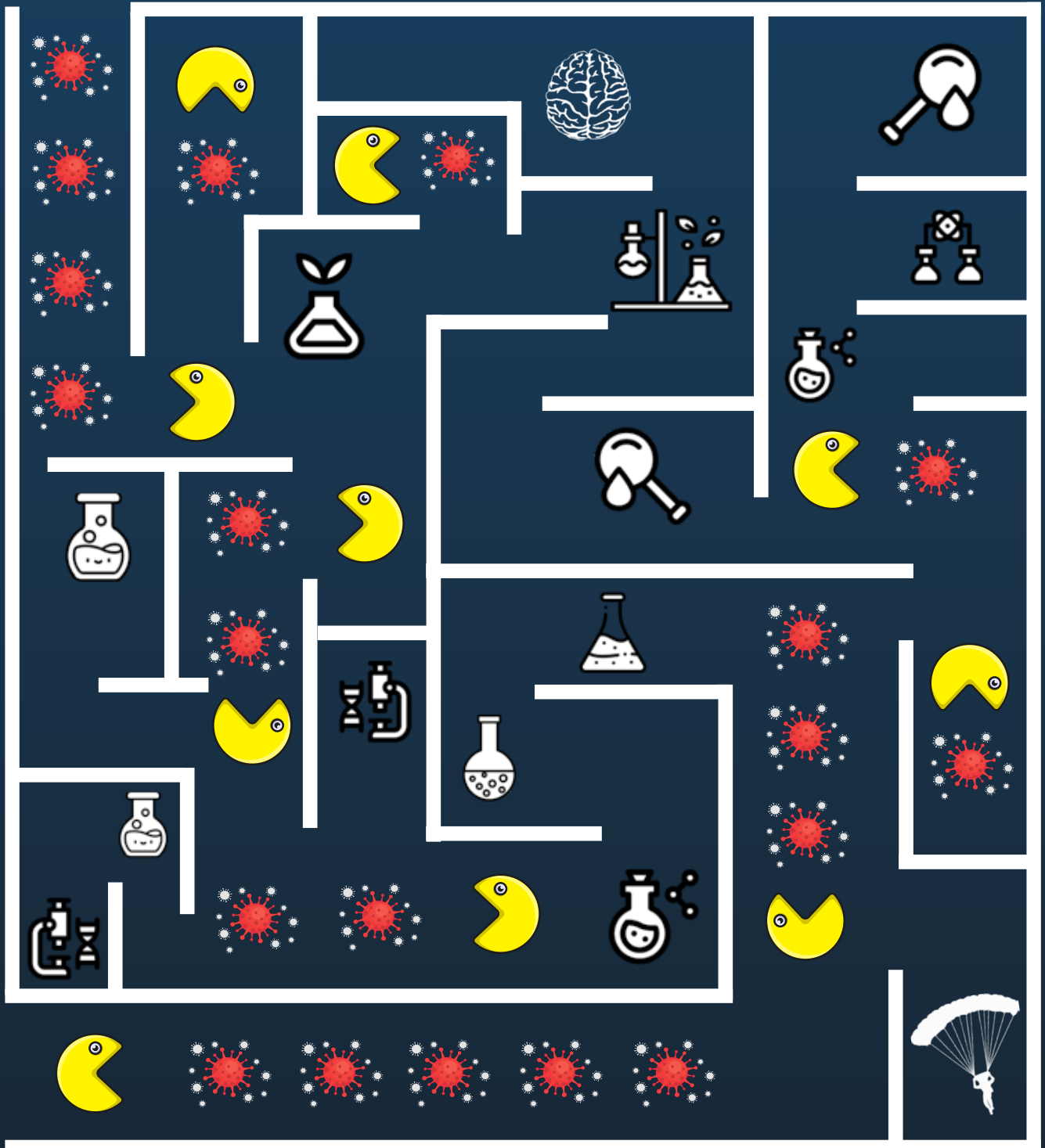


T~magazine

1° semestre 2021 / Numero 5 - Tentamus Italia



- 1 **Proteine animali trasformate nei mangimi 2021**
Animal protein processed in feed 2021
- 2 **Il campionamento: il primo step per un processo analitico vincente**
Sampling: the first step for a successful analytical process
- 3 **L'importanza della Data Integrity negli studi condotti in accordo con le BPL**
The importance of Data Integrity in studies carried out in accordance with GLP principles
- 4 **Comunicazione interna aziendale: favorire il miglioramento continuo, plasmando una "No blame organization"**
Internal business communication: the need to promote continuous improvement, building a "No blame organisation"
- 5 **L'utilizzo del metodo MALDI-ToF in microbiologia alimentare per la tutela dei consumatori**
Use of MALDI-ToF-methods in food microbiology and consumer protection
- 6 **L'esperto risponde**
Ask the Expert

“La mente è come un paracadute: funziona solo se si apre”.
“A mind is like a parachute: it doesn't work if it is not open”.
(Albert Einstein)

Per il bene comune abbiamo chiuso tutto per più di un anno.
Per il bene comune, abbiamo accettato, non sempre di buon grado, le restrizioni sociali.
Ora si riapre, finalmente si tornerà a viaggiare, a fare shopping, ad andare al ristorante.

Andare a pranzo o cena fuori sta diventando il simbolo della riconquistata libertà!
...Che poi sarà la stessa libertà che, come diceva Ernst Benn, significa essere liberi dalle cose che non ci piacciono per diventare schiavi di quelle che ci piacciono...
La stessa libertà di quelli che citano Alain: “La libertà di uno finisce dove comincia quella degli altri” e poi agiscono in modo differente: “La vostra libertà comincia dove finisce la mia” senza capire la sottile differenza.

Crediamo davvero di poter ricostruire quello che ci è stato tolto, modificato o addirittura sottratto, dagli affetti alle opportunità personali e lavorative, con la stessa mentalità ante Covid, senza lungimiranza alcuna? Pensiamo, dopo lo schiaffo che la storia ci ha dato, di ripartire senza la chiara volontà di voler abbattere le barriere sociali ed economiche che avevamo e di cui ora, dovremmo meglio comprendere i limiti o l'inutilità?

Ecco, per evitare il semplice e apparentemente indolore “ritorno al passato” che tanti attendono con ansia, a costo di risultare antipatico o presuntuoso, auspico, tra i vari programmi di riaperture, di cui tanto si continua a discutere, di trovare quello delle menti, con partecipazione di massa: la stessa che (finalmente vorrei poter dire!?) si comincia a vedere nelle vie centrali delle città il sabato pomeriggio.

È il momento! Apriamo la nostra mente, apriamo quel paracadute e riatterriamo sulle nostre vite, facendo tesoro dei preziosi insegnamenti che ci lascia l'esperienza di un lungo volo in caduta libera.



Nicola Berruti
Country Manager Tentamus Italia

*We have closed everything for more than a year for the common good.
We have accepted social restrictions for the common good – although not always willingly.
Now we open again. We will finally go back to travelling, doing shopping, going to restaurants.*

*Going out for lunch or dinner is becoming the symbol of regained freedom!
...And that freedom is intended to mean being free from the things we do not like in order to be slaves of the things we do like, as Ernest Benn once said.
It is the same freedom of those who quote Alain, “The freedom of one ends where the freedom of the other begins”, and then act differently, “Your freedom begins where mine ends”, without understanding the subtle difference.*

*Do we really believe we can rebuild what has been taken away, changed or even stolen – from affections to personal and work opportunities – with the same pre-COVID mentality, without any foresight?
After what these hard unprecedented times taught us, do we think we are able to start again without wanting to break down the social and economic barriers that we had and of which we should now better understand their limits or their uselessness?*

Well, to avoid the simple and apparently painless “return to the past” that so many of us are looking forward to – even if I may sound unpleasant or presumptuous – I hope, among the various reopening programs which we hear talking about so much, that minds will be “reopening” too, with mass participation. And those will be the same masses we will (finally, I wish I could say!?) begin to see around the cities’ streets on Saturday afternoon.

It is about time! Let us open our minds. Let us open that parachute and land on our lives again, treasuring the precious teachings of those who leave us the experience of a long flight in free fall.

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

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

Proteine animali trasformate nei mangimi 2021

Regolamento 1560/2020: modifiche agli schemi operativi e all'espressione dei risultati per garantire chiarezza e certezza di diritto

- Dott.ssa Valeria R. Giancotti, Responsabile Tecnico di Laemmegroup
- Dott.ssa Chiara Mulasso, Responsabile Analisi Istologiche di Laemmegroup

A dicembre dello scorso anno è stato pubblicato in Gazzetta Ufficiale il **Regolamento di esecuzione UE 2020/1560** che modifica l'allegato VI del Reg. CE 152/2009 sui metodi di analisi per la determinazione dei costituenti di origine animale nell'ambito dei controlli ufficiali degli alimenti per animali.

Le principali novità riguardano:

- il **protocollo operativo** che deve essere seguito per controllare l'applicazione dei divieti di cui all'articolo 7 e all'allegato IV del regolamento (CE) n. 999/2001;
- l'**espressione dei risultati che pone il focus sui vertebrati terrestri** e non più genericamente sugli animali terrestri.

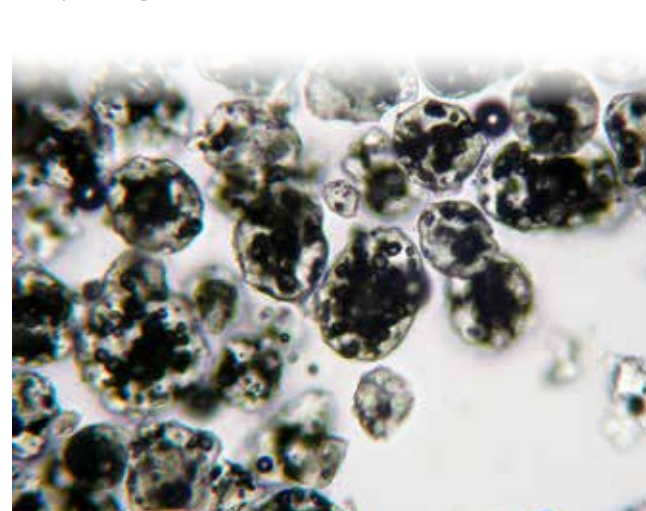
Inoltre esplicita tra i costituenti di origine animale individuabili al microscopio i **globuli di latte e i cristalli di lattosio**.

