gli aromi caratteristici di un vino dai difetti organolettici?

La complessità aromatica del vino è definita dal cosiddetto "bouquet", ovvero l'insieme dei profumi primari, secondari e terziari. I profumi primari sono quelli che provengono dall'uva e sono legati alla varietà del vitigno. Alcuni vitigni ne sono particolarmente ricchi (ad esempio il Moscato) dai quali si ottengono vini definiti propriamente "aromatici". I profumi secondari si formano invece nel corso della vinificazione, in particolare durante la fermentazione alcolica e malolattica operate rispettivamente dai lieviti e dai batteri lattici. Tra le note aromatiche più comuni vi sono i profumi di mela, banana e frutta esotica. I profumi terziari si formano durante la maturazione e l'affinamento dei vini, in seguito alla trasformazione dei profumi primari e secondari. Molti di questi aromi si trovano in forma legata (precursori di aroma) e necessitano di reazioni chimiche per liberare le molecole odorifere. I difetti organolettici, invece, possono avere diverse origini. Tra i più comuni si trovano:

- Il sentore Brett originato dal lievito B. bruxellensis;
- i sentori di tappo (Tricloroanisolo), originati da reazioni chimiche tra alcuni microrganismi fungini e sostanze clorurate utilizzate per la sbiancatura del sughero;
- l'ascenza originata dai batteri acetici;
- il sentore di terra e humus (Geosmina) nei vini contaminati da muffe;
- difetti vari originati da lieviti e batteri lattici.

Le strategie preventive consistono nella valutazione organolettica durante il processo produttivo e dal monitoraggio microbiologico e chimico (marcatori chimici).

• info@caimgroup.it •

How can a wine's characteristic aromas be distinguished from organoleptic defects?

The wine's aromatic complexity is defined by the so-called "bouquet", that is the set of primary, secondary and tertiary aromas. The primary aromas are those that come from grapes and are related to the vine's variety. Wines which are properly defined as "aromatic" are obtained from vines that are particularly aroma rich (for ex., Moscato). On the other hand, secondary aromas are formed during winemaking, in particular during alcoholic and malolactic fermentation carried out by yeasts and lactic bacteria. Among the most common aromatic notes are the aromas of apple, banana and exotic fruit. Tertiary aromas are formed during the aging and refinement of wines, following the transformation of primary and secondary aromas. Many of these aromas are found in bound form (aroma precursors) and require chemical reactions to release the odoriferous molecules. Conversely, organoleptic defects can have different origins. Among the most common are:

- The Brett scent originating from *Brettanomyces bruxellensis* yeast;
- The cork scent (Trichloroanisole) originating from chemical reactions between some fungal microorganisms and chlorinated substances used for whitening cork;
- The ascence originated by acetic bacteria;
- The scent of earth and humus (Geosmin) in wines contaminated by mould;

Various defects originating from yeasts and lactic bacteria.

Preventive strategies consist of organoleptic evaluation during the production process and microbiological and chemical monitoring (chemical markers).



I depuratori biologici rappresentano una potenziale fase di rischio da batteri patogeni per gli operatori che vi stazionano?

Depuratori biologici perfettamente funzionanti fungono normalmente da filtro naturale per i patogeni, in quanto la biomassa predominante non presenta caratteristiche di potenziale pericolo biologico per chi vi entrasse a contatto.

• info@mk.it •

Do biological purifiers pose a potential pathogens exposure risk for the staff working there?

Perfectly functioning biological purifiers normally act as a natural filter for pathogens because the predominant biomass does not present characteristics of potential biological hazard for those coming into contact with it.



T-word FOR YOU

MPN (Most Probable Number) indica un metodo di conteggio microbiologico di natura statistica. La tecnica si basa sull'inoculo, in più repliche, di una serie di diluizioni del campione in provette contenenti terreno liquido. Il risultato si estrapola da tabelle che riportano le diverse combinazioni di reazioni positive e negative (date per esempio da presenza o assenza di torbidità o di viraggio del colore).

