

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

**DELIBERAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE**

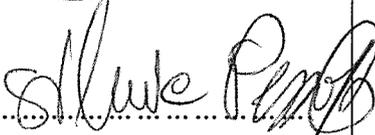
n. ....377..... del .....18/06/2019

OGGETTO: Acquisto di beni di importo inferiore ad € 40.000,00+IVA, D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50  
- DELIBERA DI INDIZIONE

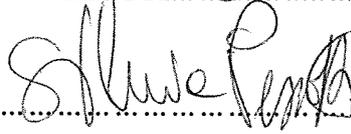
**Proposta di deliberazione n. 104/PRO del 17/06/19**

**Unità Operativa Acquisizione Beni e Servizi**

**L'Estensore** DOTT.SSA SILVIA PEZZOTTI..... 

**Il Responsabile del procedimento** DOTT.SSA SILVIA PEZZOTTI..... 

**Il Dirigente** DOTT.SSA SILVIA PEZZOTTI..... 

**Visto di regolarità contabile**.....  **n. di prenot.** 104/19

Parere del Direttore Amministrativo  
Avv. Mauro Pirazzoli ..... 

Favorevole  Non favorevole

Parere del Direttore Sanitario  
Dott. Andrea Leto..... 

Favorevole  Non favorevole

**IL DIRETTORE GENERALE**

Dott. Ugo Della Marta



## IL RESPONSABILE DELLA UNITA' OPERATIVA ACQUISIZIONE BENI E SERVIZI

**Dott.ssa Silvia Pezzotti**

**OGGETTO:** Acquisto di beni di importo inferiore ad € 40.000,00+IVA, D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50 - DELIBERA DI INDIZIONE

### **Premesso**

che il Dott. Pietro Calderini, dirigente veterinario in servizio presso la UOT Lazio Nord, sede di Rieti, ha inoltrato una richiesta (prot. 7513/18 del 10 ottobre 2018) per la fornitura di n. 3 separatori magnetici, indicando come fornitore la ditta THERMO FISHER DIAGNOSTICS S.P.A., costo presunto di € 1.300,00 +IVA ed imputando la spesa sul centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

che, in base alle motivazioni di acquisto riportate nella richiesta, il Dott. Calderini ha evidenziato che gli strumenti richiesti saranno utilizzati *“nelle procedure di estrazione e concentrazione del DNA come previsto dai kit Steptavidina.sepharose e M-270 Streptavidin Dynabeads”* e che i suddetti beni saranno necessari per le attività di cui all'articolo di riferimento *“Direct detection and genotyping of Toxoplasma gondii in meat using magnetic capture and PCR”* pubblicato sull' *“Elsevier-International Journal of Food Mycrobiology”*;

che con Deliberazione del Direttore Generale n. 398 del 18 luglio 2018 è stato approvato il piano degli acquisti dei beni inventariabili per l'anno 2018 che comprende i separatori magnetici, per un importo previsto di € 1.300,00 +IVA;

### **Premesso**

che lo stesso Dott. Calderini, ha inoltrato una richiesta (prot. 7513/18 del 10 ottobre 2018) per la fornitura di n 1 termomixer, al costo presunto di € 3.000,00 +IVA ed imputando la spesa sul centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

che, in base alle motivazioni di acquisto riportate nella richiesta, il Dott. Calderini, ha evidenziato come lo strumento richiesto *“ [...] viene utilizzato durante le operazioni di digestione e concentrazione del DNA dai tessuti da analizzare, utilizzando sia kit commerciali sia metodi tradizionali che impegnano solventi organici, quali il fenolo. Alcuni step di queste metodiche prevedono infatti il mantenimento dei campioni in continua agitazione a temperature e tempi stabiliti [...]”*;

che pertanto lo strumento si rende indispensabile per lo svolgimento delle attività istituzionali di analisi;

che con Deliberazione del Direttore Generale n. 398 del 18 luglio 2018 è stato approvato il piano degli acquisti dei beni inventariabili per l'anno 2018 che comprende il termomixer, per un importo previsto di € 3.000,00 +IVA;

### **Premesso**

che la Dott.ssa Roberta Cavallina, responsabile dell' U.S. Biotecnologie, in quiescenza e sostituita nella funzione dal Dott. Ugo Marchesi, responsabile della U.O.S.D. Ricerca e Controllo degli Organismi Geneticamente Modificati, ha inoltrato una richiesta (prot. 7656/18 del 15 ottobre 2018) per la fornitura di n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf, al costo presunto di € 10.020,00+IVA ed imputando la spesa sul centro di costo VIR VIR 8OGM14 (Programma di attività straordinarie relative agli organismi geneticamente modificati), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

che, in base alle motivazioni di acquisto riportate nella relazione allegata alla richiesta, la Dott.ssa Cavallina ha evidenziato che presso il Centro di Referenza Nazionale per gli Organismi Geneticamente Modificati attualmente la quantificazione del DNA estratto viene effettuata spettrofotometricamente tramite letture in assorbanza;

che la Dott.ssa Cavallina ha altresì dichiarato quanto segue: “[...]. In caso di lettura inferiore a 0,1 non si è in grado di determinare la concentrazione del DNA. In questi casi l'unica soluzione è la quantificazione in fluorescenza che permette di quantificare a concentrazioni nell'ordine pg/microlitro. L'acquisizione di un fluorimetro per la quantificazione del DNA da campioni alimentari per la ricerca di OGM, permetterebbe di ottimizzare questa cruciale fase analitica consentendo di effettuare le prove in PCR real time con maggiore accuratezza, e ciò è ormai imprescindibile per un laboratorio nazionale di riferimento[...]”;

che nella stessa relazione è stato evidenziato che “[...]a seguito di una attenta ricerca di mercato, è stato possibile individuare numerosi fluorimetri con potenzialità confrontabili. Solo uno di essi però è al contempo spettrofotometro e fluorimetro: il Biospectrometer Fluorescens della ditta Eppendorf. [...] lo strumento è concepito per avere a disposizione sia la lettura in assorbanza che in fluorescenza in modo tale da poter integrare i dati qualitativi e quantitativi ottenibili con i due sistemi.[...]”

che con Deliberazione del Direttore Generale n. 398 del 18 luglio 2018 è stato approvato il piano degli acquisti dei beni inventariabili per l'anno 2018 che comprende l'acquisizione di n. 1 Bio Spettrofotometro a Fluorescenza Nano – System G1.0, per un importo previsto di € 10.020,00 +IVA;

## **Premesso**

che il Dott. Antonio Battisti, responsabile della D.O. Diagnostica Generale, ha inoltrato una richiesta (prot. 8913/18 del 05 dicembre 2018) per la fornitura di n. 1 Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, con sistema autosterilizzante filtri HEPA, indicando come fornitore la ditta Thermo Fisher Scientific Milano Srl, al costo presunto di € 15.900,00 +IVA ed imputando la spesa sul centro di costo DIA DIG MGZIS (Spese Diagnostica Generale), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

che, in base alle motivazioni di acquisto riportate nella richiesta, il Dott. Battisti, ha evidenziato che l'acquisto si rende necessario “[...] Allo scopo di garantire certezza e continuità di servizio pubblico, ad integrare l'unico strumento in uso presso la Struttura, obsoleto e spesso in riparazione (dopo oltre 12 anni di esercizio) [...]”;

che nella stessa relazione è stato evidenziato che si rende necessario l'acquisto sulla base delle seguenti caratteristiche di unicità: “[...].-Ciclo di sterilizzazione automatico a secco a 180°C per la sterilizzazione periodica

-Filtro HEPA integrato nella camera di incubazione, allo scopo di garantire un livello di riduzione di contaminazione superiore a quanto previsto da ISO-5, e ulteriori due filtri HEPA a protezione della access-port e dell'ingresso delle linee di gas, per minimizzare il rischio di contaminazione delle colture.