Tali modifiche si sono rese necessarie per garantire chiarezza e certezza di diritto e per evitare sia interpretazioni divergenti e sia l'esecuzione di analisi non necessarie garantendo al contempo il monitoraggio sicuro dei prodotti.

Il **Regolamento di esecuzione UE 2020/1560** modifica l'allegato VI del Reg. CE 152/2009 che fissa i metodi di analisi per la determinazione dei costituenti di origine animale nell'ambito dei controlli ufficiali degli alimenti per animali. L'allegato VI aveva già subito importanti modifiche nel 2013 quando al metodo microscopico per la ricerca dei costituenti di origine animale era stato affiancato il metodo basato sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) che consentiva, e consente tuttora, di identificare come ruminanti tali costituenti.

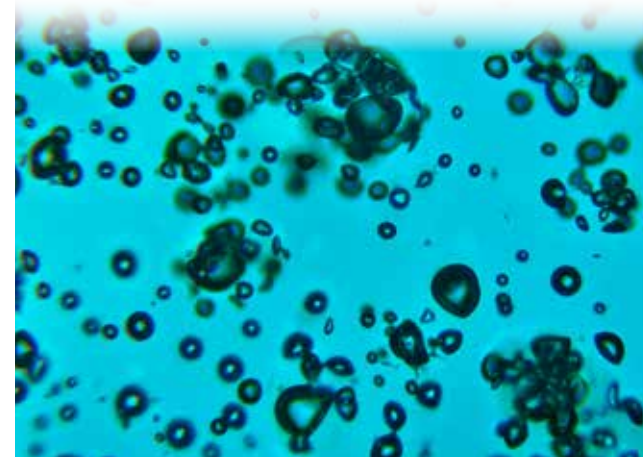
Immagine microscopica con tecnica a fresco, ingrandimento 20x: globuli di latte in polvere.

FRESH technique, 20x magnification - Microscopic image of milk powder globules.



Il nuovo Regolamento si appoggia alle procedure operative redatte dal Laboratorio Europeo di Riferimento, alcune delle quali sono da ritenersi obbligatorie per la corretta applicazione del regolamento (<https://www.eurl.craw.eu/legal-sources-and-sops/method-of-reference-and-sops/>). In particolare la procedura operativa riportata dall'EURL-AP (*European Union Reference Laboratory for Animal Proteins in feedingstuffs*) **"EURL-AP Standard Operating Procedure Operational protocol for the combination of light microscopy and PCR"** descrive lo schema operativo da adottare per

Immagine microscopica, ingrandimento 20x: farina di sangue, reazione positiva alla tetrametilbenzidina con sviluppo di colore azzurro/turchese, associato alla formazione di bolle di ossigeno. *20x magnification - Microscopic image of blood meal. Positive reaction to tetramethylbenzidine with development of blue/turquoise colour, associated with the formation of oxygen bubbles.*



indirizzare il campione all'analisi microscopica o all'analisi PCR, in funzione delle informazioni riportate sul cartellino o degli esiti analitici ottenuti in microscopia (https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2020/12/EURL-AP-SOP-operational-schemes-V4.0_1.pdf).

È importante sottolineare che nell'ambito dei controlli ufficiali a seconda dei costituenti di origine animale dichiarati e/o rilevati deve essere adottata una sequenza specifica di tecniche e di decisioni al fine di evitare di eseguire analisi non necessarie e di garantire, al contempo, un monitoraggio sicuro del prodotto, *Figura 1*.

La microscopia ottica deve essere applicata in primo luogo in tutti i casi eccetto quando il mangime è destinato all'acquacoltura e/o contiene **PAT** e/o derivati del sangue; in tal caso si procede direttamente con analisi in PCR.

Se l'analisi in microscopia ottica rileva la presenza di PAT occorre procedere con il metodo in PCR per accertare o meno la presenza di DNA ruminante.

Il metodo PCR, per contro, non deve essere applicato

a mangimi contenenti latte e derivati in quanto la presenza di DNA ruminante porterebbe, correttamente, ad un risultato positivo in PCR.

In questi casi solo l'analisi microscopica riesce a discriminare se la presenza di costituenti di origine animale è dovuta a globuli di latte e cristalli di lattosio, il cui uso è consentito in tutte le specie animali, oppure a frammenti ossei, cartilaginei o muscolari oppure ancora a peli o piume.

Nella stessa procedura si riporta anche un riassunto esplicativo delle proteine animali trasformate e dei costituenti di origine animale attualmente autorizzati (A) o vietati (U) in EU nei mangimi per animali. Dalla tabella si evince ad esempio come le PAT di ruminanti sono autorizzate solo per gli animali domestici e gli animali da pelliccia, mentre il latte e derivati, uova e derivati, colostro e derivati siano autorizzati per tutte le categorie.

Le analisi sopra descritte sono fondamentali in regime di autocontrollo ogniqualvolta sia necessario verificare la composizione dei mangimi o delle materie prime in ingresso per valutare la conformità e/o individuare

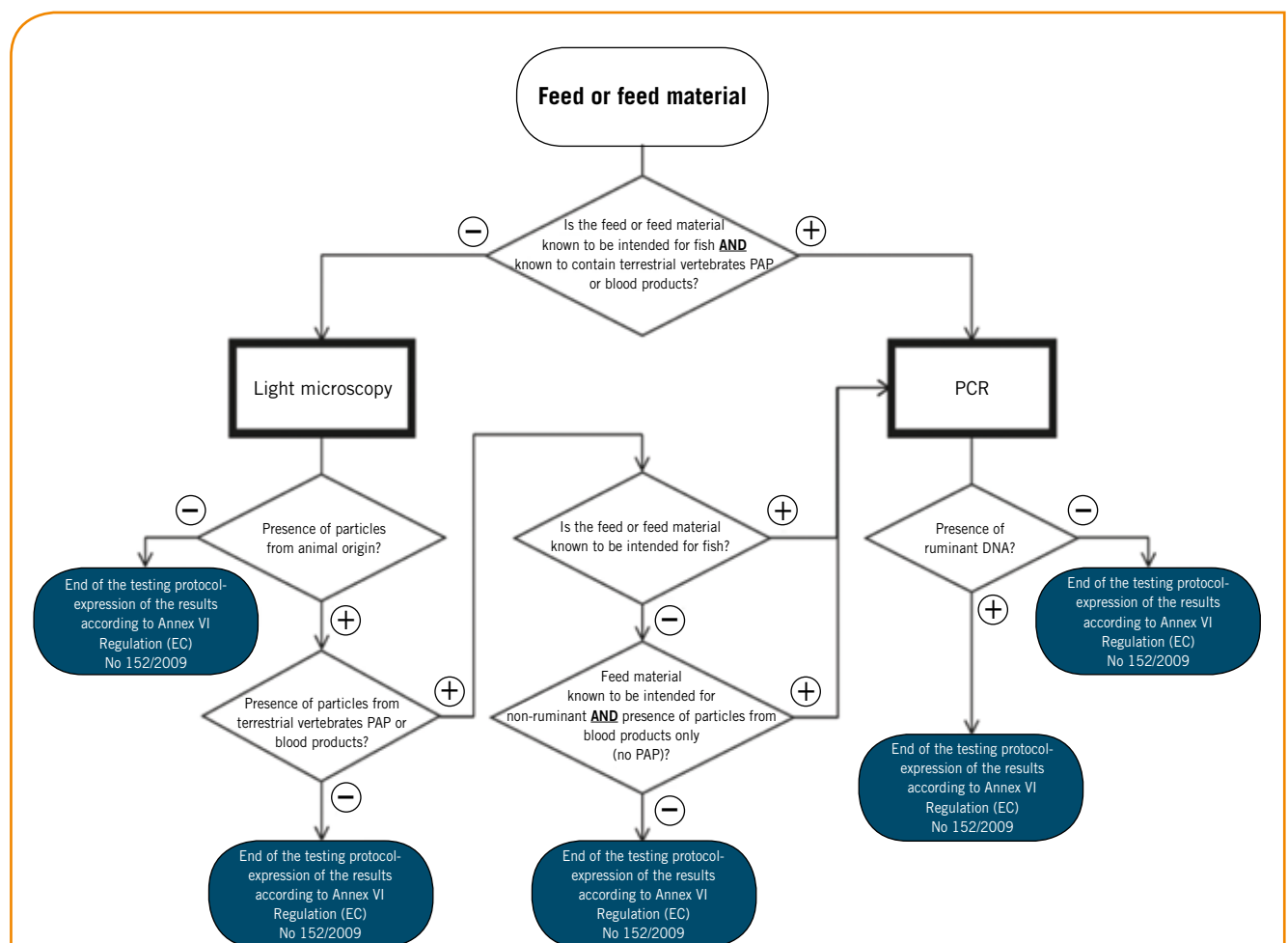


Figura 1: Protocollo operativo per l'analisi dei mangimi e delle materie prime per mangimi (NOTA: PAP processed animal proteins = PAT proteine animali trasformate).

Figure 1: Operational protocol for the analysis of feed or feed material (NOTE: PAP = processed animal proteins).



eventuali cross contaminazioni da trasporto o da linea produttiva evitando così eventuali presenze indesiderate sul prodotto finito.

Ad esempio la farina di pesce che è autorizzata in tutte le categorie riportate in *Tabella 1*, eccetto che per

i ruminanti, può diventare un problema se contamina le linee di mangime dedicate ai ruminanti o linee di mangime tipo Vegan, o linee di mangimi per suini, perché sebbene utilizzabile, se la presenza non viene riportata in etichetta costituisce frode.

