



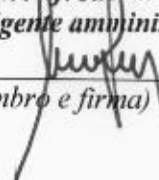
**AZIENDA SANITARIA LOCALE
NAPOLI 1 CENTRO**

via Comunale del Principe n°13/A - 80145 - Napoli - C.F. 06328131211

Progressivo U.O.C. A.B.E. 464 del 04-08-2023

Il Direttore della U.O.C. Acquisizione Beni ed Economato, a seguito di istruttoria, dichiara la regolarità giuridico-amministrativa del provvedimento proposto.

dott. Alfredo di Lauro
dirigente amministrativo


(timbro e firma)

ORIGINALE

DETERMINA DIRIGENZIALE
del
DIRETTORE U.O.C. ACQUISIZIONE BENI ED ECONOMATO

n° 3070 del 04/08/2023

OGGETTO: Revoca, ai sensi dell'art. 21 quinquies della L.241/90, dell'aggiudicazione alla ditta Mendel del lotto n° 2 (analisi liquido seminale), relativo alla "procedura aperta, ai sensi dell'art. 60 del D.Lgs. 50/2016, per la fornitura triennale di prodotti per il Servizio di Medicina della Riproduzione dell'U.O.C. Ostetricia e Ginecologia del P.O. S.Paolo", di cui alla Delibera di indizione n. 392 del 14/03/2023, e contestuale aggiudicazione dello stesso lotto alla ditta Das Chimici & Co. Srl.

Esecuzione immediata

IL DIRETTORE DELLA UNITÀ OPERATIVA COMPLESSA ACQUISIZIONE BENI ED ECONOMATO dell'ASL Napoli 1 Centro, Dott. Alfredo di Lauro nominato con deliberazione del Direttore Generale n. 106 del 24.1.2023, nell'ambito del Regolamento delle autonomie, competenze e funzioni dei Dirigenti, approvato con Deliberazione del Commissario Straordinario n. 168 del 19/3/2019

Premesso che

-con Deliberazione del Direttore Generale n° 392 del 14/03/2023, è stata indetta procedura aperta, ai sensi dell'art. 60 del d.lgs. n.50/2016, per la fornitura triennale di prodotti per il Servizio di Medicina della Riproduzione dell'U.O.C. Ostetricia e Ginecologia del P.O. S.Paolo;

-in ragione di quanto sopra esposto, la suddetta procedura è stata attivata su Piattaforma SIAPS (So.Re.Sa.) e con criterio di aggiudicazione ai sensi dell'art. 95 comma 4 del d.lgs n. 50/16, per un importo a base d'asta di € 253.500,00 + iva per anni tre;

-entro le ore 12.00 del 28/04/2023, termine ultimo di presentazione delle offerte, hanno partecipato alla gara, secondo lo schema riportato, i seguenti operatori economici:

Ragione Sociale	Codice Fiscale	Lotti Offerti	Registro di Sistema	Data ricezione
FUJIFILM Italia S.p.A	09435590154	1,6	PI044350-23	27/04/2023 08:17:48
DAS CHIMICI & CO. S.R.L.	05283040656	2	PI044550-23	27/04/2023 13:13:30
M.END.EL.	03015600657	1,2,7	PI044646-23	27/04/2023 16:07:24
Origio Italia	05559430482	1,5,6	PI044883-23	28/04/2023 10:35:21

-al termine della procedura, con Determina Dirigenziale n.2193 del 01/06/2023, si è proceduto all'affidamento alla ditta Fujifilm Italia S.p.A del lotto n.1 e del lotto n.6, alla ditta M.end.el del lotto n.2 e del lotto n.7 ed alla ditta Origio italia del lotto n.5;

-in data 13/07/2023, è pervenuta alla scrivente UOC ABE, tramite pec, da parte della ditta Das Chimici Srl, "richiesta di rivalutazione dell'offerta tecnica con contestuale richiesta di sospensione dell'aggiudicazione definitiva per difformità tecnica dell'offerta presentata dall'operatore economico risultato affidatario";

Visto che

-a seguito della ricezione della suddetta richiesta, con mail aziendale del 17/07/2023, si è provveduto alla convocazione, per il giorno 18/07/2023, del nucleo di valutazione tecnica, nominato con disposizione del Direttore Generale n. 107 del 22/05/2023, al fine di poter consentire un esame della richiesta di cui sopra ed una rivalutazione delle schede tecniche pervenute dalle ditte DAS CHIMICI & CO. S.R.L. e M.END.EL, per il lotto n.2;

-così come riportato nel verbale che si allega al presente provvedimento, come parte integrante e sostanziale, al termine della rivalutazione è emersa l'effettiva difformità, così come sostenuto dalla ditta Das Chimici, dell'offerta tecnica presentata dalla ditta Mendel rispetto a quanto richiesto da capitolato tecnico, in quanto i tempi di esecuzione della procedura previsti dal kit offerto superano di 1.5 minuti il tempo massimo richiesto;

-il prodotto offerto dalla ditta Das Chimici & Co. Srl, così come inizialmente sostenuto, risulta conforme a quanto richiesto da capitolato;

-la ditta Das Chimici & Co. S.r.l. ha presentato, per il lotto n.2, offerta economica pari ad € 7.500,00, oltre IVA;

Ritenuto

-di dover procedere, per le motivazioni su esposte, alla revoca dell'aggiudicazione del lotto n.2 alla ditta Mendel e alla contestuale aggiudicazione dello stesso lotto alla ditta Das Chimici & Co. Srl;

-di dover procedere, per quanto sopra esposto, a una riformulazione dell'importo complessivo di aggiudicazione della fornitura triennale, pari, dunque, ad € 149.369,92, oltre IVA, a fronte di € 145.619,92 + IVA, così come riportato nella determina di aggiudicazione n. 2193 del 01/06/2023;

-che con Deliberazione del Direttore Generale n.1925 del 09/11/2022, ai sensi dell'art.9 del "regolamento per la costituzione del fondo, la disciplina e la corresponsione degli incentivi per le funzioni tecniche previsti dall'art. 113 del D.Lgs. 50/16, approvato con Delibera n. 656 del 2/7/2020, è stata individuata nella determina a contrarre la somma da destinare all'alimentazione del suddetto fondo, di cui al regolamento, come di seguito si dettaglia:

TABELLA RIPARTIZIONE INCENTIVO PER IL PERSONALE		IMPORTO TOTALE	
		100%	€ 4.056,00
1)	Fase di Programmazione	20%	€ 811,20
	a) incaricato programmazione	75%	€ 608,40
	b) collaboratore	25%	€ 202,80
2)	Fase di Affidamento	25%	€ 1.014,00
	a) RUP	40%	€ 405,60
	b) Collaboratore	60%	€ 608,40
3)	Fase di Esecuzione	55%	€ 2.230,80
	a) RUP	27,27%	€ 608,34
	b) Direttore Lavori o Direttore dell'Esecuzione del Contra	54,55%	€ 1.216,90
	c) collaboratore	18,18%	€ 405,56

Considerato

- che a fronte della somma di € 4.056,00, destinata ad alimentare il fondo di cui all'art. 113 del d.lgs. n.50/2016, verrà erogata la somma di € 1.419,60, di cui ai punti 1a), 1b) e 2b) della tabella di ripartizione;
- che, per quanto riguarda l'UOC Acquisizione Beni ed Economato, sono state individuate le matricole n.671300, 671302 e 442523;
- che l'erogazione delle summenzionate somme avverrà con successivo atto di liquidazione a conclusione delle stipule dei relativi contratti di fornitura con gli Operatori Economici;
- che ci si riserva di liquidare la restante somma di € 2.636,4 nel caso in cui dovessero essere individuate le figure professionali legate alle attività di cui alla predetta tabella;

Dato atto

- che il costo complessivo scaturente dal presente provvedimento, pari ad € 149.369,92 + IVA, è attribuito al bilancio Aziendale, così come di seguito specificato:
 - o € 20.745,82 oltre iva, per 5/12, al budget 2023;
 - o € 49.789,97 oltre iva, per 12/12 al budget 2024;
 - o € 49.789,97 oltre iva, per 12/12 al budget 2025;
 - o € 29.044,15 oltre iva per 7/12 al budget 2026;

Visti

- l'art.60 del d.lgs. n.50/2016;
- l'art.95, c.4 del d.lgs. n.50/2016;
- l'art. 21 quinquies della L.241/90;

Visto, altresì

- l'allegato n.01 – "richiesta di rivalutazione dell'offerta tecnica con contestuale richiesta di sospensione dell'aggiudicazione definitiva per difformità tecnica dell'offerta presentata dall'operatore economico risultato affidatario" della ditta Das Chimici Srl - composto da n. 13 pagine f.to A4;
- l'allegato n.02 – verbale del 18/07/2023- composto da n. 01 pagina f.to A4;

Dichiarato ed attestato che

- tutta la documentazione originale a supporto del presente atto è depositata e custodita presso il servizio proponente;

- l'istruttoria del presente provvedimento è stata effettuata dal sottoscritto dirigente che ne attesta la regolarità giuridico-amministrativa;
- l'adozione del presente provvedimento rientra tra quelli oggetto di autonomia gestionale dei Dirigenti e dei Direttori di struttura;
- non sussistono motivi ostativi a procedere, essendo l'atto conforme alle disposizioni di legge in materia ed ai regolamenti e/o direttive dell'ente, nonché coerente con gli obiettivi strategici individuati dalla Direzione Strategica e con le finalità istituzionali dell'ente;
- il testo del presente provvedimento e degli eventuali allegati, anche con riferimento alla loro "diffusione" e pubblicazione nei modi di legge all'Albo Pretorio, sono conformi alle norme sul trattamento dei dati ai sensi del D.Lgs. n°196/2003 e del Regolamento Europeo n°679/2016;

tutto ciò premesso, argomentato ed attestato, il sottoscritto Direttore UOC Acquisizione Beni ed Economato

DETERMINA

per tutti i motivi di cui in premessa, che si intendono integralmente riportati, di adottare il presente provvedimento e, in particolare:

- 1) di revocare, ai sensi dell'art. 21 quinquies della L.241/90, l'aggiudicazione alla ditta Mendel del lotto n° 2, relativo alla "procedura aperta, ai sensi dell'art. 60 del D.Lgs. 50/2016, per la fornitura triennale di prodotti per il Servizio di Medicina della Riproduzione dell'U.O.C. Ostetricia e Ginecologia del P.O. S.Paolo", di cui alla Delibera di indizione n. 392 del 14/03/2023;
- 2) di procedere alla contestuale aggiudicazione del lotto n.2 alla ditta Das Chimici & Co. Srl., con sede legale in Sant'Egidio del Monte Albino (SA), C.F. 05283040656, pec: daschimicisrl@arubapec.it;
- 3) di dare atto che il costo complessivo scaturente dal presente provvedimento, pari ad € 149.369,92 + IVA, è attribuito al bilancio Aziendale, così come di seguito specificato:
 - o € 20.745,82 oltre iva, per 5/12, al budget 2023;
 - o € 49.789,97 oltre iva, per 12/12 al budget 2024;
 - o € 49.789,97 oltre iva, per 12/12 al budget 2025;
 - o € 29.044,15 oltre iva per 7/12 al budget 2026;
- 4) di dichiarare il presente provvedimento immediatamente esecutivo vista l'urgenza della fornitura in argomento.
- 5) di trasmettere il presente atto a:
 - Collegio Sindacale, come per legge;
 - U.O.C. Affari Generali per la pubblicazione all'albo on line per i conseguenziali adempimenti, anche in relazione alle forme di registrazione e pubblicità secondo legge;
 - U.O.C. G.E.F.;
 - U.O.C. GRU, per la liquidazione degli incentivi agli aventi diritto;
 - Ditta Das Chimici & Co. S.r.l.
 - Direttore del Dipartimento Integrato Medicina di Laboratorio dell'Asl Napoli 1 Centro;
 - Ditta M.end.el (mendel@mendelsrl.it);

L'istruttore
Ass. Amm.vo
Dott.ssa Nicoletta Lauri

**IL DIRETTORE U.O.C. ACQUISIZIONE
BENI ED ECONOMATO
Dott. Alfredo di Lauro**



- allegato n.01 – “richiesta di rivalutazione dell’offerta tecnica con contestuale richiesta di sospensione dell’aggiudicazione definitiva per difformità tecnica dell’offerta presentata dall’operatore economico risultato affidatario” della ditta Das Chimici Srl - composto da n. 13 pagine f.to A4;
- allegato n.02 – verbale del 18/07/2023- composto da n. 01 pagina f.to A4;



D.A.S. CHIMICI s.r.l. & co.

