

T~magazine

1° semestre 2020 / Numero 3 - Tentamus Italia



- 1** Comunicato ufficiale del Gruppo Tentamus
Official Statement Tentamus Group
- 2** Covid-19 su tamponi di superficie: dall'emergenza sanitaria all'analisi in laboratorio
Covid-19 on surface swabs: from public health emergency to laboratory analysis
- 3** Applicazione dell'incertezza di misura nell'analisi dei residui di prodotti fitosanitari
Application of measurement uncertainty in the analysis of residues from plant protection products
- 4** Biostimolanti in agricoltura: la nuova normativa europea e il Comitato Tecnico CEN/TC 455 (Plant Biostimulants)
Biostimulants in agriculture: the new European legislation and the Technical Committee CEN/TC 455 (Plant Biostimulants)
- 5** Il paradosso del clorato
The Chlorate Conundrum
- 6** La comunicazione social ai tempi del Covid-19: peculiarità, rischi e approccio del Gruppo
Communication via social media at the time of Coronavirus: peculiarities, risks and our Group's approach
- 7** L'esperto risponde
Ask the Expert

“Non è la più forte delle specie che sopravvive, né la più intelligente, ma quella più reattiva ai cambiamenti”.

“It is not the strongest of the species that survives, nor the most intelligent that survives. It is the one that is most adaptable to change”.

(C. Darwin)

Passano gli anni, passano gli eventi epocali che cambiano il mondo e la storia si ripete: il caro vecchio Charles ha sempre ragione.

Siamo stati sorpresi da un nemico invisibile, silenzioso, a tratti subdolo.

Ci ha colpito, frastornato e fatto male.

Adesso ci sta imponendo una condizione che, specialmente per noi Italiani, fino a pochi mesi fa, non avremmo considerato plausibile nemmeno con il nostro barista di fiducia: il distanziamento sociale!

Noi che siamo il popolo della stretta di mano, dell'abbraccio e dei due baci per salutare anche chi conosciamo da 1 settimana.

Improvvisamente è cambiato tutto. Dobbiamo modificare ogni gesto della nostra quotidianità, ogni abitudine, professionale e personale, deve adeguarsi alle nuove regole.

Ma siamo forti, Noi siamo e vogliamo essere la specie di cui parla Darwin.

Ci stiamo tutti adoperando per tornare a lavorare, andare a fare la spesa e incontrare gli amici in sicurezza, nel rispetto della salute nostra e altrui.

Forse, troveremo un modo diverso per congratularci dopo un contratto, per salutarci quando ci si incontra al bar o sul lavoro o quando ci si rivedrà, magari dopo un lungo viaggio.

La mascherina protettiva, sicuramente però, ci insegnerà a sorridere solo con gli occhi.

Stay safe, Stay healthy

Nicola Berruti

Country Manager Tentamus Italia

The years go by, as well as the significant events that change the world, and history repeats itself: dear old Charles is always right.

We were caught unprepared by an invisible, silent, at times subtle enemy.

It hit us, hurt us and made us dazed.

It is now imposing a condition that, especially for us Italians, we would not have considered plausible even with our trusted barista until a few months ago: social distancing!

For us, we are the people of the handshake, the hug and two kisses even when we greet those we have known for only a week.

Suddenly, everything has changed. We have to change every gesture of our daily lives, every professional and personal habit must adapt to the new rules.

But we are strong. We are and we want to be the species Darwin talks about.

We are all endeavouring to go back to work, go shopping and meet friends in safety, respecting our health and the health of others.

Perhaps, we will find a different way to congratulate each other after signing a contract, to greet each other when we meet at the bar or at work, or when we meet again after a long journey.

The protective mask, however, will certainly teach us to smile with our eyes.

Stay safe, Stay healthy

Comunicato ufficiale del Gruppo Tentamus

La pandemia COVID-19 è una situazione nuova per tutti noi e stiamo cercando di affrontarla nel miglior modo possibile, per contenere il virus e proteggere i nostri simili. Durante questa pandemia i nostri laboratori in tutto il mondo sono rimasti aperti come attività essenziali, intensificando i protocolli di sicurezza attraverso l'impiego di diverse misure.

Abbiamo implementato piani d'azione concreti all'interno dei nostri laboratori, i quali garantiscono maggiori misure di igiene e sicurezza. Queste misure prevedono la modalità smart working, ossia lavorare in remoto da casa, l'organizzazione di turni divisi per gli addetti di laboratorio, una disinfezione regolare delle mani e l'utilizzo di mascherine e guanti protettivi durante la manipolazione dei campioni.

Per fare la nostra parte nel ridurre la diffusione del virus, il contatto tra colleghi, fornitori, visitatori e clienti è stato limitato al minimo. Inoltre, in ogni laboratorio del nostro Gruppo viene mantenuta la distanza sociale di sicurezza.

Il nostro motto *"Thinking Global, Acting Local"* è ora più attuale che mai: questa crisi globale ha rafforzato ancora di più la determinazione e l'impegno di ogni laboratorio nel supportare le aziende locali.

Abbiamo voluto dimostrare questa determinazione adattando i nostri metodi di analisi a questi tempi, con l'introduzione di un nuovo servizio per il test SARS-CoV-2 su tamponi di superficie, beni di consumo e dispositivi medici. Questo servizio aiuta a tenere traccia della diffusione del virus all'interno di un'azienda al fine di evitare contagi da contatto.

Le mascherine sterili e sicure sono attualmente di massima importanza: devono soddisfare diversi requisiti quali efficacia di filtrazione batterica, traspirabilità e resistenza agli schizzi.

Devono inoltre essere prive di contaminanti microbici come batteri e lieviti.

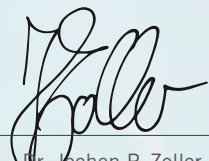
Vorremmo, quindi, contribuire a una maggiore sicurezza offrendo diversi servizi di test per mascherine e dispositivi medici.

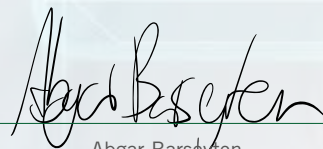
Il Gruppo Tentamus ha dato prova di essere un Gruppo dinamico, in grado di adattarsi velocemente al cambiamento, trovando soluzioni efficaci e ottimali con tempi di risposta sempre più rapidi. Questi servizi sono resi possibili grazie al pronto impegno collettivo da parte di tutti i team di laboratorio all'interno del Gruppo Tentamus.

Continueremo a proiettarci verso il futuro mantenendo lo stesso spirito di adattamento, il quale ci permette, come sempre, di garantire standard elevati ai nostri clienti.

Vi auguriamo il meglio durante questo periodo.

Stay healthy!


Mr. Jochen P. Zoller
CEO e fondatore


Abgar Barsbyten
CEO e fondatore

 **Tentamus®**
Labs for Life

Official Statement Tentamus Group

The Corona pandemic is a new situation for all of us and we are trying to deal with it in the best possible way to contain the virus and protect our fellow human beings. Our laboratories worldwide have remained open as essential businesses during this pandemic, with our laboratories stepping up their safety protocols by taking several measures.

We have implemented thorough action plans within our laboratories, which ensure increased hygiene and safety measures. These measures include having our workers work from home when possible, lab workers working in split shifts, performing regular disinfection of hands, and wearing protective gloves and masks when handling samples.

In order to do our part in reducing the spread of the virus, contact between colleagues, suppliers, visitors, and customers has been limited to minimum levels. Also, social distancing is practised within every laboratory in our group.

Our motto *"Thinking Global, Acting Local"* is now more relevant than ever. The determination each laboratory has to support local companies has been strengthened by the crisis.

To showcase this determination, we have adapted our analysis methods to these times, with analyses being offered intended to test surfaces, consumer goods and medical devices for Coronavirus. This helps track the spread of the virus through a company in order to avoid smear infections.

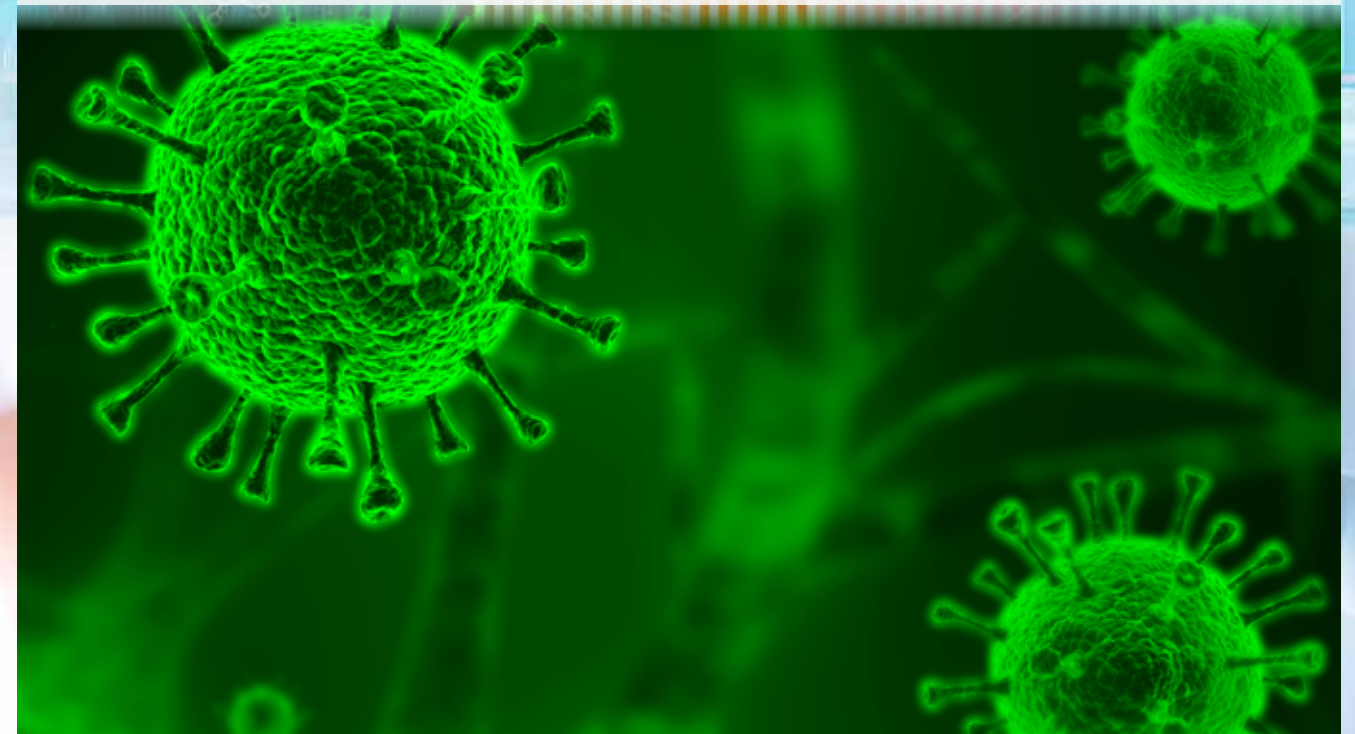
Also, masks that are sterile and safe are now of utmost importance. Masks must meet several requirements, such as bacterial filtration efficacy, breathability, and splash resistance. They must also be free from microbial contaminants such as bacteria and yeast. We would like to contribute to increased safety by offering various testing services for masks and medical devices.