	Feed for farmed animals other than fur animals			
	Ruminants	Non ruminants (except aquaculture)	Aquaculture	Pets and fur animals
Ruminant PAP (incl. ruminant blood meal)	U	U	U	A
Ruminant blood products	U	U	U	A
Non-ruminant blood products	U	A	A	A
Non-ruminant PAP	U	U	A	A
Non-ruminant blood meal	U	U	A	A
Insect PAP	U	U	A	A
Fishmeal	U*	A	A	A
Ruminant collagen and gelatine	U	U	U	A
Non-ruminant collagen and gelatine	A	A	A	A
Hydrolysed proteins from ruminants other than those derived from hides and skins	U	U	U	A
Hydrolysed proteins from ruminants derived from hides and skins	A	A	A	A
Hydrolysed proteins from non-ruminants	A	A	A	A
Di and tricalcium phosphate of animal origin	U	A	A	A
Eggs and egg products, milk and milk products, colostrum and derivatives	A	A	A	A
Animal proteins other than those mentioned ones	U	A	A	A

U: unauthorised - A: authorised
*: Fishmeal is allowed for unweaned ruminants in milk replacers

Tabella 1: proteine animali trasformate e costituenti di origine animale attualmente autorizzati (A) o vietati (U) in EU nei mangimi per animali.

NOTA: PAP non include prodotti sanguigni, latte, prodotti a base di latte, prodotti derivati dal latte, colostro, prodotti a base di colostro, fanghi di centrifughe o separatori derivanti dalla lavorazione del latte, gelatina, proteine idrolizzate e fosfato bicalcico, uova e prodotti a base di uova, compresi gusci d'uovo, fosfato tricalcico e collagene. Tuttavia, PAP include farine di pesce e sangue.

Table 1: Processed animal proteins and constituents of animal origin currently authorised (A) or unauthorised (U) in the EU in animal feed.

NOTE: PAP does not include blood products, milk and derivatives, dairy products, colostrum, colostrum products, sludges from centrifuges or milk separators, gelatine, hydrolysed proteins and dicalcium phosphate, eggs and egg products, including egg shells, tricalcium phosphate and collagen. However, PAP includes fishmeal and blood.

Si riporta uno schema esplicativo circa le novità introdotte e le relative conseguenze pratiche.

PRINCIPALI NOVITA'	CONSEGUENZE PRATICHE
<p>Il campione deve sempre essere accompagnato dal cartellino sul quale devono essere riportati gli ingredienti e la destinazione d'uso del prodotto. Tale novità ha principalmente validità in ambito di controllo ufficiale.</p> <p>In regime di autocontrollo il cliente può non fornire il cartellino.</p>	<p>In base alle informazioni riportate sul cartellino, il laboratorio, seguendo lo schema operativo descritto: https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2020/12/EURL-AP-SOP-operational-schemes-V4.0_1.pdf deciderà se indirizzare il campione all'esame microscopico o alla PCR.</p> <p>In assenza di cartellino sarà il cliente a definire quale analisi condurre.</p>
<p>Il metodo microscopico consente l'identificazione visiva di crystalloidi di lattosio e di globuli di latte.</p>	<p>Se sul cartellino è dichiarata la presenza di latte o derivati del latte oppure la loro presenza è stata rilevata alla microscopia, sul campione NON deve essere effettuata la PCR per ricerca del DNA ruminante perché la stessa risulterebbe positiva mentre il latte è autorizzato nella formulazione dei mangimi per tutte le specie animali.</p>
<p>La microscopia rileva la presenza di costituenti di origine animale non dichiarati in etichetta.</p>	<p>L'analisi deve essere ripetuta una seconda volta.</p> <p>L'analisi dovrà essere ripetuta una seconda volta anche in assenza di etichetta.</p>
<p>Il limite di decisione per considerare un campione positivo per la presenza di costituenti di origine animale varia in funzione del numero di determinazioni effettuate.</p>	<p>Se sul campione viene effettuata una sola determinazione il limite di decisione è di 5 particelle di pesce o di vertebrato terrestre.</p> <p>Se sul campione vengono effettuate due determinazioni il limite di decisione è raddoppiato ed alzato a 10.</p>
<p>Il termine vertebrati terrestri sostituisce quello più generico di animali terrestri.</p>	<p>Il termine "vertebrati terrestri" non include gli insetti, la cui presenza resta al momento NON rilevabile alla microscopia pur essendo il loro impiego autorizzato solo per l'acquacoltura, i pets e gli animali da pelliccia.</p>
<p>Il risultato Dubbio viene espresso come sotto il limite di decisione del metodo.</p>	<p>Viene eliminata la frase secondo cui, dato il basso numero di particelle animali, sotto il limite di rilevabilità del metodo non possa essere escluso il rischio di un risultato falso positivo.</p>

In conclusione in ambito di controlli ufficiali il cartellino rimane lo strumento principale per discriminare tra la conformità o meno del campione analizzato, perché qualsiasi risultato determinato assumerà il giusto significato solo alla luce di quanto dichiarato in etichetta in termini di ingredienti e di destinazione d'uso.

In regime di autocontrollo, invece, operando a volte anche in assenza di cartellino e/o a verifica del cartellino, sarà il cliente a definire quali analisi condurre, se in PCR o in microscopia a seconda della motivazione per la quale si richiede l'analisi.

Animal protein processed in feed 2021

Regulation (EU) 2020/1560 to ensure clarity and legal certainty: newly applied changes to operational schemes and expression of results



- Dr. Valeria R. Giancotti, Technical Manager at Laemmegroup
- Dr. Chiara Mulasso, Histological Sector Manager at Laemmegroup

In December 2020, the Official Journal of the EU released the publication of the **Commission Implementing Regulation (EU) 2020/1560**, which amends Annex VI of Commission Regulation (EC) No 152/2009 on the analytical methods for the determination of constituents of animal origin in the context of official controls of animal feed.

The main changes concern:

- the **operational protocol** that should be followed to verify the application of the prohibitions referred to in Article 7 and Annex IV of Commission Regulation (EC) No 999/2001;
- the **expression of the results that now focuses on terrestrial vertebrates** instead of *terrestrial animals* in a more generic manner

Furthermore, it declares **milk globules and lactose crystals** among the constituents of animal origin that can be identified under the microscope.

These changes were necessary to ensure clarity and legal certainty as well as to avoid both different interpretations and the execution of unnecessary analyses while ensuring a safe monitoring of products.

The **Commission Implementing Regulation (EU) 2020/1560** amends Annex VI of Commission Regulation (EC) No 152/2009 on the analytical methods for the determination of constituents of animal origin in the context of official controls of animal feed. Annex VI had already undergone important changes in 2013: the microscopic method for the research of constituents of animal origin was combined to the method based on the polymerase chain reaction (PCR) allowing the identification of these constituents as ruminants.

The new Regulation is based on the operational procedures drawn up by the European Union Reference Laboratories, some of which are to be considered mandatory for the correct application of the Regulation (<https://www.eurl.craw.eu/legal-sources-and-sops/method-of-reference-and-sops/>). In particular, the operational procedure reported by the EURL-AP (European Union Reference Laboratory for animal proteins in feedingstuffs) **"EURL-AP Standard Operating Procedure Operational protocol for the combination of light microscopy and PCR"** describes the operational scheme to adopt in order to send the sample to either microscopic examination or PCR analysis depending on the information on the label or on the analytical results obtained with microscopy (<https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2020/12/EURL-AP-SOP-operational-schemes-V4.0.1.pdf>).

In the context of official controls, it is important to highlight that, according

to the declared and/or detected constituents of animal origin, a specific series of techniques and decisions should be adopted in order to avoid unnecessary analyses and ensure a safe product monitoring, **Figure 1 (italian version)**.

Optical microscopy should be applied primarily in all cases except when feed is intended for aquaculture and/or contains **PAP** and/or blood derivatives.

In case of blood derivatives, PCR analysis is to be performed.

If optical microscopy analysis detects the presence of PAP, it is necessary to proceed with the PCR method to determine the presence or absence of ruminant DNA.

The PCR method, on the other hand, should not be used for feed containing milk and derivatives as the presence of ruminant DNA is likely to give a positive result.

In these cases, only microscopic analysis is able to assess whether the presence of constituents of animal origin is due to either milk globules and lactose crystals – whose use is permitted in all animal species – or bone, cartilage or muscle fragments, or hair or feathers.

The same procedure also reports an explanatory summary of the processed animal proteins and constituents of animal origin currently authorised (A) or unauthorised (U) in the EU in animal feed, Table 1. The table shows, for instance, how the PAP of ruminants are authorised only for pets and fur animals, while milk and deriva-

tives, eggs and derivatives, colostrum and derivatives are authorised for all categories.

The analyses described above are essential in a self-control regime whenever it is necessary to verify the composition of new feed or raw materials in order to assess compliance and/or identify any cross contamination from transport or from the production line, thus avoiding any contamination of the finished product.

For example, fishmeal, which is authorised for all categories listed in **Table 1 (italian version)** except for ruminants, may pose a problem if it contaminates either vegan feed lines, ruminant feed lines or pig feed lines. If the presence of fishmeal is not reported on the label, it constitutes fraud.

In conclusion, in the context of official controls, the label remains the main tool to use to assess the conformity of a given sample.

This is because any determined result will assume the right meaning only in the light of the ingredients and intended use indicated on the sample's label.

Under self-control regime, where samples might not be labelled or labels are not verified, the client will choose which type of analysis should be carried out – whether PCR or microscopy, depending on the reason for which the analysis is requested.