DISTRIBUZIONE
DIAGNOSTICI
APPARECCHIATURE
SCIENTIFICHE

Egr. Direttore U.O.C Acquisizione Beni e Servizi
c/o Asl Napoli 1 Centro

OGGETTO: RICHIESTA DI RIVALUTAZIONE DELL'OFFERTA TECNICA CON CONTESTUALE RICHIESTA DI SOSPENSIONE DELL'AGGIUDICAZIONE DEFINITIVA PER DIFFORMITA' TECNICA DELL'OFFERTA PRESENTATA DALL'OPERATORE ECONOMICO RISULTATO AFFIDATARIO – PROCEDURA SO.RE.SA - Procedura aperta per la fornitura triennale di prodotti per il Servizio di Medicina della Riproduzione dell'UOC Ostetricia e Ginecologia del PO S Paolo – LOTTO 2 – C.I.G. 8997561.

La sottoscritta Alessandra Arpaia nata a Nocera Inferiore (SA) il 03/12/1966 in qualità di Amministratore Unico e Legale Rappresentante della Das Chimici & CO. S.r.l. con sede legale e operativa in Sant'Egidio Del Monte Albino (SA), 84010, alla via Nazionale SS 18 nr.12, P.IVA: 05283040656, indirizzo e-mail: daschimici@outlook.it, P.E.C.: daschimicisrl@arubapec.it, con la presente, in relazione alla procedura cui all'oggetto, significa quanto segue:

PREMESSO

- che la scrivente ha provveduto a presentare l'offerta per il lotto 2, tramite piattaforma So.Re.Sa., in data 28.04.2022;
- che, pertanto, la scrivente, agisce nella qualità di operatore economico partecipante alla procedura de qua;
- che per il medesimo lotto partecipava finanche la società Mend.el;
- che, in sede di valutazione delle buste tecniche, veniva dichiarata, da una commissione tecnica nominata *ad hoc*, la conformità tecnica di entrambe offerte;
- che, purtroppo, il verbale della seduta tecnica del 25/05/2023 si limitava ad indicare la conformità giammai motivando;
- che a seguito dell'apertura delle buste economiche, veniva dichiarato aggiudicatario l'offerta, a minor prezzo, dell'operatore economico Mend.el;
- che, oltremodo, la determina di affidamento, caricata in piattaforma il 12.06.2023, veniva conosciuta dalla scrivente in maniera casuale in assenza di comunicazioni da parte della S.V.;
- che, i verbali di gara caricati, consentivano alla scrivente di essere edotta del prodotto offerto dall'altro operatore economico;

-che, da una certissima lettura, delle caratteristiche tecniche del prodotto offerto dall'altra società, appare evidente, a parere di chi scrive, la non conformità tecnica in quanto non corrispondente ai requisiti minimi di ammissione sanciti nel capitolato di gara;

TANTO PREMESSO

la scrivente ritiene opportuno contestare l'aggiudicazione operata in favore della società Mend.el in quanto pronunciata in difformità ai requisiti tecnici richiesti.

Ed invero, il confronto tra i due prodotti, consente di rilevare inconfutabili differenze in merito alla metodica ovvero ai tempi di esecuzione della procedura. In particolare:

R10 SPERM DNA FRAGMENTATION – BONRAYBO (DAS CHIMICI & CO SRL)

- Tubi gel Eppendorf in acqua calda - 1.5 min
- Aggiungere denaturante e mixare
- Vetrino in frigo - 5.0 min
- Aggiungere gocce lisante – 10.0 min
- Aggiungere acqua distillata – 5.0 min
- Aggiungere metanolo – 1.0 min
- Aggiungere Sol A – 1.0 min
- Aggiungere Sol B – 1.0 min
- Essiccare vetrino – 1.0 min
- Asciugare vetrino – 2.0 min
- Lavare vetrino 0.30 min
- Leggere al microscopio

TOTALE TEMPO DI ESECUZIONE ESCLUSA LETTURA: 30.5 MIN

G2 ALOSPERM – MBT (MEND.EL)

- Provetta di agarosio in bagno - 5.0 min (con forno microonde 1.5 min)
- Provette Eppendorf a 37° - 5.0 min
- Vetrino preparato in frigo – 5.0 min
- Aggiungere Sol A – 7.0 min
- Aggiungere sol B – 20.0 min
- Sciacquare vetrino – 5.0 min
- Deidratare con Etanolo 70% – 2.0 min
- Applicare Etanolo 100% - 2.0 min
- Applicare Sol 3 – 7.0 min

- Applicare Sol 4 – 7.0 min

TOTALE TEMPO DI ESECUZIONE ESCLUSA LETTURA: 65 MIN (con forno a microonde 61.5)

Tale notevole differenza, debitamente sottolineata, è di fondamentale importanza atteso che, nel capitolato, si legge espressamente "tempo di esecuzione metodica inferiore a 60 min" (Cft. Pag.5 Capitolato Tecnico).
Finanche in sede di chiarimenti, sono state rese note comunicazioni tali da ritenere ammissibili offerte con prodotti che potessero presentare caratteristiche con variazioni in percentuale, in diminuzione e/o in aumento.
Dunque, è evidente, l'errore di valutazione in cui è incorsa la commissione giudicante!
Un errore di notevole incidenza tenuto conto che, in assenza, la scrivente società sarebbe risultata aggiudicataria della procedura *de qua*.

PER TUTTO QUANTO SOPRA ESPOSTO

La scrivente chiede alla S.V., di sospendere l'aggiudicazione definitiva, per il lotto 2, in favore dell'operatore Mend.el e di procedere ad una rivalutazione delle offerte tecniche presentate alla luce di quanto compiutamente eccepito e contestato.

In attesa di un Vs cortese riscontro, l'occasione è lieta per porgerLe


Cordiali Saluti.

Si allegano:

- documentazione tecnica R10 SPERM DNA FRAGMENTATION – BONRAYBO;
- documentazione tecnica G2 ALOSPERM – MBT (MEND.EL).