*-Detector CO2 a termoconducibilità o infrarosso per la misura della % CO2, doppia sonda di temperatura per il backup reciproco. [...]*”

che il Direttore Generale ha autorizzato l’acquisto dello strumento;

### **Premesso**

che la Dott.ssa Silvana Guzzo, responsabile dell’Ufficio di Staff Qualità, ha inoltrato una richiesta (prot. 5043/19 del 14 giugno 2019) per la fornitura di n 4 termometri di seconda linea da destinare alle seguenti strutture: n. 1 all’ Unità Operativa Accettazione e Servizi Interdisciplinari; n. 1 alla UOT Lazio Sud, sezione di Rieti; n. 1 alla UOT Toscana Nord, sezione di Pisa; n. 1 all’ Ufficio di Staff Qualità;

che, all’interno della medesima richiesta, la Dott.ssa Silvana Guzzo ha indicato il costo presunto di € 1.160,00 +IVA da imputarsi sul n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

che, in base alle motivazioni di acquisto riportate nella richiesta, la Dott.ssa Guzzo, ha evidenziato come gli strumenti richiesti siano necessari “[...] perché i termometri utilizzati presso le Sedi indicate sono stati dichiarati fuori uso e pertanto le accettazioni non hanno possibilità di rilevare le temperature dei campioni [...]”;

che la Commissione per la Programmazione degli Acquisti, come riportato all’interno del verbale della seduta del 14 maggio 2019, ha approvato l’acquisto di n. 4 termometri di seconda linea, previa trasmissione di richiesta di acquisto e del relativo capitolato tecnico;

### **Visto**

la Legge 28 gennaio 2016, n. 11, art. 1, comma 1, lett. g), nella quale è disposto che le procedure di gara per l’acquisizione di servizi e forniture in economia devono essere ispirate a criteri di massima semplificazione e rapidità dei procedimenti, salvaguardando i principi di trasparenza e imparzialità della gara;

il D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, “Codice dei contratti pubblici”;

l’art. 36, comma 2, lettera a), del richiamato Decreto, che consente di effettuare procedure di affidamento di lavori, servizi e forniture di importo inferiore ad € 40.000, mediante affidamento diretto anche senza previa consultazione di due o più operatori economici;

l’art. 63, comma 2, lettera b), punto 2, del richiamato Decreto, che consente di effettuare la procedura negoziata senza previa pubblicazione di un bando di gara quando le forniture siano assicurate unicamente da un determinato operatore economico in quanto la concorrenza è assente per motivi tecnici, e che tale affidamento sia adeguatamente motivato dalla stazione appaltante;

le Linee Guida n. 4 emesse dall’Autorità Nazionale Anticorruzione, recanti: “*Procedure per l’affidamento dei contratti pubblici di importo inferiore alle soglie di rilevanza comunitaria, indagini di mercato e formazione e gestione degli elenchi di operatori economici*”, approvate dal Consiglio dell’Autorità con delibera n. 1097 del 26 ottobre 2016 e aggiornate al Decreto Legislativo 19 aprile 2017, n. 56 con delibera del Consiglio n. 206 del 1 marzo 2018;

Le Linee Guida n. 8 emanate dall'Autorità Nazionale Anticorruzione aventi ad oggetto: “*Ricorso a procedure negoziate senza previa pubblicazione di un bando nel caso di forniture e servizi ritenuti infungibili*”;

### **Considerato**

che non sono attive sul portale CONSIP convenzioni aventi ad oggetto la fornitura di cui al presente provvedimento;

### **Dato atto**

che nell'espletamento delle procedure devono essere garantiti i principi di economicità, efficacia, tempestività e correttezza, nonché i principi di non discriminazione e concorrenza;

che pertanto, al fine di assicurare l'espletamento delle attività istituzionali, si rende necessario generare Trattative Dirette (TD) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) relativamente ai seguenti articoli, essendo presente sul portale il metaprodotto di riferimento:

- n. 3 separatori magnetici,
- n. 1 Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, con sistema autosterilizzante filtri HEPA

che si rende altresì necessario generare Richiesta di Offerta (RDO) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) relativamente ai seguenti articoli, essendo presente sul portale il metaprodotto di riferimento:

- n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf;
- n. 1 termomixer;

che si rende infine necessario generare un Ordine Diretto di Acquisto (ODA) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) relativamente alla fornitura di n. 4 termometri di seconda linea;

### **Rilevato**

che l'Istituto è regolarmente iscritto all'Anagrafe Unica delle Stazioni Appaltanti,

### **PROPONE**

1. di prendere atto delle seguenti relazioni nelle quali sono evidenziate le ragioni dell'acquisto di beni e servizi oggetto della presente procedura che si allegano in copia alla presente deliberazione e ne costituiscono parte integrante e sostanziale:

- richiesta per la fornitura di n. 3 separatori magnetici e n. 1 termomixer, acquisita agli atti con prot. 7513/18 del 10 ottobre 2018, che si compone di n. 3 pagine;
- richiesta per la fornitura di n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf, acquisita agli atti con prot. 7656/18 del 15 ottobre 2018, che si compone di n. 3 pagine;

- richiesta per la fornitura di n. 1 Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, con sistema autosterilizzante filtri HEPA, acquisita agli atti con prot. 8913/18 del 5 dicembre 2018, che si compone di n. 2 pagine;
  - richiesta per la fornitura di n. 4 termometri di seconda linea, acquisita agli atti con prot. 5043/19 del 14 giugno 2019, che si compone di n. 2 pagine;
2. di dar luogo ad una Trattativa Diretta (TD) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 944028 - Affidamento ex art. 63, comma 3, lettera b), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. n. 3 separatori magnetici, in favore della ditta THERMO FISHER DIAGNOSTICS S.P.A.- CIG: 79310150A0, importo presunto € 1.300,00 +IVA;
3. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);
4. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:
- Disciplinare di Gara;
  - Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
  - Capitolato speciale (Allegato 2);
  - Capitolato tecnico (Allegato 3);
  - Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
  - Patto d'Integrità (Allegato 5);
  - DGUE (Allegato 6);
5. di dar luogo ad una Trattativa Diretta (TD) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 944101- Affidamento ex art. 63, comma 2, lett. b) punto 2, del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, con sistema autosterilizzante filtri HEPA, in favore della ditta Thermo Fisher Scientific Milano Srl - CIG: 7931057348, importo presunto € 15.900,00+IVA;
6. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo DIA DIG MGZIS (Spese Diagnostica Generale), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);
7. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:
- Disciplinare di Gara;
  - Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
  - Capitolato speciale (Allegato 2);
  - Capitolato tecnico (Allegato 3);
  - Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
  - Patto d'Integrità (Allegato 5);
  - DGUE (Allegato 6);
8. di dar luogo ad una Richiesta di Offerta (RDO) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 2322115 - Affidamento ex l'art. 36, comma 2, lettera a), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf, - CIG: 7931075223, importo presunto € 10.020,00+IVA;