The Tentamus Group has proven to be a dynamic Group, capable of adapting quickly to change, finding effective and optimal solutions with ever faster response times. These services are made available by the quick team efforts of all laboratories within the Tentamus Group.

We will continue to adapt going into the future in order to offer our customers high standards as always.

We wish you the best throughout the upcoming period.

Stay healthy!



Covid-19 su tamponi di superficie: dall'emergenza sanitaria all'analisi in laboratorio

di Valeria R. Giancotti, Responsabile Tecnico di Laemmegroup
e Federica Roman, Referente Biologia Molecolare di Laemmegroup

Come società di servizi per il settore food, Laemmegroup ha potuto continuare la propria attività durante tutto il periodo di lock down imposto sul territorio nazionale. Restare aperti e al servizio dei propri clienti è stato un dovere nei confronti della filiera che rappresentiamo, per garantire il mantenimento degli standard di sicurezza alimentare e qualitativi dei prodotti immessi sul mercato, requisiti ancor più fondamentali in un momento di crisi sanitaria globale.

I servizi analitici sono stati implementati accreditando nuove metodiche ed inserendo nuovi test tra cui spicca quello per la ricerca del virus SARS-CoV-2 su tamponi di superficie. **Il test è destinato a tutte le aziende che vogliono conoscere come il virus è potenzialmente distribuito, analizzando anche superfici particolarmente critiche e di utilizzo comune e fornendo esiti oggettivi per poter fare corrette valutazioni (anche rispetto alle sanificazioni e le procedure intraprese).**

Il Virus SARS-CoV-2, acronimo di *Severe Acute Respiratory Syndrome - Coronavirus - 2*, è un ceppo virale della specie SARS-related Coronavirus facente parte del genere Betacoronavirus (famiglia Coronaviridae) scoperto intorno alla fine del 2019. Si tratta del settimo Coronavirus riconosciuto in grado di causare infezioni virali dell'apparato respiratorio e di essere altamente contagioso per gli esseri umani con differente spettro sintomatico.

Il nome COVID-19, acronimo di *CoronaVirus Disease-2019*, è il nome ufficiale dato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità alla sindrome causata dal virus. Il nuovo virus è stato identificato il 07/01/2020 e la sequenza nucleotidica, resa disponibile in pochissimi giorni, ha mostrato un'identità genetica di circa l'80% con quella del SARS-CoV-1, da cui il nome SARS-CoV-2, come evidenziato dall'analisi filogenetica oramai nota (*EcoHealth Alliance's phylogenetic analysis shows that a novel coronavirus newly spilled over into humans in China is closely related to SARS CoV* (Photo: EcoHealth Alliance) - <https://www.ecohealthalliance.org/2020/01/phylogenetic-analysis-shows-novel-wuhan-coronavirus-clusters-with-sars>).

La malattia da coronavirus si diffonde principalmente per trasmissione interumana tramite contatto diretto delle goccioline di saliva (*droplets*) emesse da una persona infetta che tossisce o starnutisce. Si diffonde anche in modo indiretto quando una persona si tocca occhi, naso o bocca dopo aver toccato una superficie o un oggetto su cui è presente il virus. Da un punto di vista tecnico, il virus, al microscopio elettronico, si presenta con una forma sferoidale di diametro di circa 100-160 nanometri. Al rivestimento lipidico sono ancorate le glicoproteine di superficie del virus che conferiscono alla particella virale una caratteristica forma a corona, da cui il nome Coronavirus (Fig. 1). Il genoma

è costituito da RNA a singola catena a polarità positiva di circa 30 kb.

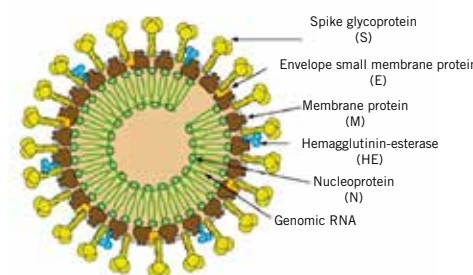


Fig. 1 - Struttura del virione di un Coronavirus. From Biowiki (<http://ruleof6ix.fieldofscience.com/2012/09/a-new-coronavirus-should-you-care.html>). (Mousavizadeh L, Ghasemi S, Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>)

I protocolli di diagnosi per SARS-CoV-2 sono indicati sul sito dell'OMS e si basano sulla metodica di Real Time RT-PCR. Uno dei primi test RT-PCR è presente in un protocollo sviluppato dall'Ospedale Universitario della Charité a Berlino nel Gennaio 2020 e pubblicato sulla rivista *EuroSurveillance* basato su un primo test di screening sul gene target E (*Envelope protein gene*) e su un test confirmatorio sugli altri 2 geni target RdRP (*RNA-dependent RNA polymerase gene*) o N (*Nucleocapsid protein gene*) (Fig. 2). Esiste un altro protocollo indicato dall'OMS sviluppato dal CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) USA basato sull'amplificazione del gene N maggiormente espresso durante la replicazione virale della cellula.

La tecnica impiegata dal Laboratorio è la **Real-Time PCR** che utilizza le sequenze indicate dalla OMS per rilevare la presenza del virus SARS-CoV-2. **Il kit utilizzato dal Laboratorio, costruito sulla base del protocollo sviluppato da Charité di Berlino, va ad amplificare il gene RdRP, a partire da estratti di RNA ottenuti da tamponi ambientali.** A causa della variabilità dei campioni oggetto di analisi, è necessario poter garantire l'inibizione della PCR, la resa di estrazione in ogni sessione sperimentale ed escludere risultati falsi negativi tramite uno specifico controllo di processo artificiale resistente alla nucleasi. Il kit contiene una oligo mix 2-plex utilizzabile sulla quasi totali-

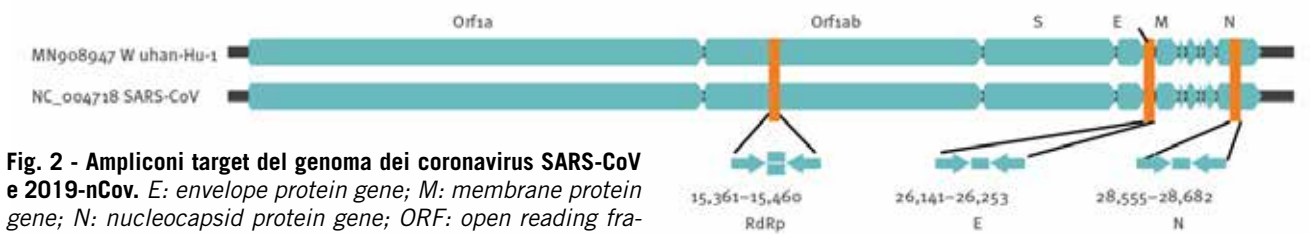


Fig. 2 - Ampliconi target del genoma dei coronavirus SARS-CoV e 2019-nCoV. E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene. (Corman Victor M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>)

tà degli strumenti Real-Time PCR presenti sul mercato, abbinate ad una mix one-step RTqPCR di alta qualità. Nella miscela di reazione sono presenti due fluorofori: FAM per la rilevazione di 2019-nCoV e HEX per la rilevazione del controllo di processo. Il kit consente di evidenziare la presenza di virioni in superfici e fomite che a sua volta possono favorire la trasmissione del virus da persona a persona.

Il campionamento della superficie deve essere condotto con apposito kit, seguendo scrupolosamente tutte le fasi ben dettagliate presenti all'interno delle istruzioni di campionamento fornite dal laboratorio.

In laboratorio si preleva un'aliquota del liquido in cui è immerso il campione, si aggiunge il controllo di processo artificiale e il buffer di lisi. Il lisato viene poi trasferito su delle colonnine specifiche e vengono eseguiti due lavaggi di purificazione. L'RNA estratto, così eluito, viene utilizzato per la reazione PCR. L'amplificazione Real-Time PCR si suddivide così in due fasi: la prima fase di retro-trascrizione in cui l'RNA viene trasformato in cDNA e la successiva fase di amplificazione del cDNA. L'analisi è qualitativa e il limite di determinazione (LOD) della metodica è di 3.8 unità genomiche.

Nelle figure sottostanti sono riportati due esempi di ipotetici campioni (positivo e negativo) e dei relativi controlli di amplificazione. Il primo grafico (Fig. 3) riporta il profilo di amplificazione derivante dal segnale di amplificazione del gene RdRP (canale FAM), in cui vi è

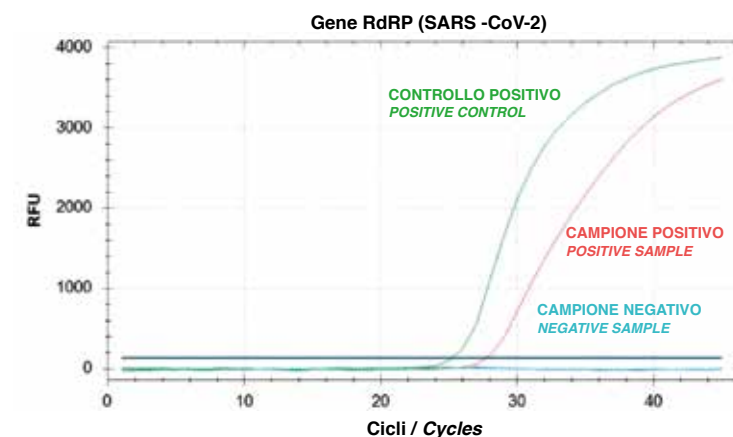


Fig. 3 - Profilo di amplificazione del gene RdRP (SARS-CoV-2), canale HEX. Il grafico riporta il profilo di amplificazione derivante da una seduta Real-Time PCR. In verde è raffigurato il segnale del controllo positivo presente all'interno della seduta, in rosso il segnale di un ipotetico campione positivo e in azzurro è raffigurata l'assenza di segnale di un campione quindi negativo.

una curva di amplificazione per il campione individuato come positivo, a differenza del campione individuato come negativo per il quale non vi è segnale di amplificazione. Nel secondo grafico, invece (Fig. 4) viene riportato il segnale di amplificazione del controllo di processo (canale HEX), il quale deve sempre mostrare amplificazione in quanto indicatore di una buona resa in termini di estrazione dell'RNA da tampone.