Sant'Egidio Del Monte Albino, li 23/06/2023

Alessandra Arpaia – Amministratore Unico

DAS CHIMICI & Co S.r.l.


BAR CHART

LensHooke® R10 Sperm DNA Fragmentation Test Kit

Componenti Kit



Step Preparazione

Preparazione Campione

1-1

95-100°C
1.5 MIN

1-2

25 25
Liquido seminale
Aggiungere Mix

Porre le Eppendorf con agarosio in acqua calda per **1.5 min**

Aggiungere **25µL** di Reagente Denaturante e **25µL** del campione di seme e mixare.

1-3

25 25
well 1 well 2
Applicare Inserire cover Frigo 5 MIN Togliere il cover

Prelevare **25µL** e applicare sul well1 e well 2 del vetrino, coprire poi con i due cover.

Porre il vetrino in frigo per **5 minuti**. Dopodichè, estrarre dal frigo e rimuovere i cover.

Lisi

2-1

10 10
10 MIN
Applicare Rimuovere i liquidi

2-2

1000
Acqua distillata
Applicare Rimuovere i liquidi

2-3

1000
95% Metanolo
Applicare Rimuovere i liquidi

Aggiungere **10 gocce** della Soluzione di Lisi per ciascun well, attendere **10 min.** e scolare.

Aggiungere **1,000µL** di Acqua distillata coprendo tutto il vetrino e rimuovere il liquido dopo **5 min.**

Aggiungere **1,000µL** di Metanolo 95% coprendo tutto il vetrino e dopo **1 min** rimuovere il liquido.

Staining

3-1

400
1 MIN
Applicare Essiccare

3-2

1200
1 MIN 2 MIN
Applicare Essiccare

Aggiungere **400µL** soluzione A su tutto il vetrino, ed essiccare per **1 min.**

Aggiungere **1,200µL** di soluzione B su tutto il vetrino, ed essiccare per **1 min.** Lasciar asciugare il vetrino per **2 min.** e poi risciacquare..

3-3

Acqua distillata
30 SEC
Lavare Asciugare

Lavare con acqua distillata per **20~30 secondi**, lasciar asciugare a temperature ambiente.






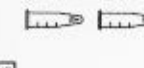
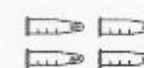
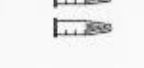


Introduction

Thank you for choosing LensHooke® Sperm DNA Fragmentation Test Kit (SCD Assay). Please read this user manual carefully before using. This product is for in vitro diagnostics only. LensHooke® Sperm DNA Fragmentation Test Kit (SCD Assay) is designed, manufactured and authorized by Bonraybio Co., LTD. to the agencies. If you have any question, please contact with our Service Hotline: +886-4-24912385#241 (Mon.-Fri. 8AM-5PM PST).

Intended Use

The LensHooke® SCD is a simple and easy-to-use assay for evaluating sperm DNA fragmentation in human semen specimens.

LensHooke® Sperm DNA Fragmentation Test Kit Components

				
DNA Denaturant Reagent 2 mL * 1 Vial	Lysis Solution 15 mL * 1 Bottle	Stain Solution A 14 mL * 1 Bottle	Stain Solution B 14 mL * 1 Bottle	Float * 1 pcs
				
Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel 50 µL * 10 pcs	Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel (for Quality Control) 0.3 mL * 2 pcs	Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel 50 µL	Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel 50 µL	Pretreated Glass Slides * 2 boxes (total 10 pcs)

Material and Equipment preparation (required but no provided in Kit)

- Bright field microscope
- Fridge at 2~8°C
- Disposable cappers
- Plastic gloves
- Glass coverslip (25 x 25 mm)
- Temperature controlled water bath
- Slice staining tray
- Distilled water in wash bottle
- 95% Methanol (CAS Number: 67-56-1)
- 0.01M PBS or sperm extender
- 95~100°C hot water
- 200µL/1000µL Pipette
- Dust blower

Principle of the method

- This kit is based on the sperm chromatin dispersion (SCD) Assay
- Semen samples (fresh, frozen/thawed, diluted or neat samples) are embedded in a melted agarose microgel and attached to a pretreated glass slide.
- After DNA denaturation, lysis of nuclear proteins and staining procedures, sperm with fragmented DNA do not form the characteristic DNA halo seen in sperm with intact DNA under the microscope.

Safety and Environment

- It is necessary to wear a protective gloves, eye protection, and laboratory coat during the entire process of the assay.
- Perform the assay in an air ventilated environment or fume hood to avoid inhale odor derived from the lysis solution.
- Do not directly drain the reactive used into the environment. Follow laboratory safety regulations for the storage and disposal of toxic substances.
- All test samples must be handled as potentially infectious.

Storage and Stability

Recommended storage conditions: 2~8 °C away from light.
Shelf life after opening: Keep all components well-sealed after use.
The kit is stable for a minimum of 3 months after opening.

Specification


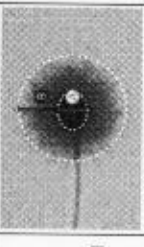
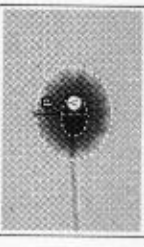
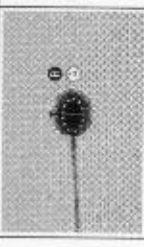

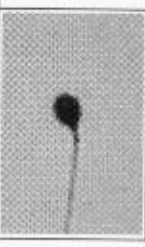

Contents	Composition
1 DNA Denaturant Reagent	Hydrochloric acid, 2 mL
2 Lysis Solution	DTT, 15 mL
3 Stain Solution A	Wright-Giemsa dye, 14 mL
4 Stain Solution B	Phosphate, 14 mL
5 Float	EPE, Ø 6 cm
6 Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel	Low melting point agarose gel, 50 µL
7 Microcentrifuge Tubes with Agarose Gel (for Quality Control)	Low melting point agarose gel, 0.3 mL
8 Pretreated glass slide	Normal-melting agarose gel

The cut-off value for sperm DNA fragmentation evaluated by SCD was suggested by Dr. Budi Wiweko et al. (Basic Clin Androl. 2017 Feb 21;27:1).