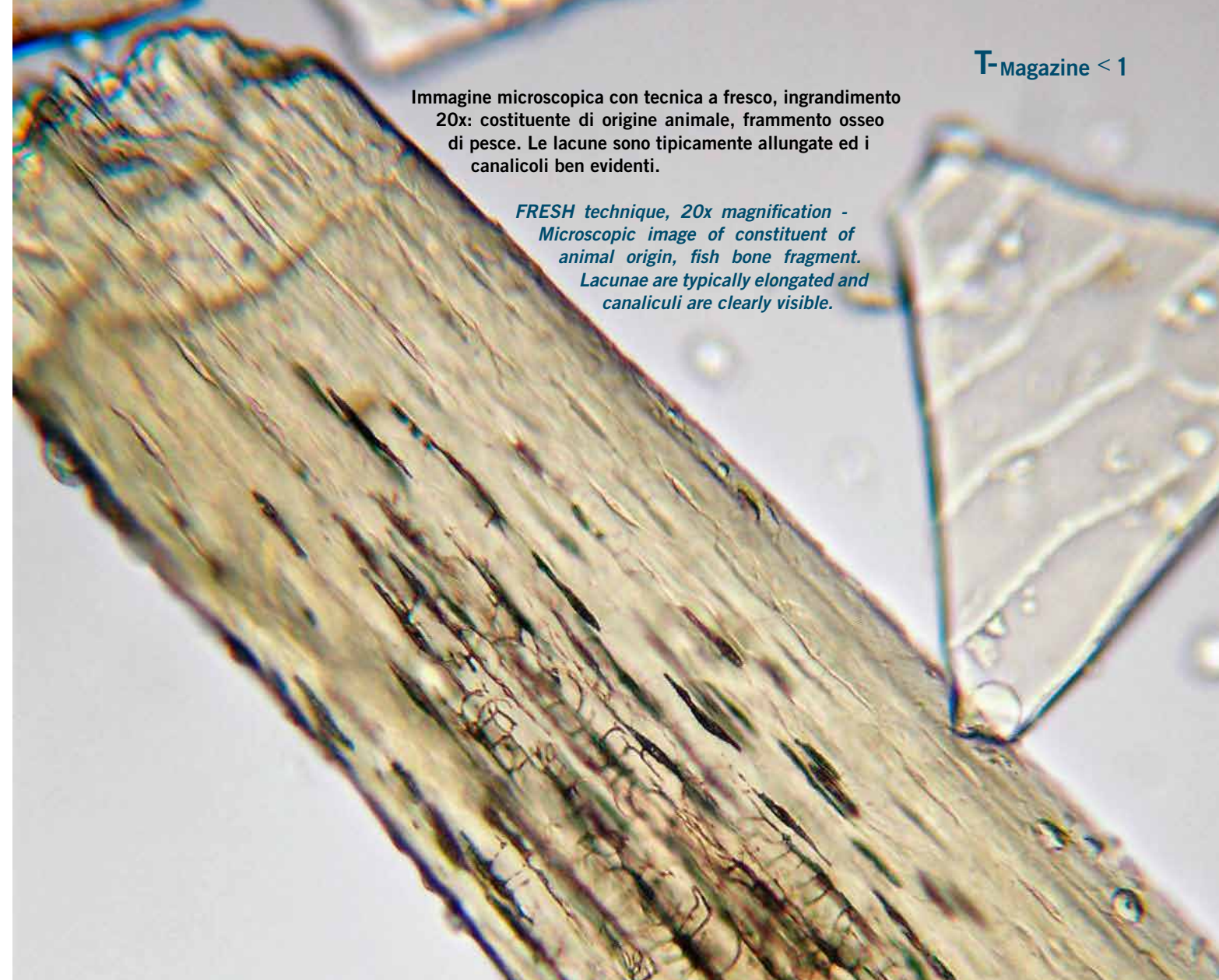


Immagine microscopica con tecnica a fresco, ingrandimento 20x: costituente di origine animale, frammento osseo di pesce. Le lacune sono tipicamente allungate ed i canalicoli ben evidenti.

FRESH technique, 20x magnification - Microscopic image of constituent of animal origin, fish bone fragment. Lacunae are typically elongated and canaliculi are clearly visible.

Below is table on the newly applied changes and their practical implications.

MAIN CHANGES	PRACTICAL IMPLICATIONS
<p>The sample should always have a label indicating ingredients and the product's intended use. This change is mainly valid in the field of official control.</p> <p>Under self-control regime, the client may choose not to provide a label.</p>	<p>Following the operational scheme described here: https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2020/12/EURL-AP-SOP-operational-schemes-V4.0.1.pdf and based on the information on the label, the laboratory will decide whether to send the sample to microscopic examination or PCR.</p> <p>In case the sample has not been labelled, the client will choose which type of analysis should be carried out.</p>
<p>The microscopic method allows the visual identification of lactose crystals and milk globules.</p>	<p>If the presence of milk or milk derivatives is either declared on the label or detected under microscope, a PCR analysis for the detection of ruminant DNA should NOT be performed because it is likely to give a positive result. Indeed, milk is authorised in the formulation of feed for all animal species.</p>
<p>Microscopy detects the presence of constituents of animal origin not declared on the label</p>	<p>The analysis should be carried out a second time – even when the sample is not labelled.</p>
<p>The decision limit for a sample to be considered positive to constituents of animal origin varies according to the number of determinations made.</p>	<p>If only one determination is made on the sample, the decision limit is 5 particles of fish or terrestrial vertebrate. If two determinations are made on the sample, the decision limit is set to 10.</p>
<p>The term 'terrestrial vertebrates' replaces the more generic term 'terrestrial animals'</p>	<p>The term 'terrestrial vertebrates' does not include insects, whose presence is currently NOT detectable by microscopy even though their use is authorised only for aquaculture, pets and fur animals.</p>
<p>The doubtful result is expressed as below the decision limit of a given method</p>	<p>The sentence stating that the risk of a false positive result cannot be excluded in case the number of animal particles is below the detection limit of a given method is deleted.</p>

Il campionamento: il primo step per un processo analitico vincente

Claudia Reggiani, Responsabile Logistica di Tentamus AgriParadigma

Il risultato analitico è la risultante di molteplici passaggi, più o meno complessi, le cui variabili potrebbero influenzare il risultato finale.

La crescente attenzione della Comunità Europea verso le problematiche legate agli aspetti igienico sanitari degli alimenti, ha conosciuto una importante accelerazione negli anni '90 che, con l'avvento del Mercato Unico, hanno visto nascere un nuovo diritto europeo sulla sicurezza alimentare e l'emanazione di normative di riferimento atte a tutelare la salute del consumatore finale.

In principio, le direttive 93/43/CEE e 96/3/CE introducevano le basi sull'autocontrollo e sull'igiene nel settore alimentare, ispirandosi al metodo HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point). Successivamente, sono entrati in vigore regolamenti e direttive sempre più specifiche e stringenti, che, di fatto, hanno portato al passaggio dal regolamento CE 178/2002 ai Regolamenti CE 852/2004 - CE 853/2004 - CE 854/2004 - CE 882/2004 e alla Direttiva 2004/41/EC. Ha preso vita, così, il "Pacchetto Igiene", entrato in vigore nel 2006. La grande distribuzione organizzata ha svolto un ruolo altrettanto fondamentale in questo processo, richiedendo ai propri fornitori e rivenditori, di adeguarsi progressivamente a standard internazionali di elevata qualità e sicurezza dei prodotti alimentari come **BRC e IFS**. L'aumento dell'attenzione nei confronti della salute del consumatore ha indotto un cambiamento anche nell'attività dei laboratori che operano nel settore alimentare; questi ultimi sono chiamati, non solo a fornire un "risultato", obiettivo primario della loro attività analitica, ma anche ad assistere il Cliente durante tutta la fase di prelievo e trasporto del campione, per garantire l'affidabilità di quel "risultato".

Il primo step per un processo analitico vincente è, infatti, il campionamento, che, se eseguito in modo non corretto rischia di vanificare il miglior processo analitico e invalidarne il risultato.

Per questo motivo, nel flusso delle attività del laboratorio, esso rappresenta, oggi, una delle fasi preliminari imprescindibili, anche quando è effettuato a cura del Cliente, che si assume la responsabilità della preparazione del campione e la raccolta delle informazioni necessarie.



Le norme specifiche sul campionamento e sulla corretta gestione dei campioni acquisiti sono molteplici. Diventa, così, fondamentale il supporto fornito dal laboratorio al Cliente per aiutarlo ad orientarsi in questo crescente numero di informazioni.

Il laboratorio è tenuto a fornire al Cliente, che non utilizzi il servizio messo a punto dallo stesso, tutte le istruzioni necessarie su: modalità di campionamento, trasporto e tempistiche per la messa in analisi nell'osservanza della normativa cogente.

In questo modo, sarà assicurata un'aliquota rappresentativa del prodotto e la possibilità di verificarne la sua conformità ai requisiti di legge o a capitolati specifici. I punti critici del campionamento e delle sue fasi immediatamente successive riguardano principalmente:



- **la quantità di prodotto:** esiste sempre una quantità minima di prodotto, al di sotto della quale l'analisi perde di significato. Ciascun metodo richiede un quantitativo di campione adeguato che varia a seconda della tipologia di prova. A fronte di ciò, il laboratorio supporta i propri clienti fornendo loro indicazione sulle quantità minime necessarie, fatto salvo, ovviamente, l'esistenza di normative specifiche.



- **le condizioni di conservazione e trasporto:** il campione deve arrivare in laboratorio in confezione integra, conservato e trasportato a temperatura idonea affinché mantenga le stesse caratteristiche possedute al momento del prelievo.



- **le tempistiche per l'inizio dell'analisi:** conoscere la data e l'ora precisa di campionamento è indispensabile per constatare che non sia trascorso troppo tempo dal prelievo dello stesso e i parametri testati siano ancora simili a quelli del prodotto iniziale. Questo aspetto riguarda molti parametri microbiologici e alcuni parametri chimici (ad es: nelle acque).

Un corretto campionamento è essenziale per ottenere risultati affidabili nelle successive fasi analitiche.

Per questo motivo, la normativa internazionale per l'accreditamento dei laboratori regola oggi, in modo sempre più stringente, la fase che precede quella strettamente analitica, imponendo di verificare, in fase di accettazione, la rispondenza del campione ai requisiti corretti di campionamento e sue fasi successive, fino a chiedere la segnalazione sul rapporto di prova finale di eventuali scostamenti rilevanti.

A titolo esemplificativo, possiamo citare il campionamento di acqua da sottoporre ad analisi batteriologica e chimica.

In questo caso, i contenitori devono essere scelti a seconda delle caratteristiche della fonte di presa.

Per acqua trattata con cloro, si dovrà utilizzare un contenitore sterile addizionato con **Tiosolfato**, che ne neutralizzi l'attività durante il suo trasporto fino al laboratorio.

Diversamente, se l'acqua proviene da fonti naturali e non addizionate con cloro, si procederà utilizzando solamente un contenitore sterile.

Per campioni destinati al controllo di parametri chimici, dovranno essere utilizzati, invece, contenitori in vetro o PET.

Capita spesso, infatti, di non poter procedere alle analisi chimiche delle acque poiché consegnate in contenitori addizionati con Tiosolfato, in quantitativi insufficienti o con tempistiche di arrivo in laboratorio inadeguate che potrebbero, quindi, provocare interferenze e invalidare il risultato.

Altro esempio è dato dal campionamento dei tamponi di superficie, che cambiano a seconda della ricerca a cui sono destinati: stick umidi con liquido di trasporto per analisi microbiologiche, a secco per allergeni, sponge stick per tensioattivi.

