

# **ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA M. ALEANDRI**

## **DELIBERAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE**

Num. 176/23

Del. 26/04/2023

### **Oggetto:**

Gara telematica [G02046] - Procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E – Esclusione dell'operatore economico Euroclone Spa

|                                  |                                                     |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Proposta di deliberazione n.     | 206/23                                              |
| Data Proposta di deliberazione   | 21/04/2023                                          |
| Struttura                        | AMM_PRO UNITÀ OPERATIVA ACQUISIZIONE BENI E SERVIZI |
| L'Estensore                      | ZIZZARI STEFANO                                     |
| Il Responsabile del procedimento | PEZZOTTI SILVIA                                     |
| Responsabile della Struttura     | PEZZOTTI SILVIA                                     |

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| Visto di Regolarità contabile |  |
| N. di prenotazione            |  |

IL Direttore Amministrativo  
Dott. Festuccia Manuel

IL Direttore Sanitario  
Dott. Leto Andrea

IL Direttore Generale f.f.  
Dott. Leto Andrea

%firma%-1

Firmato digit. dal Resp. Struttura: PEZZOTTI SILVIA  
Firmato digit. dal Dir. Amministrativo: FESTUCCIA MANUEL  
Firmato digit. dal Dir. Sanitario: LETO ANDREA  
Firmato digit. dal Dir. Generale f.f.: LETO ANDREA

%firma%-3

Il Dirigente proponente, con la sottoscrizione del presente atto, a seguito dell'istruttoria effettuata attesta, ai fini dell'art. 1 della L. 20 del 1994, così come modificato dall'art. 3 della L.639 del 1996, che l'atto è legittimo nella forma e nella sostanza ed è utile per il servizio pubblico.

(Documento informatico firmato digitalmente ai sensi del D.Lgs 82/2005 s.m.i. e norme collegate, il quale sostituisce il documento cartaceo e la firma autografa)

**OGGETTO:** Gara telematica [G02046] - Procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E – Esclusione dell'operatore economico Euroclone Spa

## **PREMESSO**

che con deliberazione del Direttore Generale n. 119/23 del 16 marzo 2023 è stata indetta la gara telematica [G02046] per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E, secondo il criterio del minor prezzo;

che tutte le ditte iscritte all'Elenco dei fornitori dell'Istituto per la categoria merceologica: C09.02 – “POLIMERASE CHAIN REACTION (PCR) E REVERSE TRANSCRIPTASE PCR”- classifica superiore fino a 215000 euro”, di seguito elencate, sono state invitate a presentare offerte:

| <b>Ragione sociale ditta</b>                                   |
|----------------------------------------------------------------|
| CARLO ERBA REAGENTS SRL                                        |
| EUROCLONE SPA                                                  |
| SOCIETA' ITALIANA CHIMICI DIVISIONE SCIENTIFICA SRL UNIPERSONA |
| LIFE TECHNOLOGIES ITALIA FIL. LIFE TECHNOLOGIES EUROPE BV      |
| AB ANALITICA SRL                                               |
| INNOVATIVE DIAGNOSTICS SAS                                     |
| TECHNOGENETICS SPA                                             |
| TEMA RICERCA SRL                                               |
| IDEXX LABORATORIES ITALIA SRL                                  |
| ALTONA DIAGNOSTICS ITALIA SRL                                  |
| VWR INTERNATIONAL SRL                                          |
| GOLD STANDARD DIAGNOSTICS TRIESTE SRL A SOCIO UNICO            |
| CHEBIOS                                                        |
| AVANTECH GROUP SRL                                             |
| THERMO FISHER DIAGNOSTICS S.P.A.                               |
| BIOSCIENTIFICA                                                 |

## **PRESO ATTO**

che hanno presentato offerta le seguenti ditte, per gli importi sotto indicati:

(Documento informatico firmato digitalmente ai sensi del D.Lgs 82/2005 s.m.i. e norme collegate, il quale sostituisce il documento cartaceo e la firma autografa)

| <b>Operatore economico</b>                                | <b>Importo offerto (IVA esclusa)</b> |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| EUROCLONE SPA                                             | € 37.485,00                          |
| CARLO ERBA REAGENTS SRL                                   | € 42.728,00                          |
| LIFE TECHNOLOGIES ITALIA FIL. LIFE TECHNOLOGIES EUROPE BV | € 47.040,00                          |