Limitation

- This kit is intended for testing human semen specimens only, product performance for other species has not been validated.
- For diagnostic purposes, the SCD assay and scoring of DNA fragmentation should be performed by certified personnels.
- The test results of SCD must be carefully evaluated and all other clinical results related to the semen sample should be considered to assess male fertility.

Classification of Sperm

Type	Image	Description
Unfragmented 		Large halo: The halo width is similar or higher than minor diameter of the sperm core. $\text{H} \geq \text{C}$
		Medium halo: The halo width is between large halo and small halo. $\frac{\text{C}}{3} < \text{H} < \text{C}$
		Small halo: The halo width is similar or smaller than 1/3 minor diameter of the sperm core. $\frac{\text{C}}{3} \leq \text{H}$
Fragmented 		No halo
		Degraded: Sperm shows no halo and presents an irregular core or a weakly stained head.

References

- Fernandez, J. L. et al. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. J Androl. 24, 59-66 (2003).
- Fernandez, J. L. et al. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. Fertil Steril 84, 833-842, doi:10.1016/j.fertnstert.2004.11.089 (2005).
- Wiweko B, et al. Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility. Basic Clin Androl. Feb 21;27:1. doi: 10.1186/s12610-016-0046-3 (2017)

 In vitro diagnostic	 Manufacturer	 Lot	 Caution	 Contains pathogen for 10 days
 Use by	 Search code	 RUO	 Do not use repeatedly	
Store at the temperature between 2°C-8°C (35.6°F-46.4°F)		Research Use Only - not for sale for use		

Manufacturer: Bonraybio Co., LTD
 Address: 4F, No. 118, Guozhuo 9th Rd,
 Taoyuan (31003)
 Tel: +886-4-2491-2385
 Fax: +886-4-2491-2825
 Email: export@bonraybio.com

Sample preparation

1 Dilute the semen sample with sperm extender of choice or **0.01M PBS** to a concentration of $5 \sim 10 \times 10^6/\text{mL}$.

- ▲ Process the test immediately once you receive the sample.
- If Concentration is lower than $5 \sim 10 \times 10^6/\text{mL}$, Do not need to dilute. Can process SCD analysis directly.
- Please count 500 sperm at least to get the result. Therefore, if the concentration is lower than $1 \times 10^6/\text{mL}$, the sperm count might not enough.

2 Prepare **95~100°C hot water**. Then put the **6** tube with agarose into the floating plate and then put it into hot water for **1.5 mins** until the agarose fully melt.

- ▲ Make sure Agarose is melt or not: Flick the bottom of the microcentrifuge tube by finger to observe the flow of agarose.

2 Move the float board and tube with agarose to a **37°C** water bath and leave for **5 minutes** until the temperature is even.

3 After water bath, flick the tube with agarose by finger to make the remaining liquid drop down from the walls and caps to the bottom of the microcentrifuge tube. Or use mini centrifuge to centrifuge for **3~5sec**.

Before flicking (When agarose is the first and last)

After flicking (When agarose is in the bottom of the tube)

3 Add **25µL of the 4 DNA Denaturant Reagent** to the tube with agarose and mix by pipetting. (3~5 times) until the color became **yellow**. Please avoid bubble.

Mixed

4 Add **25µL of the diluted semen sample** from Step1 to the tube with agarose and mix by pipetting (3~5 times). Then move to Step5 immediately. Please avoid bubble.

Mixed

- ▲ In order to avoid Agarose gel temperature drop leading to solidification Step3~4 operate time do not over 2 mins.

5 Take **25µL** of the step 4 mixtures and apply it on test area 1 and then get another **25µL** drop to test area 2. After that, please cover up the glass coverslips separately. Handle it carefully to avoid the bubbles.

5 Put glass slide into a fridge, and incubate at **2~8°C** for **5 minutes** to solidify the agarose.

5 Move the glass slide to room temperature (**15~30°C**) and slide out the coverslip gently.

- ▲ Do not use tools or pull up the coverslip by hand directly during the staining process to avoid damaging the gel area.
- After removing the coverslip, the gel should be smooth and flat.
- If the gel is not flat, this glass slide is not qualified to do the test X. Please follow the Step2-1 ~ 5-2 to prepare the glass slide again.

Lysis

6 Place the slide on the slide staining tray and keep horizontality. Do not shake. After that, **drip 10 drops of 2 Lysis Solution individually** to test area 1 and test area 2. Please make sure if the Lysis solution fully covers the gel area. If yes, please leave the slide at room temperature for **10 minutes**. After that, please drain off the liquid and absorb the extra liquid.

- ▲ It is important to avoid vibrate and shake during lysis step which will affect the lysis fringe.
- Do not shake or hit the slide when removing the lysis.

7 Place the slide on the slide staining tray and apply the **Distilled water**. Please make sure if the water fully cover the slide and the tray is on a flat table. If yes, please leave it at room temperature for **5 minutes**. After that please drain off the liquid and absorb the extra liquid.

8 Place the slide on the slide staining tray and apply the **95% Methanol** by pipette or dropper. Please make sure if the Methanol fully cover the slide and the tray is on a flat table. If yes, please leave it at room temperature for **1 minutes**. After that please drain off and absorb the extra liquid. You can proceed the Step9 immediately without drying the slide.

Staining

9 Upside down to mix the **3 Stain Solution A** for **8~10** times, and apply **400 µL 3 Stain Solution A** to the whole test area by pipette. Please make sure if the stain solution fully cover the slide, if yes, please use dust blower to blow the slide for **1 minute**. After that, please proceed Step10 immediately.

- ▲ When you use the dust blower, we suggest to blow it from left to right and repeat 6~10 times.
- When you blow the slide, please separate the solution (to let the glass contact with the air).
- Do not blow too much air to spill out the solution.

10 Apply **1200 µL 4 Stain Solution B** to the whole test area by pipette. Please make sure the solution fully cover the slide. If yes, please use dust blower to blow the slide for **1 minute**. After that, place the slide at room temperature for **2 minutes**.

- ▲ When you use the dust blower, we suggest to blow it from left to right and repeat 6~10 times.
- Do not blow too much air to spill out the solution.

11 Rinse the slide glass clearly with **Distilled Water** for **20~30** seconds, then put at room temperature for drying.

Examine the sperms under bright field microscopy using **20x** or **40x** objective lens. Count **500** sperms per sample is recommended.