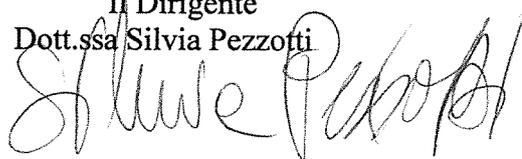
9. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo VIR VIR MGZIS (Spese generali Biotecnologie), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);
10. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:
- Disciplinare di Gara;
  - Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
  - Capitolato speciale (Allegato 2);
  - Capitolato tecnico (Allegato 3);
  - Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
  - Patto d'Integrità (Allegato 5);
  - DGUE (Allegato 6);
11. di invitare alla Richiesta di Offerta (RDO) tutti gli operatori economici iscritti all'Elenco dei Fornitori dell'Istituto per la classe merceologica di riferimento e presenti sul portale [www.acquistinretepa.it](http://www.acquistinretepa.it), trasmettendo per l'effetto agli operatori stessi la documentazione di cui al punto precedente;
12. di dar luogo ad una Richiesta di Offerta (RDO) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 2322130 - Affidamento ex l'art. 36, comma 2, lettera a), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 termomixer,- CIG: 7931087C07, importo presunto € 3.000,00+IVA;
13. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);
14. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:
- Disciplinare di Gara;
  - Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
  - Capitolato speciale (Allegato 2);
  - Capitolato tecnico (Allegato 3);
  - Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
  - Patto d'Integrità (Allegato 5);
  - DGUE (Allegato 6);
15. di invitare alla Richiesta di Offerta (RDO) tutti gli operatori economici iscritti all'Elenco dei Fornitori dell'Istituto per la classe merceologica di riferimento e presenti sul portale [www.acquistinretepa.it](http://www.acquistinretepa.it), trasmettendo per l'effetto agli operatori stessi la documentazione di cui al punto precedente;
16. di dare luogo ad una procedura di affidamento diretto (ODA) n. 4986807, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. a), del D.Lgs. 50/2016, ai fini della fornitura di n 4 termometri di seconda linea, contrattando con la ditta RS Components, CIG: 79331377BF, per un costo di € 1.160,00+IVA da imputarsi come segue: € 290,00+IVA sul centro di costo DIA ACC MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo SIL GEN MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo SIP GEN MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo DIR QUA MGZIS n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

17. di dare atto altresì che in ordine alle presenti procedure verranno rispettati gli obblighi di pubblicità previsti dalle vigenti disposizioni di legge in materia, con pubblicità degli atti sul sito istituzionale.

Unità Operativa Acquisizione Beni e Servizi

Il Dirigente

Dott.ssa Silvia Pezzotti

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Silvia Pezzotti', written in a cursive style.

## IL DIRETTORE GENERALE

**Oggetto:** Acquisto di beni di importo inferiore ad € 40.000,00+IVA, D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50 - DELIBERA DI INDIZIONE

**VISTA** la proposta di deliberazione avanzata del dirigente della UO Acquisizione Beni e Servizi Dott.ssa Silvia Pezzotti n. 104/PRO del 17/06/19 avente ad oggetto: “Acquisto di beni di importo inferiore ad € 40.000,00+IVA, D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50 - DELIBERA DI INDIZIONE”;

**VISTO** il parere di regolarità contabile espresso dal Dirigente della UO Economico Finanziaria;

**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 n. 104/PRO del 17/06/19 avente ad oggetto “Acquisto di beni di importo inferiore ad € 40.000,00+IVA, D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50 - DELIBERA DI INDIZIONE” 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 prendere atto delle seguenti relazioni nelle quali sono evidenziate le ragioni dell’acquisto di beni e servizi oggetto della presente procedura che si allegano in copia alla presente deliberazione e ne costituiscono parte integrante e sostanziale:

- richiesta per la fornitura di n. 3 separatori magnetici e n. 1 termomixer, acquisita agli atti con prot. 7513/18 del 10 ottobre 2018, che si compone di n. 3 pagine;
- richiesta per la fornitura di n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf, acquisita agli atti con prot. 7656/18 del 15 ottobre 2018, che si compone di n. 3 pagine;
- richiesta per la fornitura di n. 1 Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, con sistema autosterilizzante filtri HEPA, acquisita agli atti con prot. 8913/18 del 5 dicembre 2018, che si compone di n. 2 pagine;
- richiesta per la fornitura di n. 4 termometri di seconda linea, acquisita agli atti con prot. 5043/19 del 14 giugno 2019, che si compone di n. 2 pagine;

2. di dar luogo ad una Trattativa Diretta (TD) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 944028 - Affidamento ex art. 63, comma 3, lettera b), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. n. 3 separatori magnetici, in favore della ditta THERMO FISHER DIAGNOSTICS S.P.A.- CIG: 79310150A0, importo presunto € 1.300,00 +IVA;

3. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

4. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:

- Disciplinare di Gara;
- Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
- Capitolato speciale (Allegato 2);
- Capitolato tecnico (Allegato 3);
- Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
- Patto d'Integrità (Allegato 5);
- DGUE (Allegato 6);

5. di dar luogo ad una Trattativa Diretta (TD) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 944101- Affidamento ex art. 63, comma 2, lett. b) punto 2, del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 Termostato CO2, O2, N2, con sistema autosterilizzante filtri HEPA, in favore della ditta Thermo Fisher Scientific Milano Srl - CIG: 7931057348, importo presunto € 15.900,00+IVA;

6. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo DIA DIG MGZIS (Spese Diagnostica Generale), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

7. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:

- Disciplinare di Gara;
- Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
- Capitolato speciale (Allegato 2);
- Capitolato tecnico (Allegato 3);
- Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
- Patto d'Integrità (Allegato 5);
- DGUE (Allegato 6);

8. di dar luogo ad una Richiesta di Offerta (RDO) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 2322115 - Affidamento ex l'art. 36, comma 2, lettera a), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 BioSpectrometro a Fluorescenza Nano – System G1.0 Eppendorf, - CIG: 7931075223, importo presunto € 10.020,00+IVA;

9. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo VIR VIR MGZIS (Spese generali Biotecnologie), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

10. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:

- Disciplinare di Gara;
- Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
- Capitolato speciale (Allegato 2);
- Capitolato tecnico (Allegato 3);
- Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
- Patto d'Integrità (Allegato 5);
- DGUE (Allegato 6);

11. di invitare alla Richiesta di Offerta (RDO) tutti gli operatori economici iscritti all'Elenco dei Fornitori dell'Istituto per la classe merceologica di riferimento e presenti sul portale [www.acquistinretepa.it](http://www.acquistinretepa.it), trasmettendo per l'effetto agli operatori stessi la documentazione di cui al punto precedente;

12. di dar luogo ad una Richiesta di Offerta (RDO) sul Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA) n 2322130 - Affidamento ex l'art. 36, comma 2, lettera a), del D.Lgs 18 aprile 2016, n. 50, per la fornitura di n. 1 termomixer,- CIG: 7931087C07, importo presunto € 3.000,00+IVA;

13. di dare atto che il conto di bilancio su cui imputare la spesa è il seguente: centro di costo SPR GEN MGZIS (Attività istituzionali Rieti), n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