Eseguito il prelievo, il trasporto deve avvenire a temperatura controllata, d'obbligo per i campioni freschi da sottoporre ad analisi microbiologiche, consigliato invece per i deperibili destinati a quelle chimiche.

Il controllo delle temperature, durante il trasporto, è importante quanto il campionamento perché potrebbe invalidare anch'esso il risultato finale.

La sfida del Gruppo Tentamus in Italia è, ad oggi, quella di far giungere i campioni al laboratorio con tempistiche sempre più ristrette, in condizioni di trasporto ottimali, al fine di preservare le caratteristiche del prodotto originario e assicurare, così, l'inalterabilità del dato anche per i passaggi successivi.

Per questo, negli ultimi anni, il Gruppo ha deciso di investire importanti risorse nel servizio di campionamento, strutturando una logistica capillare.

Attraverso l'apertura di nuove Hub di scambio attrezzate e di tecnici qualificati, dotati di mezzi refrigerati e dislocati su specifiche aree, siamo in grado gestire, in tempo reale, tutte le urgenze o necessità particolari dei nostri Clienti.



Sampling: the first step for a successful analytical process

Claudia Reggiani, Logistics Manager at Tentamus AgriParadigma



The analytical outcome is the result of more or less complex multiple steps whose variables may affect the final result.

The growing attention of the European Community towards problems linked to food health and hygiene experienced an important acceleration in the 90s. With the advent of the single market, a new European law on food safety was enacted and reference regulations aimed at protecting the health of the end consumer were also introduced.

Initially, Council Directives 93/43/EEC and 96/3/EC introduced the basis for self-control and hygiene in the food sector, inspired by the HAC-CP system (Hazard Analysis Critical Control Point). Stricter and more specific regulations and directives later came into force, leading to the transition from Regulation No (EC) 178/2002 to Regulations No (EC) 852/2004, No (EC) 853/2004, No (EC) 854/2004, No (EC) 882/2004 and Directive 2004/41/EC. Thus, the so-called "Hygiene Package" came into effect in 2006.

Large-scale distribution has played an equally fundamental role in this process, requiring its suppliers and retailers to progressively adapt to international standards of high quality and safety of food products such as

BRC and IFS.

The increase in attention to consumer health has also led to a change in the activity of laboratories operating in the food sector. These laboratories are required to provide a "result" as the primary objective of their analytical activity as well as to support the customer throughout the sample collection and transport phase to ensure the reliability of that "result".

The first step for a successful analytical process is a good sampling practice. If sampling is performed incorrectly, the best analytical process may be compromised and the result may end up being invalidated. For this reason, in the laboratory workflow, sampling represents today one of the essential preliminary phases – even when it is carried out by the client who takes responsibility for preparing the sample and collecting necessary information.

There are multiple specific rules on sampling and on the appropriate handling of the acquired samples. And given the growing amount of information required, the support the laboratory provides to the client becomes a very important guidance tool.

The laboratory should provide the client with all the necessary instructions on sampling methods, transport and timing for analysis in compliance with mandatory legislation.

In this way, it will be possible to ensure a representative portion of the product and the possibility of verifying its compliance with legal requirements or definite specifications.

The critical points of sampling and its following phases mainly concern:



Product quantity: there is always a minimum quantity of product below which the analysis loses its purpose. Each method requires an adequate amount of sample quantity which varies according to the type of test. In view of this, the laboratory supports its clients by providing them with information on the minimum quantities required, also considering any specific regulations to be applied.



Storage and transport conditions: the sample should arrive in the laboratory unopened, stored and transported at a suitable temperature so that it maintains the same characteristics as it was at the time of collection.



Timing for the start of the analysis: it is essential to know the exact date and time of sampling to ensure that not too much time has passed since sampling and that the tested parameters are still similar to those of the initial product. This aspect concerns many microbiological parameters and a few chemical parameters (e.g.: in water).

Correct sampling is essential to obtain reliable results in the following analytical steps.

For this reason, nowadays the international legislation for the accreditation of laboratories regulates more and more strictly all steps before the analysis itself. For instance, in the acceptance phase, the compliance of the sample with the correct sampling requirements must be verified, or any significant deviations must be reported on the final test report.

By way of example, we can mention water sampling for bacteriological and chemical analysis.

In this case, the containers must be chosen according to the source characteristics.

For water treated with chlorine, a sterile container with added **thiosulfate** should be used to neutralise any activity during its transportation to the laboratory.

If the water comes from natural sources and it is not added with chlorine, a sterile container will be enough.

For samples intended for the control of chemical parameters, glass or PET containers should be used instead.

There are often cases in which the chemical analysis of the water cannot be carried out as it is delivered in the wrong container, in insufficient quantities or with inadequate arrival times which may compromise and invalidate the analytical result.

Another example is the sampling of surface swabs. There are different types according to the research they are intended for: wet swab soaked in transportation liquid for microbiological analyses, dry swab for allergens, sponge swab for surfactants.

Once the sample has been collected, the transport should take place at a controlled temperature – it is mandatory for fresh samples to be subjected to microbiological analysis, but recommended for perishable samples intended for chemical analysis. Temperature control during transport is as important as sampling because it could also invalidate the final result.

The challenge of Tentamus Group Italy is to make sure that samples arrive at the laboratory with increasingly tighter timing and under optimal transport conditions so that the original characteristics of the product are preserved and data results remain unchanged throughout all analysis steps.

For this reason, in recent years, the Group has decided to invest significant resources in the sampling service, structuring intense logistics activities.

We are able to satisfy any particular need or handle any urgent request from our clients thanks to our qualified technicians, our refrigerated vehicles located in specific areas and the opening of new equipped exchange Hubs.

L'importanza della Data Integrity negli studi condotti in accordo con le BPL

Emanuele Morganti, Responsabile Qualità di Renolab

Da quando ci svegliamo a quando andiamo a letto, andiamo a correre, fotografiamo qualcosa, facciamo acquisti o scriviamo un articolo, ci serviamo di strumenti informatici ormai quasi automaticamente, inconsciamente, aspettandoci risultati immediati ed esatti.

Immaginiamo che tutto ciò non si verifichi affatto: che la sveglia sul nostro telefonino suoni un'ora più tardi, che i nostri battiti cardiaci vengano conteggiati una volta sì e due no, che le nostre ricevute di acquisto contengano uno zero a destra in più del dovuto... E che le mie parole vengano riportate alla rinfusa in questa pagina. Ipotizziamo che tutto ciò accada, anche involontariamente, per un semplice errore di trascrizione, trasmissione o per un'incertezza su una cifra. Questi scenari potrebbero verificarsi continuamente se i dati che consideriamo affidabili venissero in qualche modo alterati, corrotti, replicati in modo errato e, di conseguenza, perdessero la loro integrità.

La finalità di un Centro di Saggio BPL, come Renolab, è di produrre dati da usare a scopo regolatorio, assicurandone la qualità, l'efficacia, la sicurezza e l'integrità. La cosa più importante, per l'Autorità ricevente, è potersi fidare dei risultati degli studi.

La Data Integrity riguarda, infatti, la gestione del dato nell'ambito di tutto il suo ciclo di vita, dalla sua generazione fino alla scadenza del suo periodo di archiviazione e si applica ad ogni sua forma (elettronica o cartacea). La presenza di metadati fornisce dettagli sul contesto quali data, ora e autore; ciò permette di rendere il dato completo e di dimostrare l'assenza di modifiche o cancellazioni.

Il problema dell'integrità dei dati (Data Integrity) ha assunto un'importanza crescente nell'ambito dell'analisi di prodotti chimici, soprattutto per quanto riguarda i controlli a fini regolatori e di registrazione effettuati secondo i principi delle Buone Pratiche di Laboratorio (BPL).

Emanuele Morganti PhD

QA presso Renolab. Laureato in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche, Dottore di Ricerca in Chimica.

Assegnista di Ricerca Progetto Ministeriale: VulCan, "Vulnerabilità ai Cannabinoidi". Visiting scientist presso il King's College London Drug Control Centre ente accreditato WADA (World Anti-Doping Agency).

Ha pubblicato 8 lavori su riviste internazionali con impact factor e annovera più di 50 comunicazioni a congresso nell'ambito della chimica analitica.



QA at Renolab. Graduated in Pharmaceutical Chemistry and Technology.

PhD in Chemistry.

Research fellow of the "VulCan" Project on vulnerability to cannabinoids (University of Bologna, Italy)

Visiting scientist at King's College London Drug Control Centre, WADA (World Anti-Doping Agency) accredited body.

He has published 8 papers in international journals with impact factor and counts more than 50 conference papers in the field of analytical chemistry.

La Food and Drug Administration (FDA) ha definito i requisiti fondamentali per la Data Integrity, introducendo l'acronimo "ALCOA" a cui ogni singolo dato deve essere conforme.

- A- Attributable (Attribuibile):** i dati generati devono essere riconducibili al soggetto che ha generato il dato.
- L- Legible (Leggibile):** il dato deve essere leggibile.
- C- Contemporaneous (Contemporaneo):** i dati devono essere registrati al momento dell'esecuzione del lavoro.
- O- Original (Originale):** il dato deve essere originale.
- A- Accurate (Accurato):** i dati registrati devono essere completi e veritieri senza errori o modifiche.

Ai requisiti "ALCOA", l'European Medicine Agency (EMA) ne ha aggiunti altri 4, "CCEA", detti anche ALCOA+: C- Complete (Completo); C- Consistent (Coerente); E- Enduring (Duraturo); A- Available (Accessibile).

Negli ultimi anni, l'aumento di consapevolezza e attenzione nei confronti di queste tematiche ha portato a conseguenze di rilevanza internazionale. Dal luglio 2014, l'FDA ha emesso un numero sempre crescente di warning letters sulla Data Integrity. Infatti, in seguito a visite ispettive, le violazioni della Data Integrity rilevate rappresentano oltre il 40% delle warning letters emesse dall'US Food and Drug Administration (FDA) a livello globale. Nel gennaio 2015 la MHRA (Medicines and Healthcare Products Agency) del Regno Unito ha pubblicato il documento "GMP Data Integrity Definitions and Guidance for Industry" sulle linee guida in materia di Data Integrity. Un nuovo documento dell'OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), della serie dedicata alla BPL, è in via di emissione definitiva e riguarderà la Data Integrity (OECD Draft Advisory Document of the Working Group

on Good Laboratory Practice on GLP Data Integrity, August 2020).