Unfragmented Fragmented

Calculate the percentage of sperms with fragmented DNA. The formula used to calculate DNA fragmentation index (DFI) is:

$$\text{DFI} = \frac{\text{No. of sperms with fragmented DNA}}{\text{No. of sperms evaluated}} \times 100\%$$

Optional

Once the desired level of staining is achieved, and the slide is perfectly dried, mount it with mounting medium for making permanent slides.

Quality Control

Positive control:
All sperms show no halo. Follow the procedure and skip Step6.

Negative control:
All sperms show halo. Follow the procedure and use 0.01M PBS to replace DNA denaturant reagent in Step3.

halosperm® G2

Cod. 50.HT-HSG2 - 10 det.

Versione 05/2016 03

Applicazione

Halosperm G2® è stato sviluppato da Halotech DNA in risposta alle esigenze degli utenti del test SCD (Sperm Chromatin Dispersion test) per la valutazione della frammentazione del DNA spermatico umano.

Principio del metodo

Gli spermatozoi non contaminati intatti (campioni diluiti freschi, congelati / non schiariti) vengono immersi in un microgel di agarosio inerte su di un vetrino pretrattato. Un trattamento acido iniziale denota il DNA in quelle cellule spermatiche con DNA frammentato. Dopo di ciò, la soluzione di lisi rimuove la maggior parte delle proteine nucleari. In assenza di rotture massicce nel DNA, i nucleoidi di spermatozoi con DNA frammentato non mostrano aloni o mostrano aloni minimi.

Descrizione del kit di reagenti

- ④ Ogni kit è sufficiente per effettuare 10 determinazioni:
- ④ Agarose Gel Support (ACS); 1 provetta con tappo a vite
- ④ Vetrini pre-trattati (SCS); 10 unità
- ④ Provette Eppendorf (ETP); 10 unità
- ④ Soluzione 1 (DA) Denaturant Agent, una bottiglia a goccia da 10 ml
- ④ soluzione soluzione Lysis Solution 2 (LS), una bottiglia a goccia da 10 ml
- ④ Soluzione 3 (SSA) Soluzione colorante A Eosina, una bottiglia a goccia da 10 ml
- ④ Soluzione 4 (SSB) tiazina soluzione colorante B Tiazina, una bottiglia a goccia da 10 ml
- ④ Galleggianti.

Materiali e strumentazioni richieste non fornite con il kit

Microscopio a campo luminoso o fluorescenza, frigorifero a 4°C, bagno maria a 37°C e 95-100°C, guanti in plastica, vetrini (24 x 24 mm), micropipette, piastre Petri o simili, pipette usa e getta, acqua distillata, etanolo al 70% e al 100%. Forno a microonde e cappa aspirante.

Campione

Campioni di liquido seminale devono essere raccolti in un recipiente sterile, il test di frammentazione del DNA spermatico dovrebbe essere eseguita immediatamente una volta che il campione è stato ottenuto, oppure non appena scongelato in caso di campione crioconservato crioconservazione.

Classificazione degli spermatozoi.

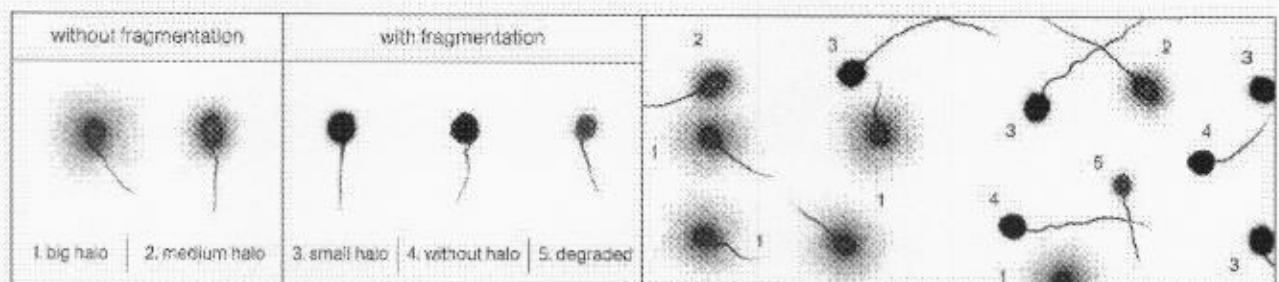
Conti almeno 300 spermatozoi per campione in base a questi criteri:

Spermatozoi senza frammentazione del DNA:

- ④ **Spermatozoi con grande alone:** quelli la cui larghezza dell'alone è simile o superiore al diametro minore del nucleo. (Figure 1)
- ④ **Spermatozoi con alone di media grandezza:** quelli la cui dimensione dell'alone è fra quelle con aloni molto grandi e molto piccole (Figure 2).

Spermatozoi con DNA frammentato:

- ④ **Spermatozoi con alone piccolo:** la larghezza dell'alone è simile o inferiore a 1/3 del diametro minore del nucleo (Figure 3)
- ④ **Spermatozoi senza alone:** (Figure 4)
- ④ **Spermatozoi senza alone e degradati:** Quelli che non mostrano alcun alone e presentano un nucleo irregolarmente o debolmente macchiato (Figure 5).



Controlli Positivi e Negativi

Controlli positivi: tutte le cellule spermatiche sono mostrate con alone. Seguire l'istruzione per l'uso, saltando il passo 7.

Controlli Negativi: tutte le cellule spermatiche vengono mostrate senza alone. Seguire le istruzioni per l'uso, saltando il passo 8.

Sicurezza e ambiente

- ④ Prestare attenzione ad evitare il contatto con la pelle o con gli occhi e per prevenire l'inalazione. La soluzione acida (DA) contiene acido cloridrico e la soluzione di lisi (LS) contiene Dithiothreitol e Triton X. Lavorare in ambiente con rimozione dell'aria e seguire le istruzioni indicate dal produttore nella scheda di sicurezza per quanto riguarda la manipolazione sicura.
- ④ Non rilasciare i prodotti utilizzati nell'ambiente. Seguire le specifiche norme di sicurezza del vostro laboratorio per quanto riguarda lo smaltimento dei prodotti chimici e lo smaltimento dei prodotti tossici nonché l'esposizione a questi.