## **DATO ATTO**

che la scheda tecnica del prodotto offerto dalla ditta Euroclone Spa è stata trasmessa al Tavolo Tecnico della Biologia Molecolare, costituito con deliberazione del Direttore Generale n. 311/21 del 9 settembre 2021, per la verifica della rispondenza del bene ai requisiti tecnici del capitolato di gara;

che con nota del 21 aprile 2023 (protocollo 2964/23), che costituisce allegato alla presente deliberazione, il Tavolo Tecnico ha dichiarato nella scheda di valutazione dei prodotti offerti in gara la non idoneità del prodotto;

## **VISTO**

il Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50, “*Codice dei Contratti Pubblici*”;

l’art. 76, comma 5, lett. b), del Decreto che prevede le comunicazioni di esclusione agli offerenti entro un termine non superiore a cinque giorni,

## **PROPONE**

1. di escludere l’operatore economico Euroclone Spa dalla procedura di gara per l’affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell’art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E, dando atto della nota del 21 aprile 2023 (protocollo 2964/23), nella quale il Tavolo Tecnico della Biologia Molecolare ha dichiarato la non idoneità del prodotto offerto dalla ditta;

2. di comunicare alla ditta esclusa dalla procedura di gara il contenuto della presente deliberazione, dando attuazione all’art. 76, comma 5, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50;

3. di incaricare il Tavolo Tecnico della Biologia Molecolare di procedere alla valutazione del prodotto offerto dalla ditta Carlo Erba Reagents Srl, seconda in graduatoria.

UOC Acquisizione Beni e Servizi  
Il Dirigente  
Dott.ssa Silvia Pezzotti

## **IL DIRETTORE GENERALE**

**OGGETTO:** Gara telematica [G02046] - Procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E – Esclusione dell'operatore economico Euroclone Spa

**VISTA** la proposta di deliberazione avanzata del dirigente della UOC Acquisizione Beni e Servizi Dott.ssa Silvia Pezzotti avente ad oggetto: "Gara telematica [G02046] - Procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E – Esclusione dell'operatore economico Euroclone Spa";

**SENTITI** il Direttore Amministrativo ed il Direttore Sanitario che hanno espresso parere favorevole alla adozione del presente provvedimento;

**RITENUTO** di doverla approvare così come proposta,

### **DELIBERA**

Di approvare la proposta di Deliberazione avente ad oggetto: "Gara telematica [G02046] - Procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E – Esclusione dell'operatore economico Euroclone Spa" sottoscritta dal Dirigente competente, da considerarsi parte integrante e sostanziale del presente provvedimento, rinviando al preambolo ed alle motivazioni in essa contenute e conseguentemente:

1. di escludere l'operatore economico Euroclone Spa dalla procedura di gara per l'affidamento della fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready Mix, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50 – CIG 9683584A4E, dando atto della nota del 21 aprile 2023 (protocollo 2964/23), nella quale il Tavolo Tecnico della Biologia Molecolare ha dichiarato la non idoneità del prodotto offerto dalla ditta;
2. di comunicare alla ditta esclusa dalla procedura di gara il contenuto della presente deliberazione, dando attuazione all'art. 76, comma 5, lett. b), del Decreto Legislativo 18 aprile 2016, n. 50;
3. di incaricare il Tavolo Tecnico della Biologia Molecolare di procedere alla valutazione del prodotto offerto dalla ditta Carlo Erba Reagents Srl, seconda in graduatoria.

**IL DIRETTORE GENERALE ff**  
Dott. Andrea Leto



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

---

**SCHEDA VALUTAZIONE PRODOTTI OFFERTI IN GARA**  
**corrispondenza scheda tecnica**

**Giudizio di Idoneità Tecnica della Campionatura Fornita**

UOC Diagnostica generale, UOC Virologia, UOC Microbiologia degli Alimenti, UOSD Sierologia, UOSD CROGM, UOT TN Pisa, UOT LN Viterbo

firmato digitalmente da

**Paola Marconi**

☑ = Marconi Paola  
= IT

Nome della Procedura di Gara: Fornitura biennale di Fast Hot start PCR Ready mix

Gara telematica G02046

CIG: 9683584A4E

Capitolato Tecnico Prot. 5649\_22 del 17/08/22

Durata Fornitura: biennale

Nome Prodotto: Fast Hot start PCR Ready mix

Prodotto offerto dall'operatore economico Euroclone

OneTaq 2X Master Mix with Standard Buffer

codice ditta: BM0482L

ditta produttrice New England Biolabs

La ditta distributrice Euroclone non ha fornito la scheda tecnica originale della ditta produttrice New England Biolabs nonostante sia stato esplicitamente indicato nel capitolato della gara.