14. di approvare i seguenti documenti di gara detenuti agli atti, che verranno pubblicati sul portale del Mercato Elettronico della Pubblica Amministrazione (MEPA), oltre ai documenti automaticamente generati dal sistema stesso:

- Disciplinare di Gara;
- Dichiarazione sostitutiva di certificazione (Allegato 1);
- Capitolato speciale (Allegato 2);
- Capitolato tecnico (Allegato 3);
- Dichiarazione per la tracciabilità dei flussi finanziari (Allegato 4);
- Patto d'Integrità (Allegato 5);
- DGUE (Allegato 6);

15. di invitare alla Richiesta di Offerta (RDO) tutti gli operatori economici iscritti all'Elenco dei Fornitori dell'Istituto per la classe merceologica di riferimento e presenti sul portale [www.acquistinretepa.it](http://www.acquistinretepa.it), trasmettendo per l'effetto agli operatori stessi la documentazione di cui al punto precedente;

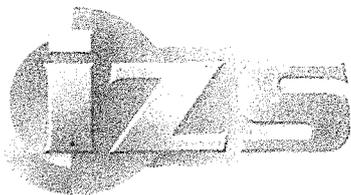
16. di dare luogo ad una procedura di affidamento diretto (ODA) n. 4986807, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. a), del D.Lgs. 50/2016, ai fini della fornitura di n 4 termometri di seconda linea, contrattando con la ditta RS Components, CIG: 79331377BF, per un costo di € 1.160,00+IVA da imputarsi come segue: € 290,00+IVA sul centro di costo DIA ACC MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo SIL GEN MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo SIP GEN MGZIS, € 290,00+IVA sul centro di costo DIR QUA MGZIS n. di conto 30200590000 (Transitorio cespiti);

17. di dare atto altresì che in ordine alle presenti procedure verranno rispettati gli obblighi di pubblicità previsti dalle vigenti disposizioni di legge in materia, con pubblicità degli atti sul sito istituzionale.

IL DIRETTORE GENERALE

(Dott. Ugo Della Marta)





**Sezione di Rieti**

Via Tancia, 21 - 02100 - Rieti  
Tel. 0746/201.599 - Fax. 0746/201642  
rieti@izslt.it

Prova NE 4513 / 18  
del 10/10/18

**Relazione tecnica per l'acquisto di Thermomixer, Magnetic Particle Concentrator e Cella elettroforetica.**

Per lo svolgimento delle attività di laboratorio previste nella ricerca "Caratterizzazione molecolare di *Toxoplasma gondii* in Italia Centrale: nuove acquisizioni relative al consumo di carne cruda" LT0116 sono necessarie, a completamento di quelle già esistenti, le seguenti attrezzature:

- **termomixer** che sia in grado di riscaldare/raffreddare ed agitare contemporaneamente, a temperatura ed agitazione strettamente controllate, soluzioni contenute in vari tipi di provette, dai tubi tipo Eppendorf da 1.5 ml, alle Falcon da 15 ml, fino alle piastre da 96 pozzetti per PCR. Questo strumento viene utilizzato durante le operazioni di digestione e concentrazione del DNA dai tessuti da analizzare, utilizzando sia kit commerciali sia metodi tradizionali che impiegano solventi organici, quali il fenolo. Alcuni step di queste metodiche prevedono infatti il mantenimento dei campioni in continua agitazione a temperature e tempi stabiliti.

**Importo presunto di spesa è di Euro 3000,00**

- **supporti magnetici per provette**, da utilizzare nelle procedure di estrazione e concentrazione del DNA come previsto dai kit Streptavidina-sepharose e M-270 Streptavidin Dynabeads che verranno utilizzati come da articolo di riferimento " Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat using magnetic capture and PCR." Elsevier- International Journal of Food Microbiology.

**Importo presunto di spesa** n 2 Dynabeads™ MPC™-1 Euro 600,00 ;  
n 1 Dynabeads™ MPC™-S Euro 460,00

- **cella elettroforetica orizzontale** da utilizzare per il controllo dell'estrazione del DNA e dell'amplificazione di segmenti di DNA amplificati via PCR.

**Importo presunto di spesa** Euro 500,00

Si allegano alla presente relazione:

Allegato 1 Capitolato tecnico per Termomixer

Allegato 2 Capitolato tecnico per cella elettroforetica

Allegato 3 Articolo " Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat using magnetic capture and PCR." Elsevier- International Journal of Food Microbiology.

In fede

Dottor Pietro Calderini



## Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR

Marieke Opsteegh<sup>a,b,\*</sup>, Merel Langelaar<sup>a</sup>, Hein Sprong<sup>a</sup>, Laurien den Hartog<sup>a</sup>, Stéphane De Craeye<sup>c</sup>, Gertie Bokken<sup>b</sup>, Daniel Ajzenberg<sup>d,e</sup>, Aize Kijlstra<sup>f</sup>, Joke van der Giessen<sup>a</sup>

<sup>a</sup> National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands

<sup>b</sup> Utrecht University, Institute for Risk Assessment Sciences, Utrecht, The Netherlands

<sup>c</sup> Scientific Institute of Public Health (IPH), Direction Communicable & Infectious Diseases, Brussels, Belgium

<sup>d</sup> Centre National de Référence (CNR) Toxoplasmose/Toxoplasma Biological Resource Center (BRC), Centre Hospitalier-Universitaire Dupuytren, Limoges, France

<sup>e</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine, Université de Limoges, Limoges, France

<sup>f</sup> Wageningen University and Research Centre, Animal Sciences Group, Lelystad, The Netherlands

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 13 January 2010

Received in revised form 25 February 2010

Accepted 28 February 2010

#### Keywords:

*Toxoplasma gondii*

Detection

Meat

Magnetic capture

Quantitative PCR

Genotyping

Source attribution

Bioassay

### ABSTRACT

Different transmission routes, including the ingestion of undercooked meat, can result in *Toxoplasma gondii* infection in humans. The development of effective prevention strategies is hampered by a lack of quantitative information on the contamination level of different types of meat. Therefore, we developed a method for detection and quantification of *T. gondii*. The method involved preparation of crude DNA extract from hundred gram samples of meat, magnetic capture of *T. gondii* DNA and, quantitative real-time PCR targeting the *T. gondii* 529-bp repeat element. The detection limit of this assay was approximately 230 tachyzoites per 100 g of meat sample. There was a linear relation between the number of parasites added to the samples and Cp-values. Results obtained with the PCR method were comparable to bioassay results for experimentally infected pigs, and to serological findings for sheep. In addition, the *T. gondii* in 50% of the positive sheep samples could be genotyped by sequencing of the GRA6 gene, after isolation of the gene by magnetic capture. Two subtypes of GRA6 type II were identified in the 16 samples from sheep. For seven samples, the identification of *T. gondii* as type II was confirmed by microsatellite typing. The PCR method can be used as an alternative to bioassay for detection and genotyping of *T. gondii*, and to quantify the organism in meat samples of various sources.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Infections by the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* are widespread in humans and in many warm-blooded animal species. Although most infections in humans are asymptomatic, severe complications may occur in immunocompromised patients and after congenital *T. gondii* infection (Weiss and Dubey, 2009). The incidence of congenital toxoplasmosis in the Netherlands was recently estimated at 2 per 1000 live-born children (Kortbeek et al., 2009). Using these new data the disease burden was calculated at 2300 disability-adjusted life years (Kortbeek et al., 2009), which is almost four times higher than the previous estimate (Havelaar et al., 2007). This high disease burden makes toxoplasmosis one of the most important food-borne infections, and underscores the necessity to intervene. Considering the lack of evidence of the effectiveness of treatment