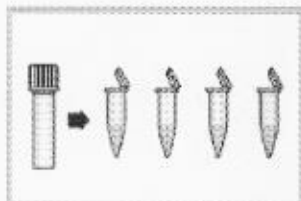
Precauzioni

Solo per uso professionale.

- 1) Tutti i campioni dei pazienti ed i reagenti devono essere trattati come potenzialmente infettivi e l'utente deve indossare guanti protettivi, protezione degli occhi e giacche di laboratorio durante l'esecuzione del test.
- 2) Il test dovrebbe essere smaltito in un contenitore biologico adeguato dopo il test.
- 3) Non mangiare, bere o fumare nell'area dove sono maneggiati campioni e reagenti.
- 4) Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
- 5) Si raccomanda l'utilizzo di guanti e maschera protettiva.
- 6) La scheda di sicurezza relativa è disponibile su richiesta.

Condizioni di conservazione

Una volta ricevuto il kit, conservare a 2-8°C.



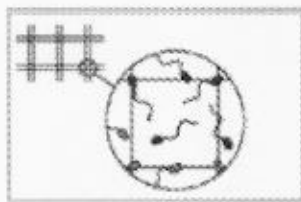
Istruzioni per l'uso.

11 Posizionare la provetta di agarosio (ACS) nel galleggiante in un bagno d'acqua (o un bicchiere con acqua su una piastra calda) a 95-100°C per 5 minuti fino al completo scioglimento del contenuto. Altrimenti, se preferite fondere l'agarosio usando un forno a microonde, riempite un bicchiere con 100 ml di acqua. Quindi posizionare ACS leggermente aperto con il galleggiante all'interno del bicchiere e scaldare alla massima potenza per 15 minuti. Guardare costantemente e interrompere il processo non appena l'acqua inizia a bollire. Non mantenere l'ACS in ebollizione all'interno del forno a microonde! Aliquotare 10 provette Eppendorf (ET) con 100 microlitri di agarosio sciolto. Subito dopo, mantenere le provette Eppendorf da utilizzare a 37°C per 5 minuti per evitare la gelificazione.

12 Le rimanenti provette Eppendorf che non utilizzate in quel momento possono essere conservate nel frigorifero insieme al kit.

13 Impostare le soluzioni 1 e 2 a temperatura ambiente (22 ° C) durante l'intero processo.

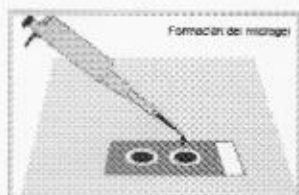
14 Preparare e selezionare i vetrini pre-trattati (SCS) da utilizzare.



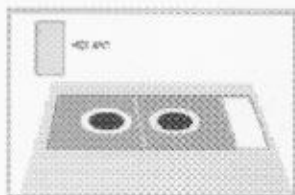
2.1 Diluire il campione di liquido seminale ad una appropriate estensione umana o in PBS fino ad un massimo di 20 Milioni di spermatozoi per ml.



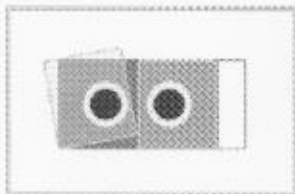
3.1 Immediatamente dopo, trasferire 50 ml del campione in un tubo Eppendorf e mescolare delicatamente con una micropipetta. Evitare formazione di bolle.



4.1 Posizionare una goccia di 8 μ l della sospensione cellulare al centro del pozzetto del campione ("S"). Coprire con un copri-vevtrino. Premere delicatamente, evitando la formazione di bolle d'aria. I vetrini devono essere tenuti in posizione orizzontale per tutto il processo. Utilizzare il pozzo "C" per elaborare un eventuale controllo campione.



5.1 Posizionare il vetrino su una superficie fredda (ad esempio una lastra di metallo o vetro pre-raffreddato a 4 ° C) e trasferire nel frigorifero a 4 ° C per 5 minuti per solidificare l'agarosio.



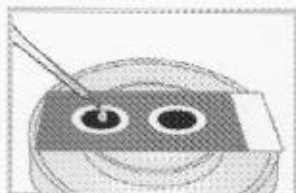
6.1 Togliere il vetrino dal frigorifero e togliere il copri-vevtrino facendolo scivolare delicatamente. Tutta la lavorazione deve essere eseguita a temperatura ambiente (22°C).



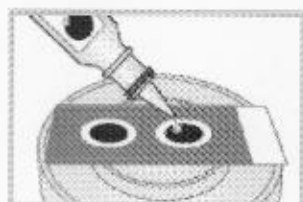
7.1 Posizionare il vetrino orizzontalmente in una posizione elevata come indicato nella figura in una piastra Petri o similare. Applicare Soluzione 1 (DA) sul pozzetto, assicurandosi che sia **completamente coperto dal reattivo durante l'intero processo**. Incubare per 7 minuti. Quindi, rimuovere il reattivo inclinando il vetrino fino alla completa essiccazione e posizionare il vetrino orizzontalmente in una posizione elevata come suggerito nella figura. **È molto importante rimuovere il reattivo senza scuotere. Effettuare la rimozione inclinando e lasciandolo scivolare.**



8.1 Applicare Soluzione 2 (LS) sul pozzetto assicurandosi che sia completamente immerso. Incubare per 20 minuti. Quindi, rimuovere il reattivo inclinando fino a completare l'asciugatura e posizionare il vetrino orizzontalmente in posizione elevata come suggerito nella figura. E 'molto importante rimuovere il reattivo senza scuotere. **Effettuare la rimozione inclinando e lasciandolo scivolare.**

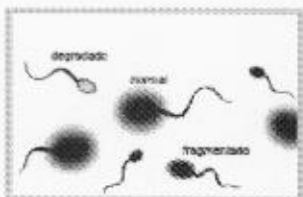


9.1 Sciacquare il vetrino per 5 minuti con abbondante acqua distillata e utilizzando una pipetta usa e getta. Quindi, rimuovere il reattivo inclinando fino a completare l'asciugatura e posizionare il vetrino orizzontalmente in posizione elevata come suggerito nella figura. Deidratare con etanolo 70% utilizzando una pipetta monouso ed incubare per 2 minuti. Scaricare e applicare l'etanolo al 100% per 2 minuti. Scaricare e lasciare asciugare orizzontalmente su carta filtrante o simili. Dopo essiccazione, i vetrini elaborati possono essere tenuti nelle scatole per vetrini a temperatura ambiente in un luogo asciutto ed al riparo dalla luce per diversi mesi.