Le attività scientifiche sul COVID-19 sono in continua evoluzione. L'aria e l'acqua, per il momento, risultano

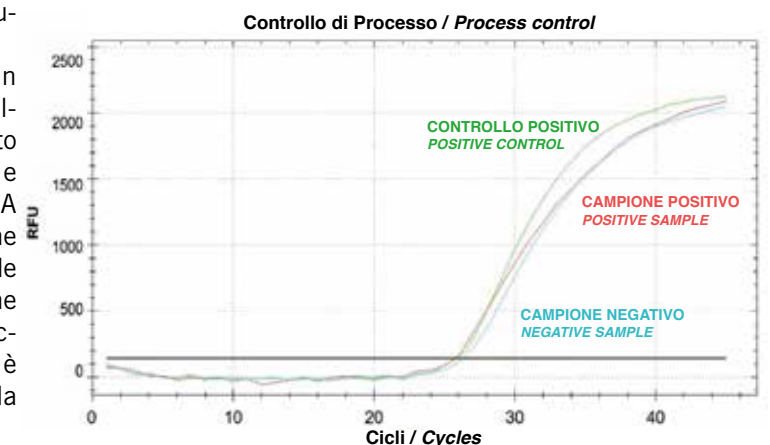


Fig. 4 - Profilo di amplificazione del controllo di processo, canale HEX. Il grafico riporta il profilo di amplificazione derivante da una seduta Real-Time PCR. In verde è raffigurato il segnale di amplificazione del controllo di processo del controllo positivo presente all'interno della seduta, in rosso il segnale di un ipotetico campione positivo e in azzurro il segnale di un ipotetico campione negativo.

essere matrici di particolare interesse riguardo la sua diffusione. Secondo un Gruppo di lavoro creato tra i ricercatori SIMA (Società Italiana di Medici Ambientale) ed i ricercatori di Atenei nazionali ed internazionali è emersa la correlazione tra il COVID-19 ed il particolato atmosferico (Setti, L.; Passarini, F.; De Gennaro, G.; Barbieri, P.; Pallavicini, A.; Ruscio, M.; Piscitelli, P.; Colao, A.; Miani, A. *Searching for SARS-COV-2 on Particulate Matter: A Possible Early Indicator of COVID-19 Epidemic Recurrence. Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 2986). L'individuazione del virus sulle polveri potrebbe costituire un buon marker per verificare la diffusione del virus anche negli ambienti indoor. È in corso uno studio da parte del Laboratorio per capire la fattibilità di determinazione del SARS-CoV-2 anche su matrici aria e acqua.

Covid-19 on surface swabs: from public health emergency to laboratory analysis

by Valeria R. Giancotti, Technical Manager at Laemmegroup
and Federica Roman, Molecular Biology manager at Laemmegroup



As a service company for the food sector, Laemmegroup was able to continue its activity throughout the lockdown period imposed on the entire Italian territory. Staying open and being available to our customers was a duty towards the supply chain that we represent, making sure that food safety and quality standards of the products placed on the market were met. These requirements were even more crucial during this global health crisis.

The analytical services were implemented by accrediting new methods and introducing new tests, among which, the one for SARS-CoV-2 virus detection on surface swabs stands out. The test is intended for all companies wanting to know how the virus is potentially distributed by analysing surfaces such as those particularly critical and/or commonly used. The test provides objective results in order to make the right assessments, also with respect to the undertaken sanitisations and procedures.

SARS-CoV-2 (acronym for Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) is a viral strain of the SARS-related Coronavirus species belonging to the Betacoronavirus genus (Coronaviridae family) discovered around the end of 2019. It is the seventh Coronavirus recognised as capable of causing viral infections of the respiratory system and as being highly contagious for humans, also with a wide symptomatic spectrum. The name COVID-19, an acronym for CoronaVirus Disease-2019, is the official name given by the World Health Organization to the syndrome caused by the virus. The new virus was identified on 7th January 2020 and the nucleotide sequence, made available in a few days, showed a genetic identity of approximately 80% with that of SARS-CoV-1, hence the name SARS-CoV-2, as evidenced by the now known phylogenetic analysis (EcoHealth Alliance's phylogenetic

analysis shows that a novel coronavirus newly spilled over into humans in China is closely related to SARS CoV (Photo: EcoHealth Alliance) - <https://www.ecohealthalliance.org/2020/01/phylogenetic-analysis-shows-novel-wuhan-coronavirus-clusters-with-sars>). The Coronavirus disease mainly spreads by human-to-human transmission through contact with droplets from an infected person coughing or sneezing. It also spreads indirectly by touching objects or surfaces that have droplets on them from an infected person, and then touching your mouth or face.

Under the electron microscope, from a technical point of view, the virus has a spheroidal shape with a diameter of about 100-160 nanometres. The surface glycoproteins of the virus are anchored to the lipid coating, giving the viral particle a characteristic crown shape, hence the name Coronavirus (Fig. 1). The Coronavirus genome is composed of a positive-sense, single-stranded RNA of about 30 kb.

Fig. 1 - Coronavirus virion structure. From Biowiki (<http://ruleof6ix.fieldofscience.com/2012/09/a-new-coronavirus-should-you-care.html>). (Mousavizadeh L, Ghahsemi S, Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>)

The diagnostic protocols for SARS-CoV-2 can be found in the WHO website and are based on the real time RT-PCR method. One of the first RT-PCR tests has been included in a protocol developed by the Berlin University Hospital Charité in January 2020, and published in the EuroSurveillance magazine based on a first screening test on the target gene E (Envelope protein gene) and on a confirmatory test on the other 2 target genes RdRP (RNA-dependent RNA polymerase) or N (Nucleocapsid protein) (Fig. 2). The WHO also published another protocol which was developed by the US CDC (Centers for Disease Control and Prevention) based on the amplification of the N gene most expressed during a whole-cell viral replication.

Fig. 2 - Target amplicons of the SARS-CoV and 2019-nCoV coronavirus genome. E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene. (Corman Victor M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>)



The technique used by the laboratory is the Real-time PCR, which applies the sequences indicated by WHO to detect the presence of SARS-CoV-2 virus. Built on the basis of the protocol developed by the Berlin University Hospital Charité, the kit used by the laboratory amplifies the RdRP gene, starting from RNA extracts obtained from environmental swab samples. Due to the variability of the samples being analysed, it is necessary to be able to guarantee PCR inhibition, determine extraction yield in each experimental session and exclude false negative results through a specific nuclease-resistant artificial process control. The kit contains a 2-plex oligo mix that can be used on almost all Real-time PCR tools on the market, combined with a high quality one-step RTqPCR mix. There are two fluorophores in the reaction mixture: FAM, for the detection of 2019-nCoV; and HEX, for the detection of the process control. The kit allows to identify the presence of virions on surfaces and of fomites, which can promote human-to-human transmission of the virus.

The sampling of the surface must be carried out with a special kit, scrupulously following all the well-detailed phases within the sampling instructions provided by the laboratory. In the laboratory, the sample is immersed in a liquid from which an aliquot is taken, then the artificial process control and the lysis buffer are added. The lysate is then transferred onto specific columns and two purification washes are performed. The extracted RNA thus eluted is used for the PCR reaction.

The Real-time PCR amplification is therefore divided into two phases: the first retro-transcription phase in which the RNA is transformed into cDNA and the subsequent amplification phase of the cDNA. The analysis is qualitative and the method's limit of detection (LOD) is 3.8 genomic units.

The figures below show two examples of hypothetical samples (a positive and a negative one) and the relative amplification controls. The first graph (Fig. 2) shows the amplification profile deriving from the amplification signal of the RdRP gene (FAM channel), in which there is an amplification curve for the sample identified as positive and no amplification signal for the sample identified as negative. The second graph (Fig. 3) illustrates the amplification signal of the process control (HEX channel), which should always show amplification as an indicator of a good yield in terms of RNA extraction from swab samples.

Fig. 3 - Amplification profile of RdRP (SARS-CoV-2) gene, HEX channel. The graph shows the amplification profile deriving from a Real-time PCR session. The positive control signal present within the session is indicated in green, the signal of a hypothetical positive sample is indicated red and the absence of signal of a negative sample is indicated in blue.

Fig. 4 - Amplification profile of process control, HEX channel. The graph shows the amplification profile deriving from a Real-time PCR session. The amplification signal of the process control is indicated in green, the signal of a hypothetical positive sample is indicated red and the signal of a hypothetical negative sample is indicated in blue.

Scientific activities on COVID-19 are constantly evolving. For now, air and water are matrices of particular interest in regards to its diffusion. According to a working group formed by SIMA (Società Italiana di Medicina Ambientale - Italian Society of Environmental Medicine) researchers and researchers from national and international universities, there is a newly discovered correlation between COVID-19 and atmospheric particulate matter (Setti, L.; Passarini, F.; De Gennaro, G.; Barbieri, P.; Pallavicini, A.; Ruscio, M.; Piscitelli, P.; Colao, A.; Miani, A. Searching for SARS-COV-2 on Particulate Matter: A Possible Early Indicator of COVID-19 Epidemic Recurrence. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 2986). The detection of the virus on dust could be a good marker to verify the spread of the virus even in indoor environments. The laboratory is currently working on a study to understand if SARS-CoV-2 can also be detected in air and water matrices.



Applicazione dell'incertezza di misura nell'analisi dei residui di prodotti fitosanitari

di Paolo Pucci, Sales Area Manager di Tentamus Agriparadigma

Un prodotto fitosanitario è utilizzato per proteggere e conservare i vegetali (e i prodotti vegetali) o influirne sui processi vitali (crescita, ecc.), la protezione è intesa da tutti gli organismi nocivi anche prevenendone gli effetti. I prodotti fitosanitari sono definiti come preparati formati da miscele o soluzioni composte di due o più sostanze, le sostanze possono essere classificate in: sostanze attive, antidoti agronomici, sinergizzanti e coadiuvanti.

La sostanza attiva (detta anche principio attivo) è un composto chimico o un microrganismo, che esercita un'azione (generale o specifica) contro gli organismi nocivi, un metabolita è invece il prodotto (intermedio o finale) del processo di degradazione, la molecola una volta trasformata assume il nome di metabolita.

