

ATTO DI VALUTAZIONE DI CONGRUITA' TECNICA

1. Atto di valutazione di congruità tecnica presentata dalla Dott.ssa Alessandra Voci, con cui è stata esaminata la documentazione tecnica ed è stata valutata congrua l'offerta economica del 04/07/2025, trasmessa via PEC in data 09/07/2025, presentata da Merck Life Science S.r.l., per l'importo di Euro 10.741,20 (diecimilasettecentoquarantuno/20) oltre IVA, ove dovuta, rispetto all'importo massimo della fornitura, riportato nella Determina a contrarre, pari ad Euro 12.449,10 (dodicimilaquattrocentoquarantanove/10) oltre Iva, ove dovuta.

2. Trattasi di documentazione relativa alla procedura negoziata senza previa pubblicazione di un bando di gara, ai sensi dell'art. 76, comma 4, lett. b) del d. lgs. n. 36/2023, per l'affidamento della fornitura dei materiali consumabili, riportati nell'Allegato 1 "Allegato_01_MERCK_E83C24000770006_MOA_11042025", necessari alla conduzione degli esperimenti (che comprende anche il corretto funzionamento delle apparecchiature di laboratorio) per le attività di ricerca presso l'Area di Ricerca Pediatria Traslazionale e Genetica Clinica, Unità di Ricerca Malattie Neuromuscolari e presso l'Area di Ricerca Innovazioni Gestionali, Diagnostiche e Percorsi Clinici, Unità di Ricerca Microbioma dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, nell'ambito del progetto della sezione Malattie Rare con codice WFR PNRR-MR1-2023-12377481, dal titolo "The identification of microbial prognostic markers in Tuberous Sclerosis Complex-related Autism Spectrum Disorder" coordinato dalla Dott.ssa Romina Moavero;

- CUP E83C24000770006

3. La fornitura in questione è finanziata con fondi PNRR NextGenerationEU, Missione 6 Componente 2, Investimento 2.1 del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza, relativo all'innovazione, alla ricerca e alla digitalizzazione del Sistema Sanitario Nazionale e al Potenziamento della Ricerca Biomedica, approvato con Decreto Direttoriale n. 27 del 2 novembre 2022 del Ministero della Salute, registrato con Visto n.1054 dall'Ufficio Centrale di Bilancio in data 18 novembre 2022;

4. Pertanto, per la formalizzazione dell'accordo quadro in questione, l'OPBG ha deciso di procedere in ottemperanza alle disposizioni del Decreto Legislativo 31 marzo 2023 n.36 e ss.mm.ii. e della normativa vigente in materia di appalti e contratti pubblici, nonché di quanto previsto dal D. L. 31 maggio 2021 n.77, convertito con modificazioni in Legge 29 luglio 2021 n.108;

5. La fornitura in questione ha ad oggetto l'acquisto di materiali consumabili indicati nel progetto della sezione Malattie Rare con codice WFR PNRR-MR1-2023-12377481, dal titolo "The identification of microbial prognostic markers in Tuberous Sclerosis Complex-related Autism Spectrum Disorder" coordinato dalla Dott.ssa Romina Moavero.

-Relazione Dott.ssa Alessandra Voci:

I 15 prodotti (materiale consumabile) presenti nel file "Allegato_01_MERCK_E83C24000770006_MOA_11042025" sono necessari per le attività di ricerca del progetto dato che i ricercatori che li utilizzeranno ne hanno esperienza di elevata affidabilità e riproducibilità necessarie per garantire in modo efficiente la conduzione degli esperimenti ed il corretto funzionamento delle apparecchiature di laboratorio.

In particolare:

A: i seguenti 5 prodotti servono per l'estrazione delle proteine dai campioni biologici e la loro digestione in peptidi per la successiva identificazione tramite spettrometria di massa (proteomica o metaproteomica nel caso di comunità batteriche complesse):

1- MRCPRT010 Microcon – 10kDa Centrifugal Filter Units, concentratori con membrana di cellulosa rigenerata Ultracel® (a basso legame) a cut-off di 10 kDa, che permettono di trattenere in modo efficiente e veloce gli analiti (come le proteine) di peso molecolare maggiore di 10000 ed eliminare tutto ciò che ha peso molecolare inferiore con una centrifugata consentendo anche la digestione delle proteine con enzimi proteolitici senza dover manipolare in modo eccessivo il campione;

2- D9163-5G DL-Dithiothreitol 5G (reagente chimico) che consente di per mantenere i gruppi sulfidrilici allo stato ridotto (-SH) e per la riduzione quantitativa dei gruppi disolfuro (-S-S-), la cui utilità deriva dalla solubilità in acqua e dall'odore ridotto rispetto ad altri composti tiolici;

3- I1149-5G Iodoacetamide (reagente chimico) capace di reagire con i gruppi tiolici (-SH) delle cisteine nelle proteine bloccandoli dopo una riduzione dei ponti disolfuro stabilizzando così le proteine e impedendo che queste interagiscano tra loro, mantenendo la struttura primaria in condizioni di riduzione;