La valutazione è stata pertanto limitata alle caratteristiche indicate nella scheda tecnica del distributore e al protocollo ricevuto entrambi in allegato.

Dalla scheda tecnica e dal protocollo si evince che la Taq DNA polimerasi presente nella miscela di reazione è una Taq DNA polimerasi NON hot start che richiede l'assemblaggio della reazione in ghiaccio.

In aggiunta non sono indicate altre caratteristiche minime e imprescindibili per i laboratori di prova tra cui:

assenza di attività esonucleasica 3'-5'

lunghezza dei prodotti amplificati almeno fino a 3,5 kb

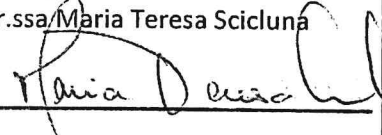
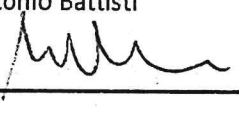
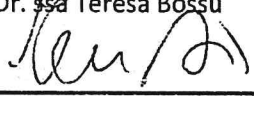
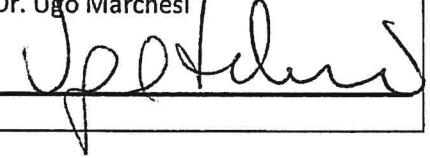
A seguito della verifica delle caratteristiche tecniche del prodotto offerto e della corrispondenza rispetto a quanto indicato nel capitolato tecnico, il prodotto offerto:



**X NON CORRISPONDE** ai requisiti tecnici richiesti in sede di gara.

Pertanto in accordo congiunto tra quanti dovranno utilizzare il prodotto si ritiene necessario indicare il prodotto offerto come

**PRODOTTO NON IDONEO**

|                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Il Responsabile della UOC<br>Virologia<br>Dr.ssa Maria Teresa Scicluna<br> | Il Responsabile della UOC<br>Diagnostica generale<br>Dr. Antonio Battisti<br> | Il Responsabile della UOC ff<br>Microbiologia degli Alimenti<br>Dr. ssa Teresa Bossù<br>                              |
| Il Responsabile della UOT Lazio<br>Nord<br>Dr. Luigi De Grossi<br>         | Il Responsabile della UOSD<br>Sierologia<br>Dr.ssa Manuela Scarpulla<br>      | Il Responsabile della UOSD Ricerca e<br>Controllo degli Organismi<br>Geneticamente Modificati<br>Dr. Ugo Marchesi<br> |
| Il Responsabile della UOT<br>Toscana nord<br>Dr.ssa Paola Marconi<br>      |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                           |

Home > Protocols > Protocol for OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer (M0482)

# Protocol for OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer (M0482)

## Overview

### PCR

The Polymerase Chain Reaction (PCR) is a powerful and sensitive technique for DNA amplification (1). *Taq* DNA Polymerase is an enzyme widely used in PCR (2). The following guidelines are provided to ensure successful PCR using New England Biolabs' OneTaq 2X Master Mix with Standard Buffer. These guidelines cover routine PCR. Amplification of templates with high GC content, high secondary structure or low template concentrations may require further optimization.

## Protocol

### Reaction setup:

We recommend assembling all reaction components on ice and quickly transferring the reactions to a thermocycler preheated to the denaturation temperature (94°C).

Add to a sterile thin-walled PCR tube:

| Component                                 | 25 µl reaction | 50 µl reaction | Final Concentration |
|-------------------------------------------|----------------|----------------|---------------------|
| 10 µM Forward Primer                      | 0.5 µl         | 1 µl           | 0.2 µM              |
| 10 µM Reverse Primer                      | 0.5 µl         | 1 µl           | 0.2 µM              |
| Template DNA                              | variable       | variable       | < 1,000 ng          |
| OneTaq 2X Master Mix with Standard Buffer | 12.5 µl        | 25 µl          | 1X                  |
| Nuclease-free water                       | to 25 µl       | to 50 µl       | < 1,000 ng          |

Notes: Gently mix the reaction. Collect all liquid to the bottom of the tube by a quick spin if necessary. Overlay the sample with mineral oil if using a PCR machine without a heated lid.