10.1 Posizionare il vetrino orizzontalmente in una posizione elevata in una piastra Petri o similare. Applicare Soluzione 3 (SSA) sui pozzetti assicurandoti che questi siano completamente immersi. Incubare per 7 minuti. Quindi rimuovere la macchia inclinando fino a completare l'asciugatura e posizionare orizzontalmente il vetrino in una posizione elevata.

11.1 Applicare la soluzione 4 (SSB) sui pozzetti, assicurandoti che questi siano completamente immersi. Incubare per 7 minuti. Quindi rimuovere la macchia inclinando. Rimuovere l'eccesso di macchia e lasciare asciugare temperatura ambiente.



12.1 Visualizzare sotto microscopia a campo luminoso. Se la colorazione è troppo intensa, la diapositiva potrebbe essere lavata in acqua di rubinetto. Se la colorazione è troppo debole, immergere la diapositiva in etanolo al 100%, lasciare asciugare e ripetere il passaggio 10). Per la colorazione della microscopia a fluorescenza contattare il rivenditore autorizzato.

$$SDF (\%) = \frac{\text{Frammentato} + \text{degradato}}{\text{Totali di cellule quantificate}} \times 100$$

13.1 Calcolare la percentuale di spermatozoi con DNA frammentato. I risultati dovrebbero essere valutati tenendo conto di tutti i risultati clinici e di laboratorio relativi al campione spermatico. Le soglie per la frequenza della frammentazione del DNA di liquido seminale (SDF) sono state suggerite dal Dott. Evenson et al. (Evenson e Nixon, Reprod Biomed Online 12: 466-472, 2006).

PER I TEST FUTURI

Prendere in considerazione tante provette eppendorf quanti i campioni da valutare ed avviare il protocollo al punto 12. In precedenza, mettere la provetta di agarosio (ACS) nel galleggiante e far sciogliere il contenuto usando un bagno d'acqua (o un bicchiere con acqua su una piastra calda) a 95-100 ° C per 5 minuti o fino a completo scioglimento del contenuto. Altrimenti, se si preferisce sciogliere l'agarosio usando un forno a microonde, riempire un bicchiere di 100 ml di acqua. Quindi, mettere l'ACS leggermente aperto con il galleggiante all'interno del bicchiere e riscaldarlo alla

M.B.T. - Medical Biological Technologies S.r.l.

P. IVA e Cod. Fisc. 03785310966
Via Noalese 69 - 31100 Treviso (TV)
Tel +39 0422 210568 - Fax +39 0422 230916
e-mail: info@mbt-srl.com - PEC: mbtsrl@miapc.it
www.mbt-srl.com

massima potenza per 15 minuti. Osservare costantemente e fermare il processo non appena l'acqua inizia a bollire.

Non mantenere l'ACS in ebollizione all'interno del forno a microonde!

Halosperm G2® è un marchio di Halotech DNA, S.L.

Halotech DNA, S.L.

*C/Faraday, 7 Parque Científico de Madrid/Edificio CLAIID/Campus de Cantoblanco/28049 Madrid, Spain
Tel. +34 91 279 69 50 / www.halotechdna.com / info@halotechdna.com*

Prodotto distribuito in Italia da:

M.B.T. S.r.l.

Via Noalese, 69/31100 Treviso

Tel. +39 0422 210 568 / www.mbt-srl.com / info@mbt-srl.com

M.B.T. - Medical Biological Technologies S.r.l.

P. IVA e Cod. Fisc. 03785310966
Via Noalese 69 - 31100 Treviso (TV)
Tel +39 0422 210568 - Fax +39 0422 230916
e-mail: info@mbt-srl.com - PEC: mbtsrl@amiopecil.it
www.mbt-srl.com

VERBALE DEL 18/07/2023

OGGETTO: PROCEDURA APERTA, AI SENSI DELL'ART. 60 COMMA 2 LETT.B DEL D.LGS. N.50/2016 E CON CRITERIO DI AGGIUDICAZIONE AI SENSI DELL'ART. 95 COMMA 4 DELLO STESSO DECRETO, PER LA FORNITURA TRIENNALE DI PRODOTTI PER IL SERVIZIO DI MEDICINA DELLA RIPRODUZIONE DELL'UOC OSTETRICIA E GINECOLOGIA DEL P.O. S.PAULO - IMPORTO COMPLESSIVO DI € 253.500,00 OLTRE IVA.

Considerata la richiesta di rivalutazione dell'offerta tecnica pervenuta alla scrivente UOC ABE tramite pec in data 13/07/2023 dalla ditta Das Chimici Srl, in data 18/07/2023, alle ore 12.00, la commissione tecnica di gara, nominata con disposizione del Direttore Generale n.107 del 22/05/2023, a seguito di convocazione trasmessa tramite posta aziendale, si è riunita al fine di poter procedere all'esame della richiesta su menzionata e ad una conseguente rivalutazione delle schede tecniche pervenute dalle ditte DAS CHIMICI & CO. S.R.L. e M.END.EL, per il lotto n.2.

Al termine della valutazione è emerso che i tempi di esecuzione della procedura previsti dal kit offerto dalla Ditta Mendel, diversamente da quanto sostenuto inizialmente, sono difformi a quanto richiesto da capitolato. Nello specifico superano di 1.5 minuti il tempo massimo richiesto. Pertanto, l'offerta tecnica presentata dalla ditta Mendel, per il lotto n.2, non risulta conforme a quanto richiesto da capitolato.

Mentre il prodotto della ditta Das Chimici Srl risulta effettivamente conforme, così come inizialmente dichiarato.

In ragione di quanto esposto, viene redatto il presente verbale composto da n. 1 pagina, letto, confermato e sottoscritto alle ore 14.03

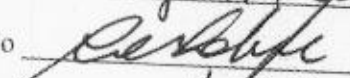
Presidente, Dott.ssa Sena Teresa



Componente tecnico, Dott. ssa Paoletta Giada



Componente tecnico, Dott. Sepe Carlo



Segretario verbalizzante: Dott.ssa Nicoletta Lauri