La maggior parte delle sostanze attive dei prodotti fitosanitari sono considerate nocive alla salute dell'uomo per cui sono state emanate delle norme per minimizzare l'esposizione del consumatore a quantità dannose di pesticidi.

La normativa che fissa i relativi LMR applicabile a tutti i prodotti alimentari è la seguente:

- Regolamento (CE) n. 396 del 2005 (LMR) e successivi aggiornamenti e modifiche *concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale*

L'articolo 18 del Regolamento 396/2005 indica che *a partire dal momento in cui sono immessi sul mercato come alimenti o mangime o somministrati ad animali, i prodotti di cui all'allegato I* (Prodotti di origine vegetale e animale ... ai quali si applicano gli LMR) *non devono contenere alcun residuo di antiparassitari il cui tenore superi:*

- a) gli **LMR** stabiliti per tali prodotti negli allegati II e III;
- b) 0,01 mg/kg per i prodotti per i quali non siano stati fissati LMR specifici negli allegati II o III, o per le sostanze attive non elencate nell'allegato IV.

Gli allegati II e III del Regolamento 396/2005 fissano per ogni combinazione principio attivo/coltura un valore numerico specifico indicato come LMR, il superamento di tale valore non permette al prodotto di essere commercializzato. L'allegato IV riporta invece l'elenco delle sostanze attive dei prodotti fitosanitari

per le quali non sono necessari LMR.

Per quanto riguarda i prodotti derivanti da agricoltura biologica la normativa di riferimento è il Regolamento (CE) n. 834/2007 (aggiornato dal nuovo Regolamento (UE) 2018/848 in vigore dal 1 Gennaio 2021) integrato dal Decreto 13 Gennaio 2011 *Contaminazioni accidentali e tecnicamente inevitabili di prodotti fitosanitari in agricoltura biologica*.

L'allegato del Decreto indica che è opportuno considerare **0,01 mg/kg** quale limite inferiore, inteso come «soglia numerica» al di sopra della quale non è concedibile la certificazione di prodotto biologico

La verifica della conformità del prodotto deve quindi essere eseguita confrontando il valore numerico dell'analisi con il valore numerico - LMR - della combinazione principio attivo/coltura, o con limite indicato dal Decreto 13 Gennaio 2011 oppure con valori di capitolato.

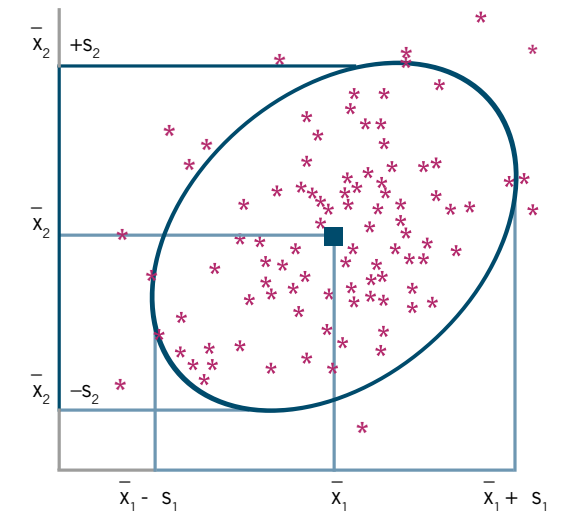
Le linee guida SANTE/12682/2019 - *Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed* - raccomandano alle autorità di vigilanza l'impiego dell'incertezza al fine della verifica della conformità dei residui di antiparassitari in un prodotto alimentare, tale valore è stato fissato uguale al 50% del valore analitico riscontrato e copre anche la variabilità inter-laboratorio fra i laboratori europei.

Requisito fondamentale per applicare tale valore è che l'incertezza estesa calcolata dal laboratorio sia inferiore al 50%, nel caso contrario viene indicato nel rapporto di prova l'incertezza estesa reale calcolata.

Anche il documento Accredia RT 16 nella revisione 5 - Prescrizioni per l'accreditamento degli Organismi che rilasciano dichiarazioni di conformità di processi e prodotti agricoli e derrate alimentari biologici ai sensi del Regolamento CE n. 834/2007 e sue successive integrazioni e modifiche - fa riferimento alle linee guida indicando che nel caso della determinazione di residui

dei pesticidi in alimenti e mangimi, il CAB applica al fine della valutazione della conformità del campione i criteri definiti dalle linee guida SANTE/11813/2017 (l'aggiornamento del documento SANTE 2019 è successivo all'uscita della revisione 5 del documento RT 16).

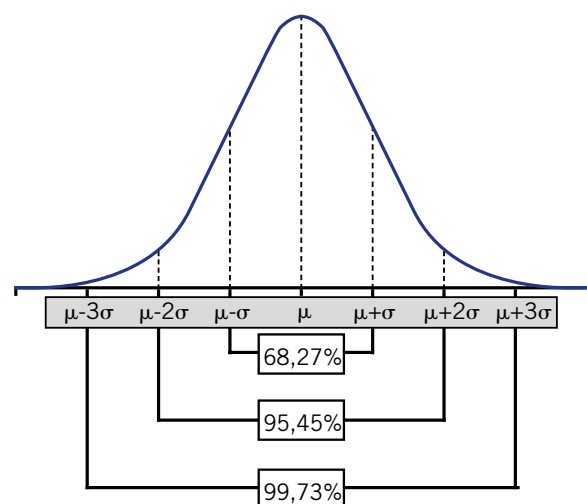
L'incertezza è definita dal V.I.M. (Vocabolario Internazionale di Metrologia) come un parametro associato con il risultato di una misura che caratterizza la dispersione del valore che ragionevolmente può essere attribuito al misurando.



Il concetto di incertezza è stato introdotto perché qualsiasi misura venga effettuata non sarà mai possibile conoscere il valore vero, però considerando la distribuzione del misurando è possibile esprimere un intervallo di confidenza costruito intorno al risultato della misurazione in cui il valore vero ha una certa probabilità di essere contenuto all'interno.



Nel caso specifico dell'analisi dei residui di fitofarmaci l'andamento della dispersione dei dati è di tipo gaussiano:



Possiamo quindi considerare diversi intervalli in funzione della probabilità che il valore vero sia all'interno dell'intervallo, maggiore è l'ampiezza dell'area e maggiore è la probabilità che il valore vero sia all'interno dell'intervallo, la probabilità del 100% si ottiene solo nel caso in cui sia considerato l'intervallo $-\infty$; $+\infty$.

I principali intervalli considerati sono i seguenti:

- $X \pm 1 \sigma = 68,27$ % probabilità
- $X \pm 2 \sigma = 95,45$ % probabilità
- $X \pm 3 \sigma = 99,73$ % probabilità

I risultati di una misurazione devono essere sempre accompagnati dalla valutazione della loro incertezza, in particolare quando questa può influire sulla conformità alla normativa vigente di un residuo di prodotto fitosanitario.

Come riportato nel diagramma seguente i contributi all'incertezza di una misura sono solitamente numerosi.

Il calcolo dell'incertezza prende in considerazione tutti i possibili contributi, questi possono essere classificati in categoria A (grandezza che può essere valutata direttamente dal laboratorio attraverso la ripetizione di un processo di misurazione) e categoria B (valutazioni di incertezza effettuate in modo diverso da quello basato su serie di osservazioni ripetute). Dopo aver determinato il contributo di ogni singola operazione si determina l'incertezza composta ottenuta combinando tutte le componenti dell'incertezza mediante la legge di propagazione (radice quadrata positiva della varianza totale). Sebbene l'incertezza composta sia sufficiente per caratterizzare una misurazione, si preferisce comunque definire un intervallo più ampio per avere una maggiore sicurezza nei valori che ragionevolmente possono essere attribuiti al misurando.

Tale intervallo è denominato incertezza estesa e si ottiene moltiplicando l'incertezza tipo composta per un fattore di copertura k . Per definire il valore numerico del fattore k da applicare, occorre fissare il livello di probabilità (p) che si desidera considerare (di solito $p = 95\%$ ovvero il 95% della probabilità che il valore vero stia all'interno dell'intervallo considerato).

Il documento di riferimento Accredia DT-002 - Guida per la valutazione e la espressione dell'incertezza nelle misurazioni - riporta che *L'espressione dell'incertezza del misurando, da riportare nel rapporto di prova, deve rendere immediatamente e univocamente interpretabili i risultati della misurazione*, questo vale particolarmente quando il valore del risultato analitico è vicino al LMR. Per questo motivo viene fatto obbligo di indicare nei rapporti di prova l'incertezza nella stessa unità di misura del risultato analitico, il fattore di copertura utilizzato, il corrispondente livello di probabilità e il numero dei gradi di libertà effettivi. Tutti questi parametri permettono anche di confrontare in maniera omogenea risultati provenienti da laboratori diversi.

Definito LMR il Limite Massimo di Residuo, X il valore

analitico ed U il valore di incertezza estesa definito dalle linee guida SANTE/12682/2019 (ovvero 50% del valore X), le possibili combinazioni del risultato analitico corretto per l'incertezza ed il relativo LMR possono essere di seguito schematizzate (Vedi tabella articolo in lingua inglese):

- $X - U > \text{LMR}$
prodotto non conforme
- $X + U < \text{LMR}$
prodotto conforme
- $X + U = \text{LMR}$
prodotto conforme
- $X - U = \text{LMR}$
prodotto conforme - linea guida SANTE
- $X + U > \text{LMR}$ con $X < \text{LMR}$
prodotto conforme
- $X - U < \text{LMR}$ con $X > \text{LMR}$
prodotto conforme - linea guida SANTE