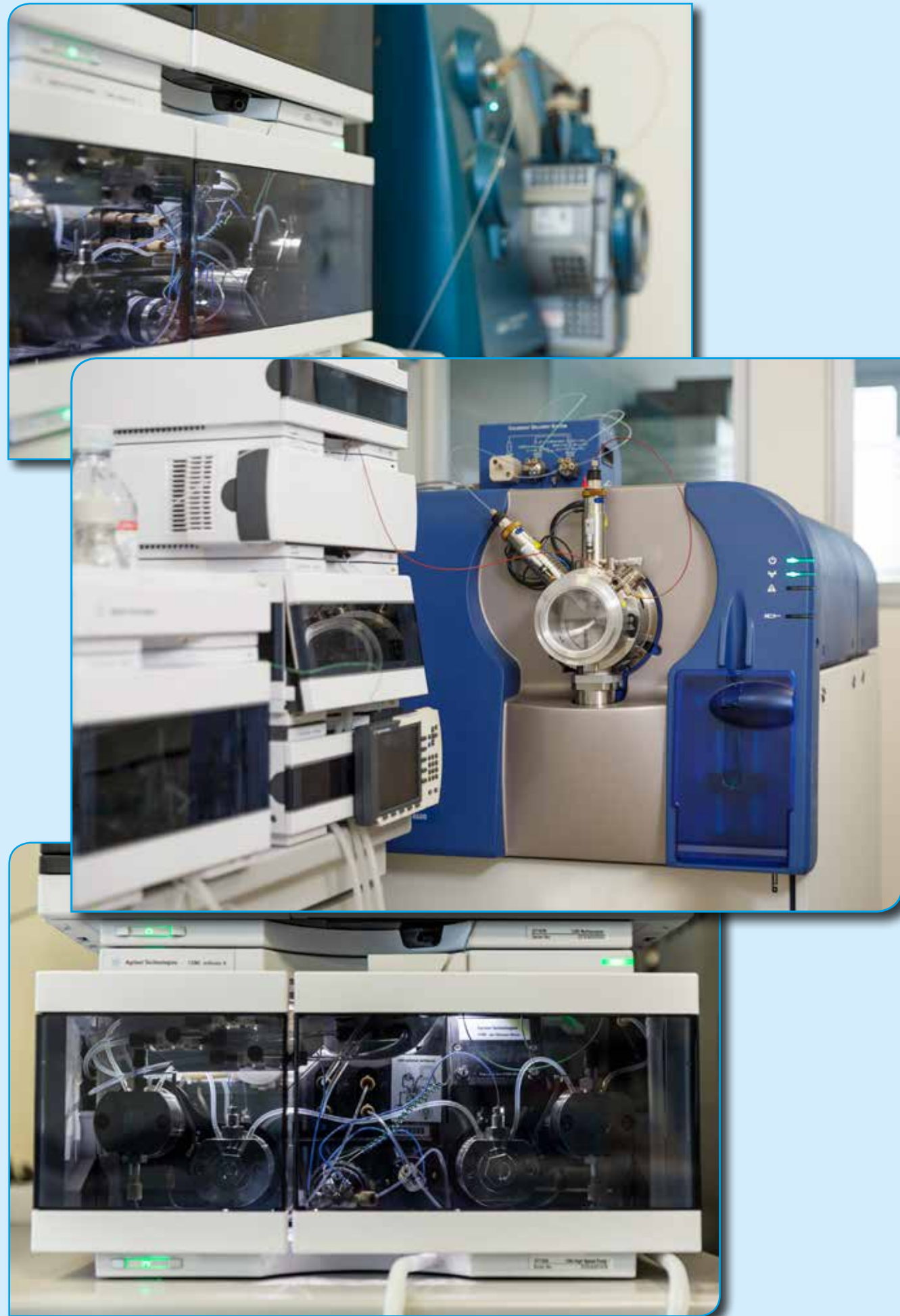
La commissione incaricata sta lavorando per rendere le indicazioni ivi contenute coerenti con l'attuale documento guida dell'OECD sui sistemi computerizzati (OECD Series on Principles of GLP, No. 17, Application of GLP Principles to Computerised Systems, April 2016).

Tale consensus document introduce un nuovo paradigma per la gestione dei sistemi computerizzati in BPL. La gestione del rischio e il processo di convalida diventano centrali durante l'intero ciclo di vita di un sistema informatizzato.

Infatti, la convalida dei sistemi informatici **(CSV)** è passaggio fondamentale di questo processo. Si tratta di una procedura che riguarda tutto l'hardware, i software e le performance di un sistema analitico ed è una garanzia dell'attendibilità dei dati. Durante il processo di convalida, può emergere la presenza di non conformità ed errori nella gestione dei dati che possono essere valutati, registrati e corretti.

Via via che gli enti regolatori continuano ad affinare i loro approcci per il miglioramento della qualità degli studi, è essenziale comprendere i problemi chiave legati alla Data Integrity ed essere in grado di dimostrare la conformità alle normative in continua evoluzione.

Il Laboratorio Renolab, che dal 1997 è all'avanguardia nel settore delle BPL, si è posto da subito, tra gli obiettivi fondamentali, la gestione delle criticità legate alla Data Integrity, provvedendo alla convalida dei sistemi informatici (al momento conta 8 sistemi analitici convalidati), alla stesura di procedure operative specifiche aggiornate, alla messa a punto di un piano di analisi e valutazione del rischio nella gestione dei dati, alla formazione di personale altamente qualificato e al miglioramento generale della sicurezza della rete interna aziendale.



The importance of Data Integrity in studies carried out in accordance with GLP principles

Emanuele Morganti, Quality Manager at Renolab



From the moment we wake up to when we go to bed, we go for a run, take a picture of something, do shopping or write an article. We use IT tools almost automatically, unconsciously, expecting immediate and exact results.

Let us imagine a different reality: the alarm goes off an hour later, our heartbeats are counted irregularly, our receipts amounts have an extra zero... And that my words appear scattered on this page. Let us assume all that becomes real, even unintentionally, due to a simple transcription or transmission error, or uncertainty about a figure. These scenarios might occur again and again, if the data we consider reliable were in some way altered, corrupted, or incorrectly replicated. They would consequently lose their integrity.

The problem of data integrity has assumed increasing importance in the analysis of chemical products, especially for regulatory and registration controls carried out according to the Good Laboratory Practices (GLP) principles. The purpose of a GLP Test Facility, such as Renolab, is to produce data to be used for regulatory purposes, ensuring its quality, effectiveness, safety and integrity.

The most important thing for the receiving authority is to be able to trust the studies' results.

In fact, data integrity concerns the management of data throughout its life cycle – from its generation to the expiry of its archiving period – and it applies to either electronic or paper form. The presence of metadata provides context details such as date, time and author. This allows to make the data complete and to show the absence of changes or cancellations.

The Food and Drug Administration (FDA) has defined the fundamental requirements for data integrity, introducing the acronym "ALCOA" to which every single data point must comply.

- A- Attributable:** all data generated or collected must be attributable to the person generating the data.
- L- Legible:** all data recorded must be legible (readable).
- C- Contemporaneous:** all data must be recorded at the time the work is performed
- O- Original:** original data, sometimes referred to as source data or primary data, is the medium in which the data point is recorded for the first time.
- A- Accurate:** all data must be complete, truthful, and free from errors or modifications.

The European Medicine Agency (EMA) has added another 4 requirements, i.e. "CCEA", also commonly known as ALCOA-C or ALCOA+: C- Complete; C- Consistent; E- Enduring; A- Available.

In recent years, the increase in awareness and attention to these issues has led to consequences of international significance. Since July 2014, the FDA has issued an ever-increasing number of warning letters on data integrity. In fact, following inspections, the data integrity violations detected represent over 40% of the warning letters issued by the US Food and Drug Administration (FDA) globally. In January 2015 the British MHRA (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency) published the "GMP Data Integrity Definitions and Guidance for Industry" document on data Integrity guidelines. Among the series of documents regarding GLP principles, also a new document of the OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), is being finalised and will concern data integrity (OECD Draft Advisory Document of the Working Group on Good Laboratory Practice on GLP Data Integrity, August 2020).

The responsible commission is working on making the information contained therein consistent with the current OECD guidance document on computerised systems (OECD Series on Principles of GLP, No. 17, Application of GLP Principles to Computerized Systems, April 2016). This consensus document introduces a new paradigm for the management of computerised systems in GLP. Risk management and the validation process become a main focus throughout the life cycle of a computerised system. Indeed, the Computer System Validation (CSV) is a fundamental step in this process. It is a procedure concerning the hardware, software and performance of an analytical system and ensures data reliability. During the validation process, any non-conformities or errors that may emerge in data management can be evaluated, recorded and corrected.

As regulatory bodies continue to refine their approaches to improving the quality of studies, it is essential to understand the key issues related to data integrity and to be able to demonstrate compliance with evolving regulations.

The Renolab Laboratory has been at the forefront in the GLP sector since 1997, placing the management of critical issues related to data integrity among its fundamental objectives right from the start. Renolab provides for IT systems validation (8 analytical systems validated so far), drafting of specific updated operating procedures, development of a risk analysis and assessment plan in data management, training of highly qualified personnel and general improvement of the internal company network security.

Comunicazione interna aziendale: favorire il miglioramento continuo, plasmando una “No blame organization”

Gianmarco Dazza, Operation Manager di Tentamus Italia

Sembra una banalità parlare di concetti ormai associati come il miglioramento continuo e la comunicazione efficace, ma molte delle difficoltà che un'azienda deve affrontare nell'era dell'instant messaging e dei social network, dipendono da una non corretta gestione delle informazioni o addirittura dalla mancanza di comunicazione.

I rapporti, i ruoli e i caratteri delle singole persone in un team comportano già equilibri (o squilibri) che possono compromettere il corretto flusso delle informazioni.