(Thiebaut et al., 2007; Gilbert, 2009), prevention strategies are considered most effective. Humans can contract *T. gondii* via tissue cysts in undercooked meat and via accidental ingestion of oocysts by contact with cat faeces, contaminated soil, water, or vegetables. Even though the sources of *T. gondii* infection for humans are well known, insight in their relative contribution needs to be improved for the development of effective prevention strategies. Risk-factor analysis indicates that 30 to 63% of human infections can be attributed to the consumption of undercooked meat (Cook et al., 2000). However, what kind of meat contributes most to human infections depends on prevalence of *T. gondii* in consumption animals and on eating habits. An indication of the relative contribution of different kinds of meat can be obtained by screening large numbers of meat samples for the presence of *T. gondii*. Genotyping isolated parasites will give further insight into the epidemiology of toxoplasmosis.

The gold standard for detecting *T. gondii* in meat samples is a bioassay using either mice or cats. These bioassays are laborious and time-consuming techniques, which are not desirable for screening large numbers of samples from an animal ethics point of view. Therefore, PCR-based methods to detect *T. gondii* in meat samples

\* Corresponding author. P.O. Box 1, 3720 BA Bilthoven, The Netherlands. Tel.: +31 30 274 4712; fax: +31 30 274 4434.

E-mail address: [marieke.opsteegh@rivm.nl](mailto:marieke.opsteegh@rivm.nl) (M. Opsteegh).

(30 mAnson-U/mg; Merck, Haarlem, The Netherlands) was added at 2.5 ml per gram of sample. The sample was homogenized in the Stomacher400 (Seward, Worthing, United Kingdom) for 2 min at high speed. The bag was sealed, and the sample was incubated overnight at 55 °C in a water bath. After incubation, the samples were homogenized for 1 additional minute. Afterwards, 50 ml of homogenate was transferred to a 50-ml tube, and centrifuged for 45 min at 3500 × g. Twelve millilitres of supernatant (crude extract) was transferred to a 15-ml polypropylene tube.

### 2.2.2. Removal of free biotin

Twelve millilitres of crude extract was incubated at 100 °C for 10 min to inactivate the proteinase K. Per sample, 50 µl of streptavidin sepharose (binding capacity 300 nmol/ml; GE Healthcare, Amersham, United Kingdom) was washed 3 times in phosphate buffered saline (PBS). After cooling down the crude-extract samples to below 40 °C, the washed streptavidin-sepharose was added. The samples were incubated for 45 min at room temperature, while rotating at 10 rpm, to allow for streptavidin–biotin binding. Afterwards, the tubes were centrifuged for 15 min at 3500 × g, and 10 ml of biotin-free supernatant was transferred to a clean 15-ml polypropylene tube.

### 2.2.3. Sequence-specific magnetic capture

Ten picomoles of Tox-CapF and Tox-CapR (Table 1) were added to each supernatant. The supernatants were heated at 95 °C for 15 min to denature all DNA. Then, the tubes were transferred to a shaking water bath set at 55 °C, and left to allow for hybridization between capture-oligonucleotides and *T. gondii* DNA for 45 min. The tubes were left to cool down to room temperature while rotating at 10 rpm for 15 min. Per sample, 80 µl of M-270 Streptavidin Dynabeads (Invitrogen) was washed in Binding & Washing (B&W) buffer (5 mM Tris HCl pH 7.5, 0.5 mM EDTA pH 8.0, 1 M NaCl) according to the manufacturer's instructions. The washed beads and 2 ml of 5 M NaCl were added to each supernatant sample and the samples were incubated rotating (10 rpm) at room temperature for 60 min. The complex of streptavidin bead and biotin-labelled capture-oligonucleotide with hybridized *T. gondii* DNA was isolated using the Dynal MPC-1 magnet (Invitrogen). The tube was placed in the magnet for 10 min and supernatant was removed with a disposable Pasteur pipette. The beads were washed twice in B&W buffer, and resuspended in 50 µl of distilled water in a 1.5-ml tube. The bead suspension was heated at 100 °C for 10 min to release *T. gondii* DNA from the beads. The tube was placed in the Dynal MPC-S magnet (Invitrogen), and the supernatant was immediately transferred to a clean 1.5-ml tube. Beads were discarded. The magnetic-capture procedure is summarized in Fig. 1.

### 2.2.4. Real-time quantitative PCR on 529-bp repeat element

PCR amplification was performed in 96-wells plates using a LightCycler480 thermal-cycler instrument (Roche, Almere, The Netherlands). The 20 µl reaction mixture consisted of 4 µl 5× concentrated Taqman master mix (Roche), 0.7 µM of each primer (Tox-9F and Tox-11R), 0.1 µM of Tox-TP1, 0.2 µM of CIAC-probe, 0.02 fg of CIAC, and 10 µl of template DNA. The reaction mixture was initially incubated at 95 °C for 10 min to activate FastStart DNA polymerase. Initial incubation was followed by 45 amplification cycles that consisted of a denaturation step at 95 °C for 1 s, an annealing step at 58 °C for 20 s, and an extension step at 72 °C for 20 s. Afterwards, the samples were cooled to 40 °C for 5 s. The temperature transition rate was 4.40 °C/s for an increase in temperature and 2.20 °C/s for a decrease in temperature. Fluorescence at 530 nm (Tox-TP1) and 560 nm (CIAC-probe) was measured at the end of each extension step. A *T. gondii* DNA standard series was included on each run for calculation of the standard curve, and estimation of PCR efficiency (>1.85) and error (<0.05). For each sample, the fluorescence-by-cycle-curve was used to calculate the fractional cycle number or crossing point (Cp) at which the second derivative was at its

maximum (LightCycler software, Roche). Either Cp-values or scores (positive/negative) were used in the analysis. All samples with a Cp-value that show a smooth exponential-amplification curve were scored positive, all samples without a Cp-value but with a positive CIAC-PCR were scored negative. Samples without a Cp-value and with a negative CIAC-PCR were retested.

## 2.3. Magnetic capture and genotyping

### 2.3.1. Magnetic capture of GRA6 gene

For field samples positive in MC-PCR, 12 ml of crude extract, prepared as described, was used to capture the GRA6 gene, after removal of free biotin. Capture was performed according to the protocol described with slight modifications: 15 pmol of GRA6-CapF and GRA6-CapR (Table 1) were used, and GRA6 DNA was not released from the beads. Instead, 10 µl of resuspended beads was used as template in PCR.

### 2.3.2. GRA6 PCR

Twenty-five microlitres of PCR reaction mixture contained 12.5 µl of HotStarTaq Master Mix (Qiagen), 10 pmol of each primer (GRA6-F1 and GRA6-R1), 10 µl of template, and RNase-free water. The PCR reaction, performed on a conventional thermal cycler (Hybaid Px2 thermal cycler; Thermo Scientific), was initiated by a heat activation step of 15 min at 94 °C, followed by 45 amplification cycles (30 s at 94 °C, 30 s at 63 °C, and 45 s at 72 °C), and a final extension step of 10 min at 72 °C. PCR products were visualized by gel electrophoresis, SYBRgold (Invitrogen) staining and UV illumination.