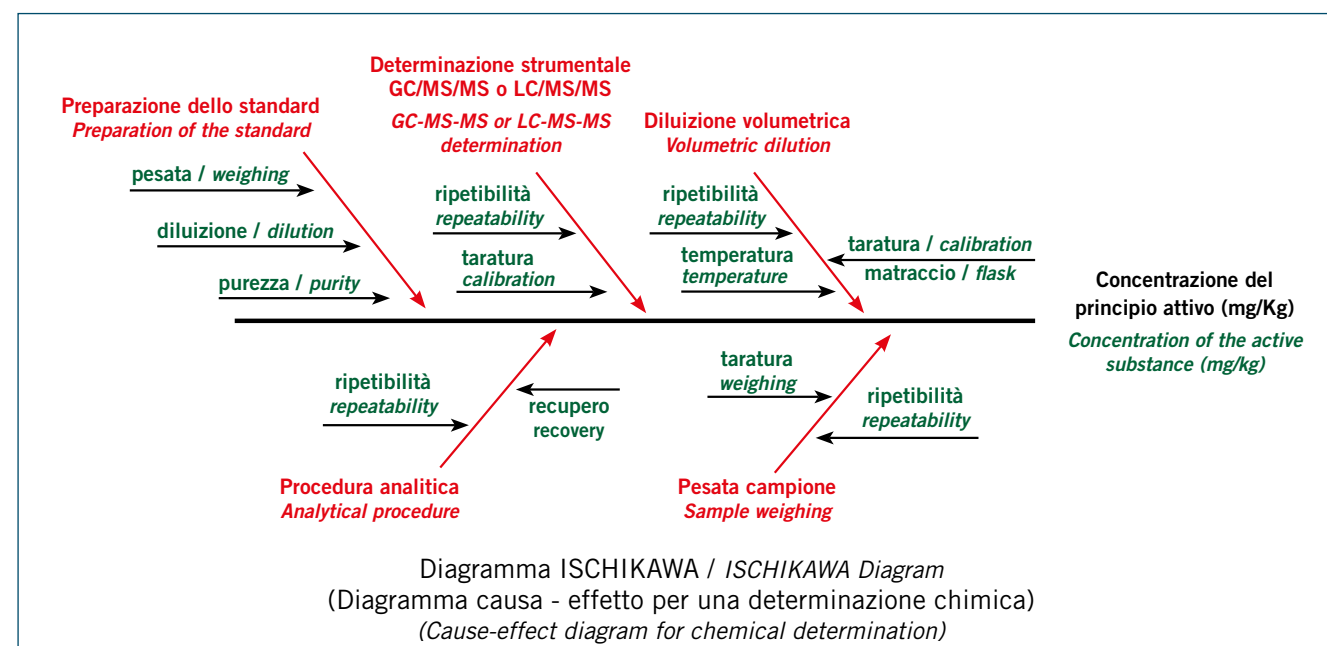
Nel caso di alimenti trasformati oppure composti il calcolo del LMR deve essere eseguito applicando l'articolo 20 del Regolamento 396/2005 *Nel caso di prodotti alimentari o mangimi trasformati e/o composti per i quali non siano stati fissati LMR negli allegati II e III, si applicano gli LMR stabiliti all'articolo 18, paragrafo 1, per il prodotto pertinente di cui all'allegato I, tenendo conto delle variazioni del tenore di residui di antiparassitari, conseguenti alla trasformazione e/o alla miscela.*

Il laboratorio Tentamus Agriparadigma srl, per semplificare la lettura del risultato analitico, si è adeguato alle indicazioni delle linee guida SANTE/12682/2019,



in particolare nel rapporto di prova viene riportato:

- l'incertezza del fitofarmaco rilevato positivo uguale al 50% del valore analitico
- il giudizio emesso, quando richiesto, prevede l'applicazione dell'incertezza di misura, nello specifico la regola adottata prevede che il prodotto alimentare sia considerato conforme se il valore del risultato analitico sottratto dell'incertezza è inferiore/uguale al LMR.



Application of measurement uncertainty in the analysis of residues from plant protection products

by Paolo Pucci, Sales Area Manager at Tentamus Agriparadigma



A plant protection product is used to protect and preserve plants (and plant products) or influence their vital processes (growth, etc.). Specifically, it provides protection against all harmful organisms and their actions. Plant protection products are defined as preparations of mixtures or solutions made of two or more substances. Such substances can be classified into active substances, safeners, synergists and adjuvants.

The active substance (also called 'active principle') is a chemical compound or a microorganism having a (general or specific) action against harmful organisms. During a treatment, some active ingredients are degraded totally or partially into another molecule called 'metabolite'. Metabolites are formed as a result of chemical reactions occurring through metabolism of the plant.

Most of the active substances present in plant protection products are considered harmful to human health. In fact, there are regulations which exist to minimise consumer exposure to harmful quantities of pesticides.

The legislation setting the relevant MRLs applicable to all food products is as follows:

- Regulation (EC) No 396/2005 (MRL) and subsequent updates and modifications concerning the maximum residue levels of pesticide in or on food and feed of plant and animal origin

Article 18 of Regulation (EC) No 396/2005 indicates that the products covered by Annex I (products of plant and animal origin to which MRLs are applied) shall not contain, from the time they are placed on the market as food or feed, or fed to animals, any pesticide residue exceeding:

- a) the MRLs for those products set out in Annexes II and III;
- b) 0,01 mg/kg for those products for which no specific MRL is set out in Annexes II or III, or for active substances not listed in Annex IV [...].

For each 'active ingredient & crop'

combination, Annexes II and III of Regulation (EC) No 396/2005 set a specific numerical value indicated as MRL. If this value is exceeded, the product cannot be marketed. Annex IV, instead, includes the list of active substances present in plant protection products for which MRLs are not required.

With regard to products from organic agriculture, the reference legislation is Regulation (EC) No 834/2007 (updated by the new Regulation (EU) No 2018/848 which will apply from 1st January 2021) integrated by the Decree of 13 January 2011 "Accidental and technically inevitable contaminations of plant protection products in organic agriculture".

The Decree's Annex indicates that it is appropriate to consider **0.01 mg/kg** as the lower limit, intended as the "numerical threshold" above which the certification of organic product cannot be granted [...].

Therefore, the product conformity verification must be performed by comparing the numerical value of the analysis with either the numerical value of the 'active ingredient & crop' combination (i.e. MRL), the numerical threshold indicated in the Decree of 13 January 2011 or given specifications.

SANTE/12682/2019 guidelines "Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed" suggest the supervisors use uncertainty in order to verify the conformity of pesticide residues in a food product. This value was set equal to 50% of the analytical value found and also covers inter-laboratory variability between European laboratories. A

fundamental requirement to apply this value is that the expanded uncertainty calculated by the laboratory should be less than 50%. If otherwise happens, the calculated expanded uncertainty is indicated in the test report.

Also the Accredia document RT-16 rev.05 titled "Directives for accreditation of Bodies issuing declarations of conformity of organic products and food-stuffs according to Regulation (EC) No 834/2007 and following integrations and modifications" refers to the above mentioned guidelines, indicating that, in the case of pesticide residues determination in food and feed, the CAB applies the criteria defined by the SANTE/11813/2017 guidelines for the conformity assessment of the sample (SANTE 2019 document update is subsequent to the release of rev.05 of RT-16).

The uncertainty is defined by the IVM (International Vocabulary of Metrology) as a parameter associated with the result of a measurement, which characterises the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand.

The concept of uncertainty was introduced because 'true' value of any measurement is generally unknown. However, considering the distribution of the measurand, it is possible to express a confidence interval built around the result of the measurement in which the true value has a certain probability of being contained within. In the specific case of pesticide residues analysis, the trend of data dispersion is of Gaussian type.

Different intervals can be then considered as a function of the probability that the true value is within the interval. The greater the amplitude of the area, the greater the probability that the true value is within the interval. The 100 % probability is obtained only if the interval $-\infty; +\infty$ is considered.

The main intervals considered are the following:

- $X \pm 1 \sigma = 68,27$ % probability
- $X \pm 2 \sigma = 95,45$ % probability
- $X \pm 3 \sigma = 99,73$ % probability

The results of a measurement should always be accompanied by the assessment of their uncertainty – especially when this may affect the compliance of plant protection product residues with the current legislations.

As the previous diagram shows, the contributions to measurement uncertainty are usually numerous. The uncertainty calculation takes into consideration all possible contributions. These can be classified in category A (i.e. quantity that can be directly assessed by the laboratory through the repetition of a measurement process) and category B (i.e. uncertainty assessments carried out differently from the method based on series of repeated observations). After having determined the contribution of each individual operation, all the components of the uncertainty are combined by means of the propagation law (positive square root of the total variance) so as to determine the compound uncertainty.

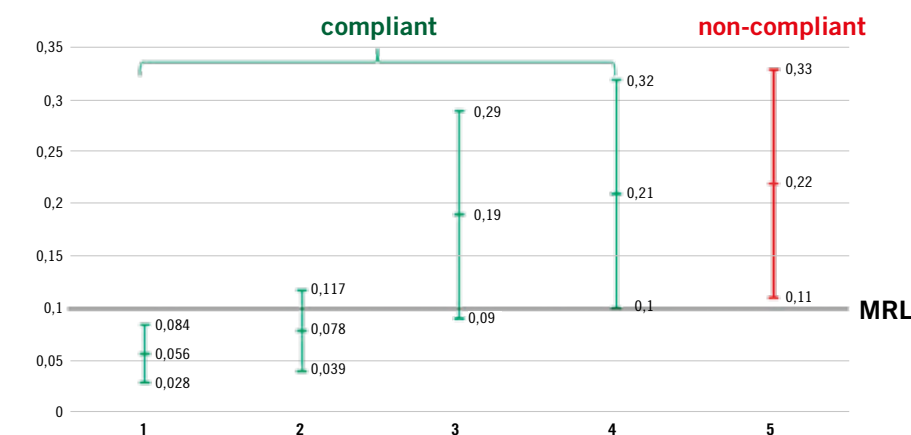
Although the compound uncertainty is sufficient to characterise a measurement, it is still preferred to define a wider interval in order to have greater security in the values that could reasonably be attributed to the measurand. This interval is called extended uncertainty and is obtained by multiplying the compound uncertainty by a coverage factor k . In order to define the numerical value of the factor k to be applied, it is necessary to fix the level of probability (p) which will be considered (usually $p = 95\%$ i.e. 95% of the probability that the true value is within the interval taken into account).

The reference document Accredia DT-0002 titled "Guide for the assessment and expression of uncertainty in measurements" reports that the expression of the measurand's uncertainty (which needs to be included in the test report) should make the measurement results immediately and unambiguously interpretable.

This is particularly true when the value of the analytical result is close to the MRL. For this reason, test reports must indicate the uncertainty in the same unit of measurement of the analytical result, the coverage factor used, the corresponding level of probability and the number of the effective degrees of freedom.

All these parameters also allow to homogeneously compare results from different laboratories.

Once the MRL (Maximum Residual Limit), the analytical value (X) and the extended uncertainty value (U) as per SANTE/12682/2019 guidelines (i.e. 50% of the X value) are defined, the possible combinations of the analytical result corrected for the uncertainty and the relative MRL can be summarised as reported in the following table.