Transfer PCR tubes to a PCR machine and begin thermocycling:

### Thermocycling conditions for a routine PCR:

| STEP                 | TEMP | TIME       |
|----------------------|------|------------|
| Initial Denaturation | 94°C | 30 seconds |

|                 |         |               |
|-----------------|---------|---------------|
| 30 Cycles       | 94°C    | 15-30 seconds |
|                 | 45-68°C | 15-60 seconds |
|                 | 68°C    | 1 minute/kb   |
| Final Extension | 68°C    | 5 minutes     |
| Hold            | 4-10°C  |               |

## General Guidelines

### 1. Template:

Use of high quality, purified DNA templates greatly enhances the success of PCR. Recommended amounts of DNA template for a 50 µl reaction are as follows:

| DNA              | Amount     |
|------------------|------------|
| genomic          | 1 ng–1 µg  |
| plasmid or viral | 1 pg–10 ng |

### 2. Primers:

Oligonucleotide primers are generally 20–40 nucleotides in length and ideally have a GC content of 40–60%. Computer programs such as Primer3 can be used to design or analyze primers. The final concentration of each primer in a PCR may be 0.05–1 µM, typically 0.2 µM

### 3. Mg<sup>++</sup> and Additives:

Mg<sup>++</sup> concentration of 1.5–2.0 mM is optimal for most PCR products generated with OneTaq DNA Polymerase. The final Mg<sup>++</sup> concentration in 1X OneTaq Master Mix with Standard Buffer is 1.8 mM. This supports satisfactory amplification of most amplicons. However, Mg<sup>++</sup> can be further optimized in 0.2 mM increments using MgCl<sub>2</sub> (NEB# B9021).

For amplification of difficult targets, like GC-rich sequences, we recommend OneTaq 2X Master Mix with GC Buffer (NEB# M0483). Alternatively, DMSO or formamide may be used

### 4. Denaturation:

An initial denaturation of 30 seconds at 94°C is sufficient to amplify most targets from pure DNA templates. For difficult templates such as GC-rich sequences, a longer denaturation of 2–4 minutes at 94°C is recommended prior to PCR cycling to fully denature the template. Alternatively, use OneTaq Hot Start 2X Master Mix with GC Buffer. With colony PCR, an initial 2–5 minute denaturation at 94°C is recommended to lyse cells.

During thermocycling a 15–30 second denaturation at 94°C is recommended

### 5. Annealing:

The annealing step is typically 15–60 seconds. Annealing temperature is based on the T<sub>m</sub> of the primer pair and is typically 45–68°C. Annealing temperatures can be optimized by doing a temperature gradient PCR starting 5°C below the calculated T<sub>m</sub>. We recommend using NEB's T<sub>m</sub> Calculator to determine appropriate annealing temperature for PCR.

## 6. Extension:

The recommended extension temperature is 68°C. Extension times are generally 1 minute per kb. A final extension of 5 minutes at 68°C is recommended

## 7. Cycle Number:

Generally, 25–35 cycles yield sufficient product. Up to 45 cycles may be required to detect low copy number targets.

## 8. PCR Product:

The majority of the PCR products generated using OneTaq DNA Polymerase contain dA overhangs at the 3' end; therefore the PCR products can be ligated to dT/dU-overhang vectors.

## References:

1. Saiki, R.K. et al (1985). *Science*. 230, 1350-1354.
2. Powell, L.M. et. al. (1987). *Cell*. 50, 831-840.

## Links to this resource

**Product Categories:** OneTaq® DNA Polymerases Products, Taq DNA Polymerase Products, Master Mixes Products

**Applications:** Fast PCR, Multiplex PCR, Specialty PCR, | [More +](#)

**Related Products:** OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer

## BM0482L

OneTaq 2X Master Mix with Standard Buffer

|                      |                                           |
|----------------------|-------------------------------------------|
| <b>Description</b>   | OneTaq 2X Master Mix with Standard Buffer |
| <b>Format</b>        | 500 rxns                                  |
| <b>Producer</b>      | NEB Modificazione                         |
| <b>Code Producer</b> |                                           |

OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer cloned at NEB recombinant Icon\_IncTemp12 No pcr 5

OneTaq® DNA Polymerase is an optimized blend of Taq and Deep Vent® DNA polymerases for use with routine and difficult PCR experiments.

Obtain high yields across a wide range of AT / GC content

2X higher fidelity than Taq

Master mix is a 2X concentrated solution containing everything needed for robust amplification

Euroclone S.p.A.