### 2.3.3. Sequencing of GRA6-PCR products

Positive PCR products were cleaned up using ExoSAP-IT (usb, Staufen, Germany), according to the manufacturer's instructions. The sequencing mixture contained: 7 µl sequence buffer (200 mM Tris HCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.0), 1 µl BigDye Terminator reagent v3.1 (Applied Biosystems, Nieuwerkerk a/d IJssel, The Netherlands), 4 µl Q-solution (Qiagen), 5 pmol of either primer GRA6-F1 or GRA6-R1, 1 up to 3 µl of cleaned PCR-product (depending on the strength of the band on gel), and milliQ water up to a final volume of 20 µl. The program consisted of 25 cycles (30 s at 95 °C, 15 s at 50 °C, and 4 min at 60 °C). Sequencing reactions were purified using BigDye X Terminator Purification kit (Applied Biosystems) and were analyzed using the 3730 DNA analyzer (Applied Biosystems). DNA sequences were stored and analyzed using BioNumerics 5.1 (Applied Maths, Ghent, Belgium). Representative sequences were submitted to GenBank.

## 2.4. DNA isolation using High Pure PCR template preparation kit

For microsatellite typing, several target sequences should be available in the DNA extract. Therefore, 250 µl of the crude extract (equivalent to 80 to 100 mg of tissue sample and prepared as described) was purified using High Pure PCR template preparation kit (Roche). This kit contains spin columns with two layers of glass fiber fleece for DNA isolation and purification. The manufacturer's protocol for mammalian tissue was used from step 2 (adding binding buffer) onwards (<http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/1732668a.pdf>). Final elution was done in 100 µl. These samples were tested by real-time PCR on the 529-bp repeat element as described. Samples from naturally infected sheep with a Cp-value below 30 were sent to the *Toxoplasma* Biological Resource Center (Limoges, France) for microsatellite typing (Ajzenberg et al., 2009).

## 2.5. Bioassay

To check for the presence of infectious cysts, hundred gram samples of tissue were tested by bioassay in mice. Each sample was mixed with 250 ml pepsin solution (0.8 g/l pepsin, 85 mM NaCl, 0.26%

Prot. N. 7656/18  
 del 15/10/2018

2.00  
 1) Verificare con Delli  
 2) contabile e trascritto



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
 DEL LAZIO E DELLA TOSCANA M. ALEANDRI

DIREZIONE ACQUISIZIONE BENI E SERVIZI

## Relazione preliminare all'acquisto di apparecchiature non di base, ad alto impatto economico o a rilevanza per l'Ente

STRUTTURA/E RICHIEDENTI: U. S. Biotecnologie CROGM

RESPONSABILE/I: Roberta Cavallina- Ugo Marchesi

APPARECCHIATURA RICHIESTA: BioSpectrometer Fluorescence Nano-System G1.0 Eppendorf

ANNO DI RIFERIMENTO SUL PIANO DI ACQUISTO DELLE APPARECCHIATURE: 2017

DATA DI CONSEGNA DELLA SCHEDA ALLA COMMISSIONE ACQUISTI: 15/04/2016 \*

\* Ove fosse necessario aggiornare una scheda già consegnata con una nuova versione, per un aggiornamenti di uno o più punti, deve essere fatto riferimento alla data di consegna alla segreteria della Commissione della precedente versione che provvederà ad effettuare la sostituzione.

**1. Introduzione** (indicare le applicazioni tecnologiche dello strumento per il quale si propone l'acquisto, descrivendone anche le caratteristiche innovative rispetto ad apparecchiature eventualmente già in dotazione impiegate nell'ambito della stessa tipologia di attività)

La quantificazione del DNA costituisce, all'interno della Struttura di Biotecnologie, una importante componente sia nello svolgimento dell'attività diagnostica di routine, sia nello sviluppo e nella messa a punto di nuove metodiche biomolecolari. La rilevanza di tale fase risiede, in particolare, nel fatto di costituire parte integrante e sostanziale del pannello di prove accreditate dalla Struttura per la ricerca di OGM in alimenti e mangimi, con particolare riferimento alla procedura operativa standard denominata POS VIR 038 INT. In oltre, il suddetto pannello di prove accreditate, assume particolare rilevanza in quanto emesso dal Centro di Referenza Nazionale per gli Organismi Geneticamente Modificati (CROGM), e per tale motivo condiviso ufficialmente con la rete italiana dei laboratori del controllo ufficiale OGM (NILO), a supporto dell'attività analitica prevista dai Piani Nazionali per la ricerca di OGM nell'alimentazione umana e animale.

I campioni analizzati in tale contesto sono rappresentati da matrici agro-alimentari, contenenti, costituite o derivate da soia, mais, cotone, colza e barbabietola da zucchero, riso, lino, patata. Dopo la fase di estrazione del DNA assume particolare importanza la quantificazione del DNA per la corretta esecuzione di tutte le prove in PCR real time.

L'acquisto dello strumento permette di dismettere il fluorimetro nanodrop 3300 Fluoro Spectrometer ThermoScientific, non funzionante, e far utilizzare ad altri laboratori il BioPhotometro 6131 Eppendorf

**2. Motivazioni della/e struttura/e richiedente/i** (indicare i motivi dell'acquisto: sostituzione di apparecchiature obsolete e/o fuori uso, necessità di integrazione delle dotazioni per soddisfare l'aumento di richiesta diagnostica, automazione dei processi anche in funzione di contrarre la spesa del personale, necessità indotte da nuove norme etc....)

Presso il CROGM attualmente la quantificazione del DNA estratto viene effettuata spettrofotometricamente, utilizzando un Bio Photometer Eppendorf che permette la determinazione della concentrazione e della purezza del DNA. Con lo spettrofotometro è possibile eseguire letture in ASSORBANZA con un limite, derivante dalla legge di Lambert –

come meglio

Beer, valido per tutte le macchine di qualsiasi costruttore intorno a 2,5 ng/microlitro (con un piccolo margine dato dai diversi modelli) ma in caso di lettura (a 260 nm) in ASSORBANZA inferiore a 0,1 non si è in grado di determinare la concentrazione del DNA. In questi casi l'unica soluzione è la quantificazione in fluorescenza che permette di quantificare a concentrazioni nell'ordine del pg/microlitro. L'acquisizione di un fluorimetro per la quantificazione del DNA da campioni alimentari per la ricerca di OGM, permetterebbe di ottimizzare questa cruciale fase analitica consentendo di effettuare le prove in PCR real time con maggiore accuratezza, e ciò è ormai imprescindibile per un laboratorio nazionale di riferimento.

**3. Valore aggiunto che l'acquisto può apportare all'Ente** (indicare oggettivamente i vantaggi che l'acquisizione dell'apparecchiatura potrà comportare in termini di miglioramento della qualità dei servizi, di sicurezza, di sviluppo tecnologico e crescita professionale e di immagine dell'Ente, di possibile riduzione dei costi per esame, di ricavi in termini di prestazioni a pagamento e/o piani finanziati, etc.)