Main changes introduced in Document N° SANTE/12682/2019 with respect to the previous version (Document N° SANTE/11813/2017)"

- a) $X - U > \text{MRL}$
- b) $X + U < \text{MRL}$
- c) $X + U = \text{MRL}$
- d) $X - U = \text{MRL}$
- e) $X + U > \text{MRL}$ with $X < \text{MRL}$
- f) $X - U < \text{MRL}$ with $X > \text{MRL}$

- non-compliant product
- compliant product
- compliant product
- compliant product – SANTE guidelines
- compliant product
- compliant product – SANTE guidelines

Biostimolanti in agricoltura: la nuova normativa europea e il Comitato Tecnico CEN/TC 455 (Plant Biostimulants)

di Lidia Gazzotti, Responsabile reparto studi chimico-fisici di Renolab

Avranno finalmente una legislazione compiuta di riferimento prodotti innovativi, di origine naturale e compatibili con un'agricoltura sempre più rispettosa dell'ambiente.

I biostimolanti comprendono materiali organici quali sostanze umiche, proteine idrolizzate ed aminoacidi, estratti d'alga marina e microrganismi che, applicati alle piante o al terreno, hanno la funzione di aiutare la pianta a resistere agli stress abiotici, come il caldo, il freddo o la mancanza d'acqua; di aumentare l'efficienza nell'assorbimento dei nutrienti; e, infine, di migliorare la qualità della coltura.

Pertanto, agiscono sui naturali processi fisiologici della pianta, senza sostituirsi ai fertilizzanti o agli agrofarmaci. I biostimolanti, infatti, non apportano sostanze nutritive, ma piuttosto aiutano la pianta ad assorbire meglio quelle presenti nel terreno; inoltre, non contrastano le aggressioni di agenti patogeni o di insetti fitofagi, ma ne riducono i danni.

La normativa italiana vigente (allegato 6 del D.L. 10/04/2010 n. 75) – che ha anticipato, per molto aspet-

ti, il nuovo regolamento comunitario (UE) 2019/1009 che entrerà in vigore a partire dal 16/07/2022 – definisce i biostimolanti solo in virtù degli effetti indotti sulle piante, ed esclude da questa categoria le sostanze ad azione fitormonale.

Per il nuovo regolamento (UE) 2019/1009, che sostituirà il reg. CE 2003/2003 sui concimi, i biostimolanti vegetali sono prodotti che stimolano i processi di nutrizione delle piante indipendentemente dal loro contenuto di nutrienti.

Dalla categoria dei biostimolanti sono esclusi i prodotti fitosanitari, i fertilizzanti, i materiali calcarei, gli ammendanti, i terreni in crescita e gli additivi agronomici che sono già sottoposti ad altre normative a livello europeo.

I tecnici di Renolab, in qualità di esperti della chimica dei prodotti per l'agricoltura, già dal 2017 sono stati

Lidia Gazzotti

Responsabile del reparto studi chimico-fisici di Renolab

Laurea in Chimica (1986). Dal 1986 prima analista controllo qualità e poi tecnico formulatore nel settore chimico-fisico presso industrie produttrici di agrofarmaci. Dal 2006 responsabile studi chimico-fisici BPL nel laboratorio GAB Analisi (Italia) e dal 2008 in Renolab. Competenze su prodotti tecnici e formulati. Direzione di studio chimico-fisici BPL, 5-Batch analysis e REACH.

Head of Chemical and Physical Characterisation in Renolab

She graduated in Chemistry in 1986. Since then, she has worked at agrochemical manufacturing industries holding the role of first quality control analyst as well as of formulation technician in the chemical-physical sector. In 2006, she became head of BPL chemical-physical studies at the GAB ANALISI SRL laboratory (Ferrara, Italy) and is currently working at Renolab where she is holding the same title. She possesses skills on technical and formulated products and directs BPL chemical-physical studies, 5-Batch analysis and REACH.



chiamati da UNI (Ente di Normazione Italiano) a far parte del Comitato Tecnico CEN/TC 455 il cui compito principale è l'elaborazione di standard europei a sostegno del nuovo regolamento. Il comitato tecnico CEN/TC 455 è una diretta emanazione della Commissione europea ed è formato dagli enti di normazione di ciascuno stato membro.

A loro volta gli enti di normazione nazionale nominano i loro esperti a rappresentarli ai tavoli internazionali.

Gli standard da preparare comprendono i metodi di campionamento dei prodotti, le loro denominazioni e specifiche, compresi i requisiti di sicurezza quali assenza di metalli pesanti e di agenti patogeni, la marcatura di conformità CE e – di cruciale importanza – i metodi di prova che consentano la verifica delle proprietà associate al biostimolante per misurarne l'efficacia.

A questo scopo, in seno al CEN/TC 455 sono stati istituiti cinque working group, il cui obiettivo, al termine di un complesso iter, sarà l'emanazione di:

- ✓ 34 specifiche tecniche (conclusione entro il 1° gennaio 2022)
- ✓ 30 standard armonizzati (conclusione entro il 1° gennaio 2022)

Il settore dei biostimolanti in agricoltura sta assumendo sempre più un ruolo determinante nella filiera produttiva dell'Unione Europea, anche grazie all'accresciuta consapevolezza da parte dei consumatori della necessità inderogabile di ridurre l'uso di fertilizzanti e agrofarmaci. In questo contesto è quindi auspicabile che il nuovo regolamento UE, che stabilisce norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti, dia il necessario supporto affinché il mercato si orienti verso un vero e proprio sviluppo sostenibile.



Biostimulants in agriculture: the new European legislation and the Technical Committee CEN/TC 455 (Plant Biostimulants)

by Lidia Gazzotti, Head of Chemical and Physical Characterisation in Renolab



B iostimulants will finally have a complete reference legislation for innovative products of natural origin which will be compatible with an increasingly environmentally friendly agriculture.

Biostimulants include organic materials such as humic substances, hydrolysed proteins and amino acids, seaweed extracts and microorganisms which can be applied to plants or soil.

They have the function of helping the plant to resist abiotic stresses, such as heat, cold or lack of water; to increase efficiency in the absorption of nutrients; and finally to improve the quality of the crop.

Therefore, they act on the plant's natural physiological processes without replacing fertilisers or agrochemicals.

In fact, biostimulants do not provide nutrients to the plant, but rather help it to better absorb those which are present in the soil.

Moreover, they reduce the damage caused by pathogens or phytophagous insects although not actively fighting against them.

The current Italian legislation (Annex VI of Legislative Decree 10/04/2010 No 75) – which, in many respects, anticipated the new EU regulation (EU) 2019/1009 coming into force on 16/07/2022 – defines biostimulants only by virtue of the effects induced on plants and excludes phytohormonal substances from this category. In the new regulation (EU) 2019/1009, which will replace

the regulation (EC) 2003/2003 relating to fertilisers, “plant biostimulant” means a product stimulating plant nutrition processes independently of the product's nutrient content.

Plant protection products, fertilisers, calcareous materials, soil improvers, growing soils and agronomic additives that are already subject to other European regulations are excluded by the category of biostimulants.

Technicians at Renolab are experts in the chemistry of agricultural products and have already been called by UNI (Italian National Unification) since 2017 to be part of the Technical Committee CEN/TC 455.

The main task of the Technical Committee CEN/TC 455 is to process European standards in support of the new regulation. It is a direct issue of the European Commission and is made up of the standardisation bodies of each member state.

In turn, national standardisation bodies nominate their experts to represent them at international summits.

The standards to be adopted include product sampling methods, their names and specifications, including safety requirements such as the absence of heavy metals and pathogens, the EC conformity

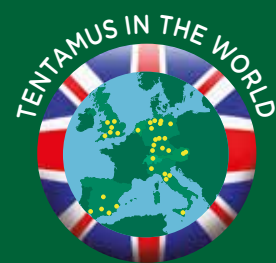
marking and most importantly, the test methods that allow verification of the properties associated with the biostimulant to measure its effectiveness.

For this purpose, five working groups have been set up within CEN/TC 455 which, at the end of a complex process, will finally issue:

- ✓ 34 technical specifications (finalised by 1st January 2022)
- ✓ 30 harmonised standards (finalised by 1st January 2022).

The biostimulant sector in agriculture is increasingly taking on a decisive role in the production chain of the European Union, also thanks to the increased awareness by consumers of the imperative need to reduce the use of fertilisers and agrochemicals. In this context, it is therefore desirable that the new EU regulation, which establishes rules relating to the availability of fertiliser products on the market, gives the necessary support for the market to move towards real sustainable development.

TENTAMUS NEL MONDO



Il paradosso del clorato

di Steven Mann, Responsabile del laboratorio Tentamus QTS Analytical Ltd., Regno Unito

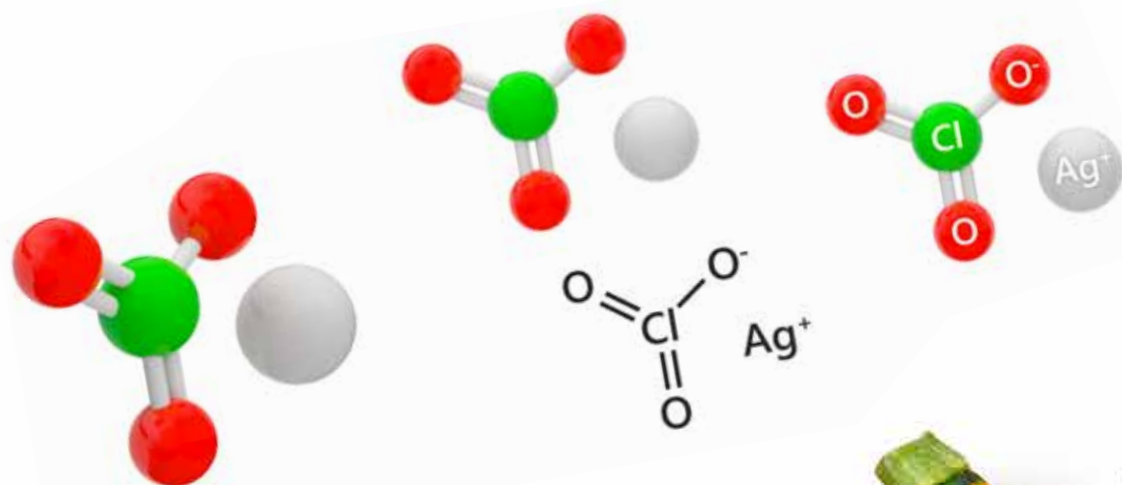
Il clorato, come composto, è stato un erbicida autorizzato fino al 2008, quando l'approvazione fu revocata dalla legislazione. In quel momento, entrò in vigore il regolamento (CE) n. 396/2005, il che significava che la quantità di clorato presente negli alimenti era soggetta ad un predefinito livello standard di LMR (0,01 mg/kg).