Evitare quindi che l'ambiente e le abitudini aziendali possano accentuare queste difficoltà è un obiettivo imprescindibile per una gestione aziendale efficiente. La soluzione ovviamente non è né unica né semplice, ma ciò che stiamo portando avanti nel Gruppo Tentamus, e che può, e deve essere fatto in un'organizzazione all'avanguardia, è ridurre quanto più possibile i conflitti interni, favorendo una comunicazione priva di facili giudizi.

Questi ultimi infatti possono compromettere i rapporti tra colleghi o portare a logiche di occultamento degli errori, controproducenti al fine del miglioramento continuo.

A suo tempo, Carl Rogers, un noto psicologo americano vissuto agli inizi del secolo scorso, disse: “La tendenza a giudicare gli altri è la più grande barriera alla comunicazione e alla comprensione”. La frase di Rogers sintetizza efficacemente il fatto che evitare di giudicare gli errori altrui favorisce una comunicazione sana, atta più allo sviluppo del futuro che al giudizio del passato.

Con questo, comunque, non si intende giustificare ogni tipo di errore e comportamento, anzi il gruppo Tentamus non tollera e condanna comportamenti fraudolenti o non etici. Ovviamente errori derivanti da frodi intenzionali devono essere disincentivati in ogni modo, ma quelli commessi con le migliori intenzioni e dovuti esclusivamente ad inesperienza o mancanza di informazioni, devono essere in un qualche modo “incentivati” dato che normalmente spostano l'attenzione su aspetti che fino a quel momento non erano stati presi in considerazione e portano a comprendere cosa deve essere ottimizzato nel processo in esame, per evitare di ripeterli in futuro.

Promuovere l'emersione delle anomalie e la loro comunicazione ai rispettivi responsabili, è il primo passo per potere risolvere le irregolarità di un processo produttivo, mentre limitare l'attribuzione della colpa, plasmando una “No blame organization”, porterà a diffondere tra tutti i collaboratori la consapevolezza e la fiducia che nulla di spiacevole potrà derivare dalla comunicazione di un errore commesso e soprattutto dalla volontà di porvi rimedio.

Tentamus
Labs for Life

Gianmarco Dazza

Laureato in Ingegneria Gestionale presso il Politecnico di Milano nel 2005. Dal 2011 nel settore Certification Inspection and Testing. Chief Operating Officer e membro del consiglio di amministrazione di Laemmegroup dal 2017 e di Renolab Srl da 2020.

Nel 2019 ha frequentato la Tentamus Academy, progetto internazionale di formazione, sviluppato e promosso dal Gruppo.

Dal 2021 Operation Manager in Tentamus Italia.



Graduated in Management Engineering from the Politecnico di Milano in 2005. Working in the Certification Inspection and Testing sector since 2011.

Chief Operating Officer and member of the Board of Directors of Laemmegroup and Renolab Srl since 2017 and 2020 respectively.

In 2019 he attended the Tentamus Academy, an international training project developed and promoted by the Group.

Operation Manager in Tentamus Italy since 2021.



Internal business communication: the need to promote continuous improvement, building a “no blame organisation”



Gianmarco Dazza, Operation Manager at Tentamus Italia

It seems trivial to talk about well-established concepts such as continuous improvement and effective communication. However, many of the difficulties that a company faces in the era of instant messaging and social networks come from information mishandling or lack of communication.

It seems trivial to talk about well-established concepts such as continuous improvement and effective communication.

However, many of the difficulties that a company faces in the era of instant messaging and social networks come from information mishandling or lack of communication.

The different roles and personalities of individuals who are part of a team, as well as the relationship between them, already involve dynamics and imbalances that may compromise the right flow of information.

Therefore, preventing the work environment and business habits from accentuating these difficulties is an essential goal for an efficient business management.

The solution is obviously neither one nor simple, but what we are pursuing in the Tentamus Group is to reduce internal conflicts as much as possible, favouring communication without easy judgments.

And this is something every cutting-edge organisation can and should be doing.

In fact, easy judgments may compromise relationships between colleagues or lead to concealing errors, which is actually counterproductive for the purpose of continuous improvement.

Carl Rogers, a well-known American psychologist who lived at the beginning of the last century, once said: “The tendency to judge others is the greatest barrier to communication and understanding”. Indeed, his quote effectively summarises the fact that avoiding judging the mistakes of others favours healthy communication – it focuses on the development of the future rather than on the judgment of the past.

However, this does not intend to justify any type of mistake and behaviour – the Tentamus Group does not tolerate fraudulent or unethical behaviour at any level.

Mistakes coming from intentional fraud must be discouraged in every way, but those committed with the best intentions and due exclusively to inexperience or lack of information should be somehow “incentivised”.

These mistakes usually draw attention to aspects that had never been taken into consideration before and help understanding what needs to be optimised in a given process in order to avoid repeating the same mistakes in the future.

Acknowledging the emergence of anomalies and inform managers promptly via healthy communication is the first step towards the resolution of possible irregularities within a production process. And limiting the attribution of blame, building a “no blame organisation”, will only help spread awareness and confidence that nothing unpleasant can happen if we communicate a mistake made, especially when we are willing to remedy.



TENTAMUS NEL MONDO

L'utilizzo del metodo MALDI-ToF in microbiologia alimentare per la tutela dei consumatori

Dipl. Ing. Paul Andrei, Managing Director di Bav Institute



Nel metodo MALDI-ToF, il campione da analizzare viene colpito da un raggio laser che provoca la frammentazione delle sue molecole e la successiva ionizzazione delle proteine ribosomiali.

Queste proteine cariche positivamente vengono accelerate dal campo elettromagnetico dell'analizzatore di massa. Successivamente viene rilevato il tempo di volo delle proteine, che dipende dalla loro carica e dalla loro massa e, di conseguenza, vengono generati spettri di massa (spettrometria di massa). Questi spettri vengono infine confrontati con un database.

Il database del BAV INSTITUT contiene attualmente oltre 7.000 ceppi di microrganismi.

Per più di sei anni, il BAV INSTITUT utilizza con successo il metodo MALDI-ToF per identificare i microrganismi.

Esistono numerosi studi che dimostrano che i risultati ottenuti con il metodo MALDI-ToF sono equivalenti ai metodi biochimici tradizionali o addirittura più affidabili. Ogni anno nel laboratorio BAV vengono eseguite più di 20.000 identificazioni batteriche.

I clienti possono beneficiare dei preziosi vantaggi di questo metodo:

- Velocità (risultati in pochi minuti)

- Affidabilità
- Riproducibilità

Il BAV INSTITUT offre la possibilità di confrontare ceppi batterici, ad es., di *Listeria monocytogenes*.

Ciò consente di trarre conclusioni sulle cause della contaminazione o sui risultati positivi. Le fonti di contaminazione possono essere identificate ed eliminate più rapidamente poiché i ceppi contaminanti i prodotti finali possono essere confrontati con i ceppi individuati nelle materie prime o nei test ambientali.

Questi risultati sono disponibili lo stesso giorno, successivamente all'isolamento dei ceppi, consentendo un rapido riscontro delle potenziali cause di contaminazione. Di conseguenza, le relative misure preventive possono essere attuate tempestivamente, riducendo al minimo eventuali lesioni economiche ed evitando danni alla salute dei consumatori. Il BAV INSTITUT dispone di metodi che offrono la possibilità di confrontare anche altri ceppi di microrganismi isolati come per es. *Salmonella*, *Bacillus cereus*, o *Staphylococcus aureus*.



- **Anno di fondazione:** 1997
- **Servizio di laboratorio:** specialisti in microbiologia di alimenti, cosmetici e prodotti farmaceutici
- **Numero di dipendenti:** 100
- **Direzione:** Paul Andrei, Fondatore e Amministratore delegato

- **Servizio speciale:** metodi rapidi per tutti i patogeni attuali, ad es. *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria spp.*, *STEC/VTEC*, *Cronobacter spp.*, *Campylobacter spp.*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ma anche per lieviti e muffe. Rilevazione di microrganismi in poche ore.
- **Contatto:** paul.andrei@bav-institut.de

TENTAMUS IN THE WORLD

Use of MALDI-ToF-methods in food microbiology and consumer protection

Dipl. Ing. Paul Andrei, Managing Director at Bav Institute



In the MALDI-TOF method, the processed analytical sample is fired with a laser pulse, causing ionization of ribosomal proteins.

These charged proteins are accelerated in the electric field of the mass analyzer.

The time of flight of the proteins, which is depending on their charge and mass, is detected. As a result, mass spectra are generated (mass spectrometry). These spectra are compared with a database. Currently, there are over 7,000 microorganism strains in BAV's database.

For more than six years, the BAV Institute has been successfully using the MALDI-ToF method to identify microorganisms.

There are numerous studies showing that the results of identification with MALDI-ToF are at least equivalent or even more reliable compared to traditional biochemical methods.

More than 20,000 bacterial identifications are performed annually in the BAV laboratory. Customers benefit from the decisive advantages of the method:

- Speed (results in a few minutes)
- Reliability
- Reproducibility

The BAV INSTITUT offers the possibility to compare bacterial strains e.g. of *Listeria monocytogenes*.

This allows conclusions to be drawn about the causes of contamination or positive findings.

Sources of contamination can be found and eliminated more quickly, since strains from end products can be compared with strains from raw materials or from environmental tests.

These results are available on the same day after isolation of the strains, so that appropriate statements about potential causes of contamination can be found quickly. Corresponding preventive measures can be initiated rapidly. This can minimize the economic damage and avoid harm to the health of consumers

This possibility to compare strains of isolated microorganisms is also possible for other microorganisms such as *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*... by means of the methods introduced at BAV INSTITUT.

- **Year of foundation:** 1997
- **Lab service:** specialists for microbiology of food, cosmetics and pharmaceuticals
- **Number of employees:** 100
- **Management:** Founder and CEO: Paul Andrei
- **Special service:** rapid methods for all current pathogens e.g. *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria spp.*, *STEC/VTEC*, *Cronobacter spp.*, *Campylobacter spp.*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* but also for yeasts and moulds. Identification and confirmation of microorganisms in a few hours
- **Contact:** paul.andrei@bav-institut.de



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 2021.

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 2021.

Nell'analisi di allergeni, a volte il Limite di rilevabilità (LOD) o di quantificazione (LOQ) viene riportato in mg/kg (ppm) mentre in altri casi è espresso in copie di DNA. Qual è la corrispondenza tra le due modalità di espressione? Posso confrontarle?