4- L4509-100G Sodio dodecil solfato (reagente chimico) che permette la denaturazione delle proteine legandosi in modo non specifico ai loro gruppi idrofobici, distruggendo le strutture secondarie e terziarie delle proteine e rendendole lineari;

5- A6141-500G Ammonium bicarbonate (reagente chimico) mantenendo il pH alcalino, è utile per creare condizioni in cui le proteine possano essere efficientemente scomponibili in peptidi più piccoli durante la digestione enzimatica (es. tripsina);

B: il seguente prodotto serve per l'estrazione del DNA dai campioni biologici ed il loro sequenziamento (genomica o metagenomica nel caso di comunità batteriche complesse):

6- 4738292001 FastStart_HiFi PCR System dNTP Pack (500U) è un kit di reagenti necessario per poter analizzare i campioni biologici tramite sequenziamento di nuova generazione (NGS, metagenomica). Il kit comprende il sistema FastStart High Fidelity PCR e una soluzione pronta all'uso di nucleotidi di grado PCR. Il sistema è stato progettato per amplificare il DNA in modo preciso, con una bassa probabilità di errore di incorporazione, e quindi utilizzato per ottenere una replica accurata del DNA target, processo particolarmente importante quando si lavora con DNA complesso e altamente diversificato come in metagenomica, poiché garantisce che la replicazione del DNA avvenga con un basso tasso di errori, cruciale per ottenere risultati affidabili nelle analisi downstream (come sequenziamento, assemblaggio e annotazione). Il sistema è quindi ottimizzato per ridurre il tempo e le condizioni necessarie per amplificare il DNA, aumentando l'efficienza della PCR, un aspetto molto utile quando si lavora con campioni metagenomici complessi;

C: i successivi ultimi 9 prodotti servono per l'analisi dei metaboliti dei campioni biologici sia tramite spettrometria di massa accoppiata alla gas-cromatografia (n. 7, 8, 9, 10, 11 e 13) e alla cromatografia liquida (12, 13, e 14), sia tramite spettrofotometria (n.15):

7- 27232 Sigma-Aldrich Pk100 20mm Butyl Septa, sono tappi utilizzati in gas cromatografia per chiudere i contenitori in vetro ("vials") dove vengono preparati i campioni da analizzare (come ad esempio le feci per lo studio del microbiota); il loro scopo è quello di sigillare le vials in modo da prevenire contaminazioni e perdite del campione. I tappi sono realizzati in gomma butilica che consente una chiusura sicura, ma anche una facile penetrazione per le successive necessarie iniezioni dei campioni, senza contaminare l'analisi. La gomma butilica è inoltre resistente a una varietà di solventi e reagenti chimici, che la rende adatta per una vasta gamma di analisi in gas cromatografia;

8- 27230-U Aluminum crimp seal (without septum), silver aluminum, open center, diam. × opening 20 mm × 9.5 mm, pkg of 100 ea sono ghiera in alluminio che serve per sigillare in modo ancora più le vials contenenti i campioni in applicazioni di gas cromatografia (per applicazioni di metabolomica untargeted): esso è realizzato per essere "crimpato" (ovvero, schiacciato) assieme al tappo in gomma butilica sulle vials, creando una chiusura ancora più sicura e impermeabile, impedendone evaporazioni o perdite e garantendone ancora di più l'integrità durante il trasporto e la preparazione. La chiusura molto stretta non lascia passare gas o liquidi, mantenendo stabile il campione e quindi la precisione dei risultati;

9- 57334-U df 85 μm (CAR/PDMS, needle size 24 ga, for use with manual holder, StableFlex fiber è una fibra utilizzata nella tecnica SPME (Solid Phase Microextraction), impiegata per l'estrazione di composti (metaboliti) volatili o semi-volatili da campioni solidi, liquidi o gassosi, per la successive analisi in gas cromatografia. Una volta che i composti sono stati adsorbiti sulla fibra, la fibra viene riscaldata ed i composti vengono desorbiti, iniettati nel sistema cromatografico per l'analisi. Poiché l'estrazione è solida (solid phase), non richiede l'uso di solventi, il che riduce i rischi di contaminazione o perdita di composti e semplifica la preparazione del campione. La fibra metallica è rivestita da Carboxen (CAR) che è un materiale adsorbente (tipo carbone attivo), particolarmente efficace per adsorbire piccole molecole come gas e vapori, mentre il Polydimethylsiloxane (PDMS) è un materiale più selettivo per composti non polari o semi-volatili. Combinando entrambi i materiali, si ottiene una fibra che è altamente versatile per l'estrazione di una vasta gamma di composti, dai più leggeri e volatili (caratterizzati dalla CAR) ai composti più pesanti e non polari (grazie al PDMS). L'uso della combinazione CAR/PDM permette di estrarre una vasta gamma di composti (sia volatili che semi-volatili), rendendo la fibra adatta per diverse applicazioni, tra cui l'analisi del microbiota intestinale. Il materiale del supporto metallico StableFlex che costituisce il corpo della fibra è molto resistente e flessibile, il che consente un'ottima durata e stabilità, evitando che la fibra si rompa o si deformi facilmente durante le operazioni di estrazione;