Poiché non era più approvato per l'utilizzo, il presupposto era che non dovesse essere più presente negli alimenti. Tuttavia, dopo avere esaminato ulteriormente la situazione, era chiaro che il clorato può in realtà manifestarsi in molti prodotti alimentari per una serie di altri motivi, tra cui: come impurità proveniente dall'uso di disinfettanti a base di cloro durante la lavorazione degli alimenti e anche dall'uso di ipoclorito e biossido di cloro durante il trattamento delle acque.

La presenza di cloro nell'acqua potabile non è soggetta a un limite normativo, tuttavia la guida dell'OMS consente un livello fino a 0,7 mg/kg. Ciò che desta preoccupazione sono quindi frutta o verdura che vengono pulite o trattate con acqua perché potrebbero comportare livelli residui di clorato superiori ai livelli accettabili.

Inizialmente la Commissione europea aveva concordato la sospensione dell'applicazione dello standard LMR, in attesa del completamento di ulteriori test e revisioni. Tale processo è ora arrivato a conclusione e sono stati concordati nuovi livelli di LMR per il clorato in frutta e verdura e andranno in vigore da giugno 2020.

Il Gruppo Tentamus è in grado di fornire assistenza per qualsiasi esigenza di test o domanda relativa ai livelli di clorato nei prodotti. Nella banca dati dell'UE sui residui di pesticidi si possono trovare i LMR aggiornati per i prodotti alimentari che dovrebbero entrare in vigore a giugno 2020. Per ulteriori informazioni, contattare il laboratorio Tentamus nelle vostre vicinanze.



TENTAMUS IN THE WORLD



The Chlorate Conundrum

by Steven Mann, Laboratory Manager at Tentamus QTS Analytical Ltd., UK

Chlorate as a compound was an approved herbicide until 2008 when approval was withdrawn by legislation. At this stage regulation 396/2005 came into effect which meant that any chlorate which was present in food became subject to default level MRLs (0.01mg/kg).

The assumption was that because it was no longer approved for use, it should not be present in food. Upon further examination of the situation, it became obvious that chlorate can arise in many foodstuffs for a number of additional reasons which include: as an impurity from use of chlorine based disinfectants (food processing), and also the use of hypochlorite and chlorine dioxide in water treatment.

The presence of chlorine in drinking water is not subject to a regulatory limit however, WHO guidance allows for a level of up to 0.7mg/kg. The obvious concern then becomes that fruits or vegetables which are cleaned or treated using water may pick up residual levels of chlorate which could be detected above acceptable levels.

Initially the European Commission agreed to the suspension of MRL enforcement while further testing and review was carried out. The process has now been concluded and new agreed MRL levels for chlorate in fruits and vegetables have been set out for implementation from June 2020!

The Tentamus group can assist with any testing requirements or questions you may have in relation to chlorate levels in your products. The updated MRL levels for foodstuffs can be found using the EU pesticide residue database with the new levels expected to come into force in June 2020. For further information please contact your local Tentamus laboratory.



La comunicazione social ai tempi del Covid-19: peculiarità, rischi e approccio del Gruppo

di Giuseppe Calvi di Coenzo, Marketing Manager di Tentamus Italia

Per quasi 4 miliardi di persone è scattato il lockdown. Il mondo, oggi più che mai, è incollato a tv e social in cerca di informazioni, chiarimenti e rassicurazioni. In questo momento, occorre un profondo senso di responsabilità da parte di tutti noi: non si tratta solamente di limitare la diffusione del virus, ma anche la divulgazione di informazioni fuorvianti o prive di fondamento.

Fake news, notizie approssimative e fonti incerte, possono generare “un telefono senza fili” da cui ognuno di noi rischia di essere travolto; a volte possiamo essere noi le vittime di una cattiva informazione, mentre, in altre occasioni, diventarne i diretti responsabili.

Per questa ragione, se è vero che “L'intelligenza è la capacità di adattarsi al cambiamento”, come diceva Stephen Hawking, allo smarrimento e all'incertezza generale, il Gruppo Tentamus ha risposto, prontamente, con fermezza e chiarezza.

Facciamo parte di una filiera che non si è mai fermata ma anzi, ha dovuto riorganizzarsi velocemente e agire con piena responsabilità per continuare a garantire la sicurezza dei prodotti e la tutela della salute delle persone.

Il nostro focus dunque, è stato dapprima quello di cercare di individuare tutte le criticità del nostro settore, focalizzandoci in particolar modo su quelle dei nostri clienti, dalle piccole/medie Aziende alla GDO.

Solamente a questo punto, allora, abbiamo iniziato a comunicare e lo abbiamo fatto nella maniera a noi più consona, ovvero attraverso un'informazione di qualità. Abbiamo difatti, sempre preferito informare piuttosto che promuovere, o meglio promuovere attraverso l'informazione. Supportati dai nostri tecnici analitici e ricercatori e grazie alla condivisione di know-how tra gli oltre 65 laboratori partner nel mondo, divulghiamo costantemente testi scientifici, ricerche, approfondimenti, nuovi metodi e

frontiere dell'analisi oltre ad aggiornamenti normativi che nel nostro settore sono, più che mai, in continua evoluzione. Dalle aziende, in questo momento, ci si aspetta una comunicazione che non sia solamente empatica ma che colga con estrema attenzione i bisogni dei singoli clienti, trovando soluzioni che da una parte rassicurino e dall'altra risolvano le criticità generate dall'emergenza.

Il nostro Gruppo si impegna, dunque, a tracciare un sentiero comune per rafforzare così la collaborazione e il rapporto con le aziende clienti.

Rispetto, consapevolezza e responsabilità, sono le basi su cui costruiamo la nostra informazione attraverso i canali social, magazine, siti web e newsletter.

La comunicazione, per sua natura, non può essere unilaterale ma deve generare uno scambio e una relazione con chi la riceve. Per questo, lavoriamo per creare piattaforme di dialogo al fine di conoscere a fondo le esigenze e le problematiche di ciascun cliente e poter lavorare così, insieme, guidati da obiettivi comuni.

Il Gruppo Tentamus, in tutti questi anni e oggi ancor di più, ha cercato di essere autentico e fedele alla propria filosofia e di conseguenza la sua comunicazione ha sempre rispecchiato il brand, i suoi valori e sua mission.

Ogni giorno affrontiamo le sfide del mercato con entusiasmo, consapevoli che attraverso una comunicazione chiara ed etica, il rapporto con i nostri clienti potrà essere sempre saldo e proficuo.

Communication via social media at the time of Coronavirus: peculiarities, risks and our Group's approach

by Giuseppe Calvi di Coenzo, Marketing Manager at Tentamus Italy

For nearly 4 billion people, the lockdown has taken place. Today, more than ever, the world is glued to TV screens and social networks in search of information, clarifications and reassurance. Right now, a deep sense of responsibility is required from all of us. It is not just a question of limiting the spread of the virus, but also the disclosure of misleading or baseless information.

For nearly 4 billion people, the lockdown has taken place. Today, more than ever, the world is glued to TV screens and social networks in search of information, clarifications and reassurance.

Right now, a deep sense of responsibility is required from all of us. It is not just a question of limiting the spread of the virus, but also the disclosure of misleading or baseless information. Fake news, partially incorrect news and unreliable sources can become a game of Chinese whispers from which each of us risks being caught up in. Sometimes we can be the victims of bad information, some other times, instead, we are those responsible for its spread.

For this reason, the Tentamus Group has responded promptly, firmly and clearly. We found our way to face this period of confusion and general uncertainty - as Stephen Hawking once said “Intelligence is the ability to adapt to change”.

Being part of the supply chain, we had to quickly reorganise ourselves and act with full responsibility to continue ensuring product safety and people's health.

Therefore, our focus was first to try to identify all critical issues in our sector, particularly focusing on those of our customers, from small to large companies.

Only at this point, we started to communicate, and we did it in the most appropriate way for us, i.e. through high quality information.

In fact, we have always preferred to inform rather than promote. Supported by our analytical technicians and researchers, and thanks to the sharing of know-how among the over 65 partner laboratories worldwide, our Group

constantly discloses scientific texts, research papers, insights, new methods and frontiers of analysis as well as regulatory updates that in our sector are, more than ever, in constant evolution. At the moment, companies are expected to communicate not only empathically but also assess the needs of individual customers very carefully. They are expected to find solutions that on the one hand provide reassurance and on the other hand solve the critical issues generated by this global emergency.

Our Group therefore committed to a common path to strengthen the cooperation and relationship with our clients.

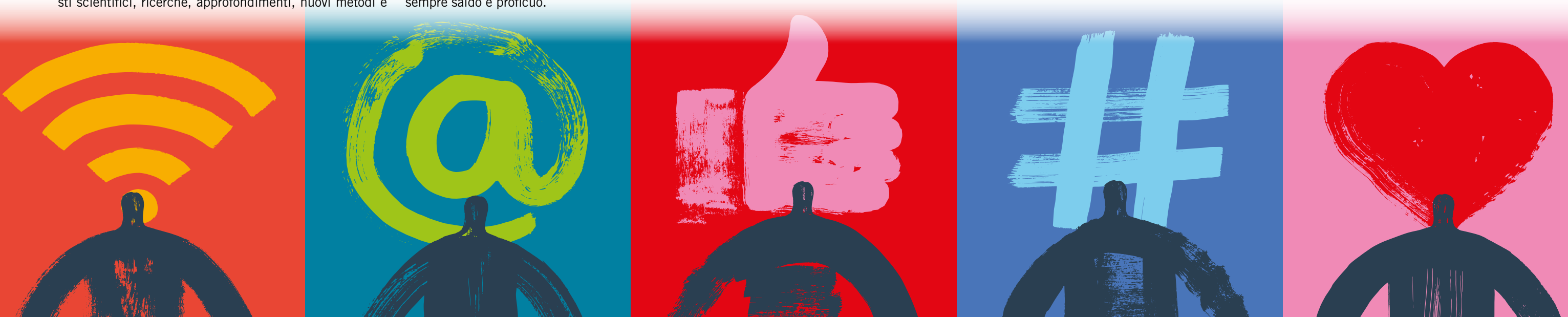
Respect, awareness and responsibility are the foundations on which we build our information, through social media channels, magazines, websites and newsletters.

Our idea of communication is not unilateral. Indeed, communication is intended as a means to generate an interchange and a relationship with all parties involved.

For this reason, we are working on creating dialogue platforms in order to fully understand the needs and problems of each of our clients and to be able to work together, guided by shared goals.

During all these years, and even more today, the Tentamus Group has tried to be authentic and faithful to its philosophy and consequently its communication has always reflected the brand, its values and its mission.

We face the challenges of the market with enthusiasm every day, being aware that through clear and ethical communication the relationship with our customers will always be solid and helpful.