Le modalità di espressione del risultato e dei relativi LOD e LOQ dipendono dalla tecnica di analisi.

Per la ricerca di allergeni le tecniche analitiche utilizzate in prevalenza sono due: con la PCR si va a rilevare il DNA specifico della specie di interesse; con il test immunoenzimatico ELISA si ricerca una sua proteina caratteristica.

Il test ELISA fornisce un risultato quantitativo espresso in mg/kg con un LOQ variabile in base al tipo di allergene ricercato.

Per il metodo in PCR applicato in AgriParadigma il risultato è espresso come presenza/assenza del DNA ricercato, con LOD = 5 copie di DNA.

A livello sperimentale è stato dimostrato che in matrici non complesse questo LOD corrisponde approssimativamente a 0,5 ppm.

Tuttavia, poiché le due tecniche rilevano analiti differenti, non è possibile stabilire una diretta corrispondenza tra numero di copie di DNA e concentrazione in mg/kg.

Il Reg. (UE) N. 1169/2011 relativo all'etichettatura fornisce un elenco delle sostanze o prodotti che provocano allergie o intolleranze e dispone che la loro presenza sia indicata in etichetta.

La tecnica da utilizzare per la ricerca di tali sostanze non è dichiarata, pertanto entrambe le metodiche possono essere ritenute idonee allo scopo.

In the analysis of allergens, the limit of detection (LOD) or the limit of quantification (LOQ) is reported in either mg/kg (ppm) or DNA copies. What is the correspondence between the two modes of expression? Can we compare them?

The modes of expression of a given result and any related LOD and LOQ depend on the applied analytical technique.

For the search of allergens, the analytical techniques used are mainly two: with PCR, we detect the DNA of the species of interest; with the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) test, we are looking for a particular protein of the species of interest.

The ELISA test provides a quantitative result expressed in mg/kg with a variable LOQ based on the type of allergen sought. For the PCR method applied in AgriParadigma, the result is expressed as presence or absence of the searched DNA, with LOD = 5 DNA copies.

Experimentally, it has been shown that this LOD corresponds approximately to 0.5 ppm in non-complex matrices.

However, since the two techniques detect different analytes, it is not possible to establish a direct correspondence between the number of DNA copies and the concentration in mg/kg. Regulation (EU) No 1169/2011 on labelling provides a list of substances and products causing allergies or intolerances, also stating that their presence must be indicated on the label.

The technique to be used for the detection of such substances is not declared so both modes of expression can be considered suitable for the purpose.



Laura De Cesare

Responsabile Chimica / Chemical Lab. Manager

• agriparadigma@agriparadigma.it •

Rapporti di Prova: significato della lettera F

Le prove contrassegnate dal simbolo (F) sono accreditate in campo flessibile?

Il Laboratorio Laemmegroup, a distanza di più di vent'anni dal primo accreditamento, a partire dall'anno 2018, ha aderito alla possibilità, fornita da Accredia, di accreditarsi anche in campo cosiddetto **flessibile**.

Il campo di accreditamento flessibile è una descrizione più generica riguardo ai materiali/matrici/prodotti di prova o alle grandezze da determinare. Fermo restando le regole imposte da Accredia, **il laboratorio ha la facoltà, in qualsiasi momento, di apportare modifiche al metodo in tempo reale non appena nasce l'esigenza da parte di un cliente** (Allerte, nuovi piani analitici, soddisfacimento di disciplinari...).

Ad esempio è possibile ampliare il campo di applicazione, aggiungere nuovi analiti, abbassare il valore di LOQ o abbassare i valori di incertezza.

Le modifiche apportate, previa validazione da parte del laboratorio, vengono poi inserite in Banca Dati Accredia dal laboratorio stesso, snellendo pertanto le tempistiche di estensione dell'accreditamento.

Sebbene l'indicazione della lettera F sul certificato di analisi non costituisce obbligo da parte del laboratorio, si ritiene che il Rapporto di Prova sia il canale di comunicazione più efficace nei confronti del cliente che in questo modo è costantemente aggiornato sugli accreditamenti.

di Valeria R. Giancotti

Responsabile Tecnico / Technical Manager

• info@laemmegroup.it •

Test Reports: meaning of the letter F

Tests marked with the symbol (F) are accredited in the flexible field?

In 2018, after more than 20 years from its first accreditation, the Laemmegroup Laboratory has joined the possibility to be accredited in the so-called flexible field – and this is thanks to the Italian accreditation body Accredia. The flexible accreditation field is a more general description regarding materials, matrices, test products or quantities to be determined. Without prejudice to the rules imposed by Accredia, the laboratory has the right at any time to make changes to a given method in real time as soon as a customer's need arises (e. g. alerts, new analytical plans, compliance with specifications, etc.). For example, it is possible to broaden the field of application, add new analytes, lower the LOQ value or lower uncertainty values.

The changes made, which are subject to validation by the laboratory, are then entered into the Accredia database by the laboratory itself, thus streamlining the accreditation extension times.

Although the indication of the letter F on the certificate of analysis does not constitute an obligation for the laboratory, it is believed that the Test Report is the most effective communication channel to keep customers constantly updated on accreditations.



Cosa sono i test di stabilità e per quale motivo sono così importanti in ambito regolatorio?

I test di stabilità sono prove indicative di eventuali cambiamenti nelle proprietà fisiche, chimiche e microbiologiche di un prodotto nel corso di un periodo di conservazione specificato, nonché dell'adeguatezza del packaging durante lo stoccaggio, il trasporto, la vendita e il consumo da parte dell'utente finale.

Costituiscono uno dei cardini di ogni domanda di registrazione di nuovi formulati, siano essi disinfettanti, conservanti, antiparassitari o qualsiasi altro tipo di biocida. Per quanto la normativa vari ampiamente, a seconda del tipo di prodotto considerato, questi test vengono richiesti anche in ambito farmaceutico. In accordo con le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL), Renolab supporta i produttori nell'esecuzione dei test necessari per la presentazione del dossier alle Autorità competenti, tra cui i test di stabilità allo stoccaggio (a lungo termine a temperatura ambiente) ma anche prove di stabilità accelerata (a temperatura più alta, per un periodo di tempo più breve).

What is stability testing and why is it so important in the regulatory field?

The purpose of stability testing is to provide evidence on any changes in the physical, chemical and microbiological properties of a product over a specified storage period, as well as the suitability of the packaging during storage, transport, sale and consumption by the end user.

Stability testing is essential for any application for the registration of new formulations, be they disinfectants, preservatives, pesticides or any other type of biocide. Although the legislation may vary greatly, depending on a given type of product, stability testing is also required in the pharmaceutical field.

In accordance with Good Laboratory Practices (GLP), Renolab helps manufacturers in carrying out the necessary tests for the dossier submission to the competent authorities, including storage stability tests (long-term at room temperature) and accelerated stability tests (at higher temperature, for a shorter period of time).

Lidia Gazzotti

Operation Manager di Renolab / Operation Manager of Renolab

• info@renolab-glp.com •



PAT: PAT (Proteine Animali Trasformate) o PAP (Processed Animal Proteins)
II REGOLAMENTO (UE) N. 142/2011 DELLA COMMISSIONE del 25 febbraio 2011, Allegato I punto 5 versione italiana riporta la definizione di PAT, mentre il medesimo regolamento nella versione inglese riporta l'espressione di PAP. Si può dunque affermare che i due acronimi, PAT e PAP siano la medesima cosa. Le proteine animali trasformate/procacciate rappresentano un complesso di proteine, grassi e minerali e sono ottenute interamente da materiali di categoria 3 e trattate, conformemente all'allegato X, capo II, sezione 1, del presente regolamento (incluse le farine di sangue e di pesce), in modo da renderle adatte a diversi utilizzi.

PAP (Processed Animal Proteins)
Processed animal proteins are a complex of proteins, fats and minerals. They are obtained entirely from Category 3 material and processed in accordance with Section 1 of Chapter II of Annex X to Commission Regulation (EU) No. 142/2011 of 25 February 2011 (including blood meal and fish) in order to make them suitable for different uses.

BRC / IFS: Acronimi rispettivamente di British Retail Consortium e IFS International Food Standard; parlando di sicurezza degli alimenti e certificazione alimentare, il rispetto dei loro standard è garanzia di qualità. L'adesione volontaria a questi standard qualitativi è in grado oggi di aprire alle aziende del settore alimentare nuovi mercati, in particolare, verso la GDO (Grande Distribuzione Organizzata) ed i mercati esteri.

The BRC (British Retail Consortium) sets high standards for business practices and management processes. The IFS (International Food Standard) is a worldwide acknowledged standard for assessing food manufacturers with a strong focus on food safety and the quality of processes and products. Adhering to their quality standards allows new markets to be opened up for businesses in the food sector – in particular, large-scale distribution and foreign markets.

Tiosolfato: Composto chimico ampiamente utilizzato in laboratorio. Uno dei suoi usi più comuni in ambito analitico è come reagente, ma esso viene utilizzato anche come additivo in bottiglie e/o contenitori per il trasporto di acqua (es acqua potabile o piscina) poiché, per le sue caratteristiche chimiche, è in grado di contrastare l'attività disinfettante di additivi come il Cloro, in essa contenuto, evitandone la modificazione durante il trasporto dopo il campionamento e garantendo la conservazione del campione.

Thiosulfate is a chemical compound widely used in laboratories. In the analytical field, one of its most common uses is as a reagent, but it is also used as an additive in bottles and/or containers for water transportation (e.g. drinking water or water for swimming pools). Due to its chemical characteristics, it is able to counteract the disinfectant activity of additives such as chlorine – when present in water – avoiding any modifications during transport after sampling and ensuring the preservation of the sample.

CSV: La Computer System Validation è un processo utilizzato per garantire e documentare che un sistema basato su computer produrrà informazioni o dati che soddisfano una serie di requisiti predefiniti.

CSV: Computer System Validation is a process used to ensure (and document) that a computer-based system will produce information or data that meets a set of predefined requirements.

Tentamus Locations Network 2021: Service Excellence Worldwide



T~magazine

1° semestre 2021 / Numero 5 - 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 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)



Tentamus Italia S.r.l.

Via Faentina 207/H
48124 Ravenna



Renolab S.r.l.

Sede legale e operativa:

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