10- 279307-1G Acetic acid-2-13C (composto chimico) (acido acetico-2-13C) e

11- 589586-1G Propanoic acid-13C3 (composto chimico) (acido propanoico-13C3)

sono composti isotopici marcati dell'acido acetico e dell'acido propanoico, rispettivamente. Nel primo caso l'atomo di carbonio nella posizione 2 (il carbonio del gruppo metilico, $-\text{CH}_3$) è sostituito con l'isotopo carbonio-13 (^{13}C), nel secondo caso tutti e tre gli atomi di carbonio (C) sono sostituiti con l'isotopo ^{13}C . La presenza del ^{13}C , stabile e non radioattivo, consente l'uso di questi due composti chimici come standard interni o traccianti isotopici in tecniche analitiche avanzate, come la spettrometria di massa (MS). Come standard interni, migliorano l'accuratezza e la riproducibilità delle misurazioni, riducendo gli errori dovuti a variazioni strumentali o di preparazione del campione. Il ^{13}C permette di distinguere il composto marcato da quello naturale, facilitandone l'identificazione e la quantificazione in matrici complesse. Si può così quantificare con precisione l'acido acetico naturale e l'acido propanoico naturale: in studi di metabolomica vengono utilizzati per tracciare il metabolismo dell'acido acetico e dell'acido propanoico e dei loro derivati in campioni biologici per studiarne il ruolo nella regolazione del metabolismo e nella salute umana;

12- 1504790001 SeQuant® ZIC-HILIC™ (150 mm L. $\times$ 0.3 mm I.D., 3.5 μm , 200 Å) è una colonna cromatografica utilizzata nella cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS). La sigla "HILIC" sta per Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography, una tecnica particolarmente utile per separare composti polari e idrofili che potrebbero essere difficili da trattenere con metodi di cromatografia a fase inversa tradizionale. La fase stazionaria della colonna consente un'interazione idrofila zwitterionica con gli analiti in studio e presenta una forte affinità per molecole polari, migliorando la separazione di composti come zuccheri, amminoacidi, peptidi, nucleotidi e altre molecole idrofile, rendendola ideale per studi sui metaboliti, sugli zuccheri e altre

biomolecole idrosolubili e, quindi, uno strumento versatile per l'analisi di molecole polari, particolarmente utile in ambito bioanalitico. Le applicazioni principali includono: analisi di metaboliti in campioni biologici, separazione di composti polari in campioni complessi e quindi studi metabolomici. I vantaggi principali derivanti dal suo utilizzo sono: - l'alta risoluzione, dato che la tecnologia HILIC consente separazioni molto dettagliate dei composti polari; - la flessibilità perché si adatta alla separazione di una vasta gamma di composti polari e idrosolubili, rendendola utile in applicazioni diverse, come quella relativa all'analisi untargeted dei metaboliti presenti in campioni biologici e -la compatibilità con le successive analisi di spettrometria di massa;

13- BAF199230001-100EA Bel-Art® Disposable Pestles polypropylene, pack of 100 ea (for 1.5 mL microcentrifuge tube) sono dei pestelli in polipropilene monouso progettati per omogeneizzare, frantumare o miscelare piccoli campioni in provette da microcentrifuga ed estrarre proteine e metaboliti che possono poi essere analizzati tramite tecniche analitiche quali la spettrometria di massa. Essendo monouso, eliminano il rischio di contaminazione tra campioni diversi, a differenza di pestelli riutilizzabili; inoltre sono resistenti, leggeri e compatibili con la maggior parte dei solventi e reagenti chimici;

14- M51458-5G 3-methylindole (composto chimico) (3-metilindole, noto anche come skatolo) è un metabolita prodotto dalla degradazione batterica dell'aminoacido triptofano nell'intestino di mammiferi, inclusi gli esseri umani. Esso viene utilizzato come standard marcatore per studiare il metabolismo del triptofano per monitorare l'attività del microbiota e la disbiosi intestinale. Costruendo una curva di calibrazione con lo standard si può determinare in modo quantitativo tramite applicazioni di spettrometria di massa targeted la presenza di questo marcatore di disbiosi in vari campioni biologici quali urine e feci;

15- MAK128-1KT INDICAN ASSAY KIT 1 è un kit di analisi progettato per misurare la concentrazione di indicano (un metabolita) in campioni biologici. L'indicano è un composto prodotto nel fegato a partire dall'indolo, che a sua volta deriva dalla degradazione batterica dell'aminoacido triptofano nell'intestino. La misurazione dell'indicano è utile in ambito clinico e di ricerca per valutare la disbiosi intestinale, la funzionalità epatica e il metabolismo del triptofano. Il kit Indican Assay fornisce una procedura semplice e diretta per misurare i livelli di indicano nelle urine. Questo test si basa su un metodo Curzon e Walsh migliorato in cui la reazione dell'indicano con la p-dimetilamminobenzaldeide dà luogo a un prodotto colorimetrico che viene misurato spettrofotometricamente alla lunghezza d'onda di 480 nm.

Data 28/07/2025

Firma

Alessandra Voci