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 dicembre 2020.

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 December 2020.

Qual è la differenza tra STEC, VTEC e EHEC?

STEC e VTEC sono due sigle utilizzate per definire gli stessi microrganismi: ceppi di *Escherichia coli* patogeni per l'uomo e per gli animali. STEC sta per *Shiga toxin-producing Escherichia coli*, ovvero *E. coli* che producono Shiga tossine (stx). Le stx sono citotossiche per le cellule "Vero" utilizzate in ambito di ricerca, da cui la definizione alternativa VTEC, cioè "Verotoxigenic *E. coli*". I ceppi di STEC che causano colite emorragica sono identificati mediante la sigla EHEC (enterohaemorrhagic *E. coli*).

Nel piano di autocontrollo ho sempre previsto *E. coli* O157. Si tratta della stessa analisi rispetto a *E. coli* STEC?

Il primo STEC individuato come patogeno fu *E. coli* O157, perciò inizialmente le analisi puntarono sulla ricerca di questo singolo sierotipo; in seguito se ne identificarono altri. Il metodo analitico per *E. coli* O157 si limita alla ricerca di questo sierotipo. L'analisi di STEC prevede uno screening iniziale in PCR per la ricerca dei geni di Shiga tossine (stx1-stx2 e eae): con l'esito negativo si esclude la presenza di STEC e quindi anche di *E. coli* O157. In caso di positività si passa ad uno step di identificazione, individuando singolarmente l'eventuale presenza non solo di O157 ma anche di altri sierotipi patogeni come O26, O111, O145, O103.

What is the difference between STEC, VTEC and EHEC?

STEC and VTEC are two abbreviations used to define the same microorganisms: strains of *Escherichia coli* which are pathogenic for humans and animals. STEC stands for *Shiga toxin-producing Escherichia coli*, i.e. *E. coli* producing Shiga toxins (Stxs). Stxs are cytotoxic for the "Vero" cells used in research, hence the alternative abbreviation VTEC, i.e. "Verotoxigenic *E. coli*". The STEC strains causing hemorrhagic colitis are identified by the abbreviation EHEC (enterohaemorrhagic *E. coli*).

In the self-control plan I have always included *E. coli* O157. Is this the same analysis as for *E. coli* STEC?

E. coli O157 was the first STEC identified as a pathogen, therefore the analyses initially focused on the search for this single serotype. Other serotypes were identified at a later stage. The analytical method for *E. coli* O157 is limited to the search for this serotype. The STEC analysis involves an initial PCR screening for the search of Shiga toxin genes (stx1-stx2 and eae). If the results are negative, the presence of STEC and *E. coli* O157 is excluded. If the results are positive, an identification step is carried out, individually identifying the possible presence of *E. coli* O157 and other pathogenic serotypes such as O26, O111, O145, O103.

Fulvia Larini

Responsabile Business Unit Biologia / Biology Business Unit Manager

• agriparadigma@agriparadigma.it •



Posso riportare i valori così ottenuti da una analisi centesimale di laboratorio direttamente all'interno della dichiarazione nutrizionale?

La risposta è NO. I valori riportati sul certificato di analisi emessi da un laboratorio derivano da misure, calcoli e arrotondamenti propri di ciascun metodo analitico. I valori invece riportati all'interno della dichiarazione nutrizionale devono necessariamente prendere in considerazione più aspetti, anche per non imbattersi in sanzioni amministrative inaspettate; si parla di valor medio, limiti di tolleranza e regole di arrotondamento.

Secondo il Regolamento (UE) 1169/2011 e s.m., il valore dichiarato deve essere inteso come il valore medio che meglio rappresenta la quantità contenuta nell'alimento anche in relazione alla naturale variabilità riscontrabile. Inoltre i valori dichiarati devono essere compresi nei limiti di tolleranza per tutta la shelf life del prodotto e devono seguire regole di arrotondamento ben precise. Ad esempio: il valore 20.6 g di grasso per 100 g ottenuto da analisi di laboratorio come valor medio deve essere arrotondato al grammo più vicino senza decimali, pertanto 21 g, ed in caso di controllo ufficiale è ritenuta valida una analisi che non si discosti di $\pm 20\%$ del valore dichiarato in etichetta. Tale range è la tolleranza ammissibile tenuto conto anche dell'incertezza di misura.

Can I report the values obtained from a centesimal analysis directly within the nutrition declaration?

The answer is NO. The values reported on the analysis certificate issued by a laboratory come from measurements, calculations and rounding typical of each analytical method. Conversely, the values reported in the nutrition declaration should take into account several aspects (i.e. average value, tolerance limits and rounding rules) – also to avoid unexpected administrative sanctions.

According to Regulation (EU) No 1169/2011 and subsequent amendments, the declared value must be understood as the average value that "best represents the amount of the nutrient which a given food contains, and reflects allowances for seasonal variability, patterns of consumption and other factors which may cause the actual value to vary". Moreover, the declared values must be within the tolerance limits for the entire product's shelf life and follow precise rounding rules. For instance, the value 20.6 g of fat per 100 g obtained from laboratory analysis as an average value must be rounded to the nearest gram without decimals, i.e. 21 g. And in the event of an official control, an analysis that does not deviate from $\pm 20\%$ of the value declared on the label is considered valid. This range is the allowable tolerance also taking into account the measurement uncertainty.

Valeria R. Giancotti

Responsabile Tecnico / Technical Manager

• info@laemmegroup.it •



A proposito di autorità regolatorie: quando i test devono essere effettuati secondo le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL)?

Le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL) sono state adottate dall'Organizzazione per la cooperazione e lo sviluppo economico (OECD) per determinare i principi con cui le ricerche di laboratorio (studi) sono pianificate, eseguite, controllate, registrate, riportate ed archiviate, allo scopo di ottenere dati sperimentali di elevata qualità. Tali principi devono essere applicati ad ogni studio destinato alle autorità di registrazione (solitamente il Ministero della salute di ciascuno stato membro dell'OECD) e che riguardano l'introduzione di prodotti chimici e biologici implicati nella sicurezza per la salute umana, animale ed ambientale. L'adozione e l'applicazione delle BPL sono importanti per stabilire un possibile effetto tossicologico dei prodotti sugli utilizzatori commerciali, valutare il rischio di residui nella catena alimentare e prevenire l'effetto eco-tossico di una sostanza, esaminandone le proprietà chimico-fisiche.

Speaking of regulatory authorities: when should tests be carried out according to Good Laboratory Practices (GLP)?

Good Laboratory Practices (GLP) have been adopted by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) to determine the principles with which laboratory studies are planned, performed, controlled, recorded, reported and archived, in order to obtain high quality experimental data. These principles should be applied to any study intended for registration authorities (usually the Ministry of Health of each OECD member state) and concerning the introduction of chemical and biological products involved in safety for human, animal and environmental health. The adoption and application of GLP principles are important for establishing a possible toxicological effect of products on commercial users, assessing the risk of residues in the food chain and preventing the eco-toxic effect of a substance by examining its chemical-physical properties.

Lidia Gazzotti

Responsabile reparto studi chimico-fisici / Head of Chemical and Physical Characterisation

• info@renolab-glp.com •



ELENCO DEI 14 ALLERGENI ALIMENTARI

THE 14 FOOD ALLERGENS



ARACHIDI E DERIVATI / PEANUTS AND DERIVATIVES

Snack confezionati, creme e condimenti in cui vi sia anche in piccole dosi
Packaged snacks, spreads and condiments in which they are found in small amounts



CROSTACEI / CRUSTACEANS

Marini e d'Acqua Dolce: gamberi, scampi, aragoste, granchi e simili
Sea and freshwater crustaceans: prawns, scampi, lobsters, crabs and similar



FRUTTA A GUSCIO / NUTS

Mandorle, nocciole, noci comuni, noci pecan, anacardi e pistacchi
Almonds, hazelnuts, walnuts, cashews, pecans and pistachios



GLUTINE / GLUTEN

Cereali, grano, segale, orzo, avena, farro, kamut, inclusi ibridati derivati
Cereals, wheat, rye, barley, oat, spelt, kamut, including hybridised derivatives



LATTE E DERIVATI / MILK AND DERIVATIVES

Ogni prodotto in cui viene usato il latte: yogurt, biscotti, torte, gelato e creme varie
Every product in which milk is used: yoghurt, biscuits, cakes, ice-cream and various creams and spreads



LUPINI / LUPINS

Presenti in cibi vegan sottoforma di: arrostiti, salamini, farine e similari
Found in vegan food products such as roast, salamis, flour and similar



MOLLUSCHI / SHELLFISH

Canestrello, cannolicchio, capasanta, cozza, ostrica, patella, vongola, tellina ecc.
Canestrello scallop, razor clam, casapanta scallop, mussel, oyster, patella, clam, tellina, etc.



SENAPE / MUSTARD

Si può trovare nelle salse e nei condimenti, specie nella mostarda
It can be found in sauces and condiments



PESCE / FISH

Prodotti alimentari in cui è presente il pesce, anche se in piccole percentuali
Food products that contain fish, even in small amounts



SEDANO / CELERY

Sia in pezzi che all'interno di preparati per zuppe, salse e concentrati vegetali
Both in its raw form and in preparations for soups, sauces and vegetable concentrates



SESAMO / SESAME

Semi interi usati per il pane, farine anche se lo contengono in minima percentuale
Whole seeds used for bread and flour, even in minimal amounts



ANIDRIDE SOLFOROSA E SOLFITI / SULFUR DIOXIDE AND SULPHITES

Cibi sott'aceto, sott'olio e in salamoia, marmellate, funghi secchi, conserve ecc.
Pickled food, oil-packed foods and salt-packed foods, jams, dried mushrooms, canned food, etc.



SOIA / SOY

Prodotti derivati come: latte di soia, tofu, spaghetti di soia e simili
Derivative products such as soya milk, tofu, soya spaghetti and similar



UOVA E DERIVATI / EGGS AND DERIVATIVES

Uova e prodotti che le contengono come: maionese, emulsionanti, pasta all'uovo
Eggs and products that contain eggs such as mayonnaise, emulsifiers, egg pasta



Tentamus Locations Network*: Service Excellence Worldwide



T~magazine

1° semestre 2020 / Numero 3 - 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

È vietata la riproduzione anche parziale di questo catalogo.
It is forbidden to reproduce any parts of this catalogue.



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

* May 2020



Tentamus Agriparadigma S.r.l.

Sede legale e operativa:

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)



Tentamus Italia S.r.l.

Via Faentina 224
48124 Ravenna



Renolab S.r.l.

Sede legale e operativa:

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