MPN (Most Probable Number) is a statistical method used to estimate the concentration of viable microorganisms in a sample by means of replicate liquid broth growth in ten-fold dilutions. The result is obtained from tables showing different combinations of positive and negative reactions (for example, given by the presence or absence of turbidity, or colour change).

UFC (Unità Formante Colonia) è l'unità usata per stimare il numero di microrganismi vitali. Si assume che, a seguito di incubazione nelle opportune condizioni e su terreni di coltura idonei, ciascuna cellula microbica vitale inizialmente presente nel campione dia luogo a una colonia che presenta le dimensioni e le caratteristiche tali da poter essere visibile e riconoscibile.

CFU (Colony Forming Unit) is the unit used to estimate the number of viable microorganisms. It is assumed that following incubation under the appropriate conditions and on suitable culture media, each viable microbial cell initially present in the sample gives rise to a colony, which has such dimensions and characteristics as to be visible and recognisable.

MARCATORI CHIMICI: sono delle molecole la cui comparsa o variazione può indicare la presenza di fenomeni biologici di varia natura. Nel caso del vino, lo sviluppo dei fenoli volatili può indicare la contaminazione da parte del lievito *Brettanomyces bruxellensis*.

CHEMICAL MARKERS: they are molecules whose appearance or variation can indicate the presence of biological phenomena of various kinds. In the case of wine, the development of volatile phenols may indicate contamination by the *Brettanomyces bruxellensis* yeast.

D: è il tempo riduzione decimale di un microrganismo; il tempo necessario ad un certa temperatura affinché quell'organismo venga decimato, passando, ad esempio, da 100 UFC/g a 10 UFC/g o da 10 UFC/g a 1 UFC/g. Proprietà intrinseca di ogni microrganismo che tanto è maggiore tanto è termoresistente il microrganismo. I valori di D sono calcolati in laboratorio su culture batteriche pure, nelle condizioni più favorevoli alla loro sopravvivenza e partendo da cariche iniziali molto superiori alla realtà.

D = decimal reduction time of a microorganism: the time required for an organism to be decimated at a certain temperature (e.g. going from 100 CFU/g to 10 CFU/g or from 10 CFU/g to 1 CFU/g). That is the intrinsic property of every microorganism that the greater it is, the more heat resistant the microorganism is. The values of D are calculated in the laboratory on pure bacterial cultures, in the most favourable conditions for their survival and starting from initial charges much higher than reality.

Z: è la costante resistenza termica di un microrganismo, anch'essa tipica di ogni specie e che indica il variare delle riduzioni decimali di D alle varie temperature. È il "Delta" di temperatura che fa variare di 10 volte il valore di D.
Z: Constant thermal resistance of a microorganism: this is

also typical of each species. It indicates the variation of the decimal reductions of D at various temperatures. It is the temperature "Delta" that changes the value of D by 10 times.

T~magazine

2° semestre 2021 / Numero 6 - Tentamus Italia

Credits

Progetto: Tentamus Italia

Coordinamento editoriale: Giuseppe Calvi di Coenzo

Copyediting: Redazione e Laboratori Tentamus Italia

Grafic design e stampa: Tipografia Commerciale Ravenna

Traduzioni: Francesca Mura

È vietata la riproduzione anche parziale di questo catalogo.

Reproduction of any part of this catalogue is not allowed.



Tentamus Locations Network 2021: Service Excellence Worldwide



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





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



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)



Renolab S.r.l.

Sede legale e operativa:

Via XXV Aprile 19 - 40016 San Giorgio di Piano (BO)



A Tentamus Company

Caim S.r.l.

Sede legale e operativa:

Via Del Turismo, 196 - 58020 Follonica (GR)



A Tentamus Company

MK S.r.l.

Sede legale e operativa:

Via Giuseppe Antonucci, 2 - 06012 Città di Castello (PG)