L'acquisizione di un sistema fluorimetrico per la stima quantitativa di DNA estratto da campioni alimentari per la ricerca di OGM è ormai imprescindibile per un laboratorio nazionale di riferimento. L'accuratezza di tali stime è peraltro fondamentale per la validazione dei metodi da portare in accreditamento.

**4. Analisi quantitativa della funzione svolta dall'apparecchiatura richiesta** (ai fini della giustificazione della spesa, indicare il numero di determinazioni analitiche svolte nell'ultimo triennio e la previsione per il triennio successivo in rapporto alle potenzialità dello strumento di cui si richiede l'acquisto, effettuando una stima in funzione della copertura dei costi relativa al periodo di ammortamento. Tale indicazione potrà tenere conto anche dei volumi di attività delle strutture di cui al punto 5)

Nello scrivente laboratorio, ogni anno, vengono effettuate più di 1200 estrazioni per cui è necessaria la stima quantitativa del DNA estratto. Tali volumi di attività sarebbero quasi totalmente trasferiti sulla strumentazione richiesta.

**5. Comparazione costi affidamento attività in service** (per i casi possibili, verificare il costo relativo alla fruizione delle stesse prestazioni per le quali si richiede l'acquisto dello strumento avvalendosi di contratti con ditte esterne)

Non applicabile al CROGM

**6. Possibile utilizzo da parte di altre strutture** (indicare le altre strutture dell'Istituto interessate all'uso condiviso dell'apparecchio che dovranno sottoscrivere la successiva richiesta di acquisto)

Lo strumento è disponibile, previa opportuna formazione preliminare, a chi abbia necessità di utilizzarlo, all'interno ed all'esterno della struttura.

**7. Logistica** (ai fini dell'acquisto, indicare l'area di lavoro e l'esistenza degli spazi per la collocazione dello strumento. Dichiarare l'eventuale necessità e la tipologia di interventi strutturali necessari ai fini dell'installazione)

L'installazione della strumentazione non richiede interventi strutturali, ed andrebbe collocata nell'area di prova 202 dell'U.S. Biotecnologie.

**8. Comparazione tecnologia e strumenti sul mercato** (effettuare una disamina sulle differenti tecnologie disponibili in grado di fornire le stesse prestazioni analitiche, rappresentandone vantaggi e svantaggi. Relativamente alla tecnologia individuata come più rispondente, elencare gli strumenti assimilabili disponibili sul mercato. Evidenziare le motivazioni di un eventuale acquisto con esecutore economico determinato)

A seguito di una attenta ricerca di mercato, è stato possibile individuare numerosi fluorimetri tutti con potenzialità confrontabili.

Solo uno di essi però è al contempo spettrofotometro e fluorimetro: il BioSpectrometer fluorescens prodotto dalla ditta Eppendorf. Esso è infatti in grado di effettuare misurazioni in assorbanza nel campo UV e Vis da 200 a 830 nm, ma anche mediante l'utilizzo di intercalanti fluorescenti. Le misure fluorimetriche possono essere realizzate mediante l'utilizzo di vari kit presenti sul mercato.

Lo strumento è concepito per avere a disposizione sia la lettura in Assorbanza che in Fluorescenza in modo tale da poter integrare i dati qualitativi e quantitativi ottenibili con i due sistemi. E' infatti importante tener presente che le letture in assorbanza sono più rapide, meno costose, ed evidenziano anche le impurità eventualmente presenti nel DNA estratto, d'altro canto la fluorescenza restituisce valori quantitativi incomparabilmente migliori in termini di specificità, accuratezza e sensibilità.

**9. Costo presunto e piano di acquisto** (sulla base di indagini di mercato, anche ai fini della successiva definizione della base d'asta, fornire indicazioni sul costo dello strumento. Nota bene: ai fini dell'indicazione dei costi, includere anche tutti gli accessori necessari al funzionamento della macchina per gli scopi e le motivazioni descritte. Per le apparecchiature facenti parte di un sistema integrato - es. apparecchiature che prevedano anche separati strumenti di estrazione, preparazione dei campioni, sistemi di lettura, hardware/software etc. - la proposta non dovrà essere limitata ad un solo componente del sistema. In caso di dotazione di sistema già disponibili, specificarne la compatibilità. In caso di possibilità di acquisto/noleggio attraverso l'impiego di fondi non istituzionali - Piani finanziati, Progetti di ricerca e Progetti obiettivo - afferenti alla/e struttura/e richiedenti, fornire indicazioni relativamente al piano di acquisto che tengano in considerazione le scadenze stesse delle disponibilità finanziarie)

Acquisto in soluzione unica prezzo al netto dello sconto del 22% è di € 7788,30 Garanzia 24 mesi

Acquisto di filtri specifici al netto dello sconto del 22% costo filtri € 2.229,24.

COSTO TOTALE € 10.017,54 - IVA?

Il CROGM potrebbe utilizzare i fondi in conto capitale disponibili sulla commessa 8OGM14 o esplorare le altre ipotesi.

**10. Costi connessi alla gestione dell'apparecchiatura (ipotesi a tre anni)** (sulla base dei volumi di attività di cui al punto 4, stimare i costi di gestione considerando le spese relative ai materiali di consumo, personale, manutenzioni ordinarie e straordinarie al di fuori del periodo di garanzia)

Nello scrivente laboratorio, ogni anno, vengono effettuate più di 1200 estrazioni per cui è necessaria la stima quantitativa del DNA estratto. In base a tali volumi di attività i costi di gestione sarebbero comparabili a quelli attualmente sostenuti con la strumentazione in uso, senza tenere conto delle opzioni sulla manutenzione già illustrati al punto 9.

**11. Competenza specialistica all'uso ed all'interpretazione del dato analitico**

(Verificare che la dotazione organica disponibile presso la struttura sia già in possesso delle competenze necessarie ai fini dell'utilizzo dello strumento. Indicare se risulta necessario effettuare percorsi di addestramento stimandone gli eventuali costi. Indicare se l'acquisizione e l'uso dello strumento comporti la necessità di avvalersi di professionalità non presenti in Istituto)

Il personale operante presso il CROGM ha le competenze per gestire lo strumento proposto, previa formazione specifica prevista nella fornitura.

**12. Possibilità di operare in convenzione con altri Enti/Istituzioni** (escludere la possibilità di stipulare convenzioni con altre istituzioni in possesso dell'apparecchiatura richiesta ai fini dell'effettuazione delle attività individuate)

Non applicabile al CROGM.

**13. Manuale d'uso esclusivamente in lingua italiana** SI  NO

Data 11/07/2017

Firma del/i richiedenti



.....



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

*Direzione Operativa Diagnostica Generale*

*Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (D. M. 4 ottobre 1999)*

*National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (Reg. 882/2004/EC)*

Roma, 04/12/2018

IZSLT  
PROT\_PROTOCOLLO GENERALE  
2-Partenza  
Numero Protocollo: 0008913/18  
Data Protocollo: 05/12/2018

A:  
Ufficio Acquisizione Beni e Servizi  
SEDE

Prot.  
All.

Oggetto: Acquisto Termostato CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> con sistema autosterilizzante e filtri HEPA

Il Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza e National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, effettua prove per isolamento di *Campylobacter* zoonotici da campioni animali provenienti da tutto il territorio nazionale per il Piano di Monitoraggio Armonizzato Antibioticoresistenza, ai sensi della Dec. 2013/652/EU.

Ha necessità di garantire efficienza ed accuratezza delle prove di isolamento di tali agenti patogeni, allo scopo di riportarne prevalenza e profilo di antibioticoresistenza all'Autorità Sanitaria Nazionale (Ministero Salute) e all'Autorità sovranazionale, secondo la vigente normativa EU e nazionale.

Allo scopo di garantire certezza e continuità di servizio pubblico, ad integrare l'unico strumento in uso presso la Struttura, obsoleto e spesso in riparazione (dopo oltre 12 anni di esercizio), richiede l'acquisto di un termostato con le sottoelencate caratteristiche:

Termostato con sistema di controllo a tre gas (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>), per il controllo in camera della %CO<sub>2</sub> e %O<sub>2</sub> (aumentata tensione di CO<sub>2</sub> e ridotta tensione di O<sub>2</sub>).

Le condizioni di esercizio di temperatura prevalente saranno:

In camera: Temperatura  $41,5 \pm 1$  °C;

Per l'atmosfera all'interno della camera di incubazione, è necessario che il termostato sia in grado di riprodurre un'atmosfera microaerobica appropriata, con contenuto di ossigeno di 5%, anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) 10%, e di azoto (N<sub>2</sub>) di equilibrio, nelle maggiori condizioni di accuratezza possibili.

Scopo: la coltivazione agenti biologici "difficili" del Genere *Campylobacter* e microrganismi con simili caratteristiche di crescita.

Quindi un incubatore che mantenga condizioni di ridotta tensione di O<sub>2</sub>, e aumentata tensione di CO<sub>2</sub>.

Queste condizioni tipicamente si ottengono immettendo nella camera di incubazione gas CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> (es. bombole e manometri, erogatori di CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>) con un sistema che presenza di sistema di controllo e sonde per CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (nei range di esercizio di cui sopra).

Il termostato deve avere:

- un sistema che consenta un ciclo automatico di sterilizzazione a secco a 180°C per le operazioni periodiche di sanificazione della camera di incubazione.

-un sistema di filtri HEPA integrato nella camera di incubazione, allo scopo di garantire un livello di riduzione di contaminazione superiore a quanto previsto da ISO-5, e ulteriori due filtri HEPA a protezione

la access-port e dell'ingresso delle linee di gas, per minimizzare il rischio di contaminazione delle colture.

-Detector CO2 a termococonducibilità o infrarosso per la misura della % CO2, per una maggior accuratezza del range di CO2.

Dimensioni, interne: necessario un volume di 250L, con la porta l'accesso alla camera interna frazionato (apertura a sportellini).

Il modello che risponde alle specifiche tecniche di cui sopra è il termostato CO2, O2, N2 (Tri-gas) Forma Steri Cycle Thermo i250:

Unicità del Termostato CO2, O2, N2 (Tri-gas) Forma Steri Cycle Thermo i250:

-Ciclo di sterilizzazione automatico a secco a 180°C per la sterilizzazione periodica

-Filtro HEPA integrato nella camera di incubazione, allo scopo di garantire un livello di riduzione di contaminazione superiore a quanto previsto da ISO-5, e ulteriori due filtri HEPA a protezione della access-port e dell'ingresso delle linee di gas, per minimizzare il rischio di contaminazione delle colture.

-Detector CO2 a termococonducibilità o infrarosso per la misura della % CO2, doppia sonda di temperatura per il backup reciproco.

Costo stimato dello strumento, nella configurazione:

termostato Trigass con controllo (Detector) Infrarosso (IR) % CO2, controllo O2 e apertura a 6 sportellini a tenuta di gas e installazione: circa 15.900 Euro IVA esclusa

La spesa sarà imputata al Centro di Costo DIA/DIG/MGISZ

Il Responsabile della D. O. Diagnostica Generale

Dr. Antonio Battisti



Prot 5043/13  
del 14/06/19Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri**Modulo richiesta di acquisto di apparecchiature sanitarie di base**

STRUTTURA <b>QUALITÀ E SICUREZZA</b>	RESPONSABILE Dott.ssa Silvana Guzzo	REFERENTE PER LE PROVE FUNZIONALI E/O COLLAUDO O PERSONA DELEGATA Mariateresa Ruggeri
APPARECCHIATURA DA ACQUISTARE n. 4 Termometri di seconda linea	UBICAZIONE (PALAZZINA/PIANO/AREA DI LAVORO) 1) Accettazione Roma 2) UOT Lazio SUD 3) Toscana Nord 4) Qualità (come muletto)	NECESSITA' INTERVENTO CENTRO METROLOGICO PER TARATURA SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
CENTRO DI COSTO 1) DIA ACC 2) SIL GEN 3) SIP GEN 4) DIR QUA	ANNO DI RIF. PIANO ACQUISTI 2019	MANUALE IN LINGUA ITALIANA SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
DATA DI CONSEGNA ALLA CPA 05/06/2019	APPARECCHIO IN SOSTITUZIONE SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	APPARECCHIATURA DA SOSTITUIRE (MARCA/MODELLO) Termometri di seconda linea marca Delta OHM Modello HF 2107.1 + Sonda di temperatura sensore PT 100 TP4721
UBICAZIONE DELL'APPARECCHIATURA DA SOSTITUIRE 1) Accettazione Roma 2) UOT Lazio SUD 3) Toscana Nord 4) Qualità (come muletto)	COSTO PRESUNTO 1 termometro =287,92€ 4 termometri=1151,68 €	CENTRO UNICO PROGETTO (CUP) /

**1. Motivazioni della/e struttura/e richiedente/i** (indicare i motivi dell'acquisto: sostituzione di apparecchiature obsolete e/o fuori uso, necessità di integrazione delle dotazioni per soddisfare l'aumento di richiesta diagnostica, automazione dei processi anche in funzione di contrarre la spesa del personale, necessità indotte da nuove norme etc....)

Si rende necessario l'acquisto di n.4 termometri di seconda linea (3 da destinare alle accettazioni di Roma, Latina e Pisa e 1 da destinare alla Qualità, da tenere come muletto, da poter mandare eventualmente in sostituzione). L'acquisto è urgente perché i termometri utilizzati presso le Sedi indicate sono stati dichiarati fuori uso e pertanto le accettazioni non hanno possibilità di rilevare le temperature dei campioni

**2. Possibile utilizzo da parte di altre strutture** (indicare le altre strutture dell'Istituto interessate all'uso condiviso dell'apparecchio che dovranno sottoscrivere la successiva richiesta di acquisto)

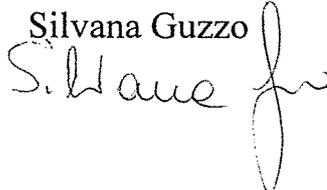
ACCETTAZIONE – UOT LAZIO SUD – UOT TOSCANA NORD

**3. Necessità di interventi strutturali** (Dichiarare l'eventuale necessità e la tipologia di interventi strutturali necessari ai fini dell'installazione)

/

Data 05/06/2019

Firma del richiedente

Silvana Guzzo  


## **PUBBLICAZIONE**

Copia della presente deliberazione è stata pubblicata ai sensi della L.69/2009 e successive modificazioni ed integrazioni in data 18/06/2019.

IL FUNZIONARIO INCARICATO  
Sig.ra Eleonora Quagliarella

