



LIFE18 NAT/RO/001082

SPECIFICAȚII TEHNICE

TECHNICAL REQUIREMENTS

În vederea atribuirii contractului de achiziție publică având ca obiect: contractarea de servicii genetice pentru analiza probelor non-invazive de ADN și analiza datelor rezultate în regim de urgență pentru a asista echipele de intervenție în rezolvarea conflictelor om-faună sălbatică (identificarea genotipurilor, marcare-recapturare, analiza relațiilor parentale între indivizii aceleiași specii, analiza hibridizare).

For the award of a public procurement contract for the provision of: genetic services for analysis of non-invasive DNA samples and analysis of the resulting data with high speed turnover rates to assist intervention teams in resolving human-wildlife conflicts (identification of genotypes, mark-recapture, analysis of parental relationships between individuals of the same species, hybridisation analysis).

CPV Code	Description RO	Descriere EN
73111000-3	Servicii de laborator de cercetare	Laboratory research services

1. ASPECTE GENERALE

1. GENERAL ASPECTS

1.1 Denumire servicii

1.1 Services name

Contractarea de servicii genetice pentru analiza probelor non-invazive de ADN și analiza datelor rezultate în regim de urgență pentru a asista echipele de intervenție în rezolvarea conflictelor om-faună sălbatică (identificarea genotipurilor, marcare-recapturare, analiza relațiilor parentale între indivizii aceleiași specii, analiza hibridizare).

Contracting genetic services for analysis of non-invasive DNA samples and analysis of the resulting data with high speed turnover rates to assist intervention teams in resolving human-wildlife conflicts (genotype identification, mark-recapture, analysis of parental relationships between individuals of the same species, hybridisation analysis).

1.2 Achizitor/ Autoritatea contractantă

1.2 Purchaser / Contracting authority

FUNDAȚIA CONSERVATION CARPATHIA, Calea Feldioarei, NR. 27, Mun. BRAȘOV.

FUNDAȚIA CONSERVATION CARPATHIA, Calea Feldioarei, NR. 27, Mun. BRAȘOV.

Email: info@carpathia.org, CF: 26358046, atribut fiscal RO.

Email: info@carpathia.org, CF: 26358046, fiscal attribute RO.

Cod postal 500471, Tel. 0040740235406, Fax: 0368452411.

Postcode 500471, Tel. 0040740235406, Fax: 0368452411.

2. DATE TEHNICE

Pentru o buna înțelegere a obiectivelor contractului și pentru a formula oferta, ofertanții trebuie să țină cont de următoarele aspecte:

Fundația Conservation Carpathia (FCC) a implementat începând cu 2017 o schemă de monitorizare pe termen lung a speciilor urs, lup, râș și cerb. La momentul actual FCC a finalizat cu succes etapa inițială din schema de monitorizare (*T0*) având estimări populaționale exacte plecând de la date genetice pentru toate speciile (e.g., [losif et al., 2021](#)). În proiectul LIFE18 NAT/RO/001082, la 5 ani de la etapa inițială de monitorizare, FCC monitorizează din nou populațiile studiate (*T1*) pentru a înțelege care sunt tendințele populaționale în contextul măsurilor de conservare luate (reconstrucție ecologică, interzicerea vânătorii la trofeu, măsuri anti-braconaj, intervenții pentru reducerea conflictelor om-animale sălbatice, șamd). În paralel cu aceste recensăminte generale ale populațiilor de carnivore mari, în special la specia urs, FCC monitorizează impactul diverselor măsuri de prevenție și coexistență asupra numărului de conflicte.

În activitatea C4 din proiectul LIFE18 NAT/RO/001082 am aplicat măsuri anti braconaj și măsuri de prevenție împotriva atacurilor urșilor (garduri electrice, respingerea atacurilor urșilor, șamd). În activitatea D5 monitorizăm efectul acestor măsuri de coexistență. În cadrul acțiunilor echipelor rapide de intervenție, în perioada 2020-2022, am colectat acolo unde a fost posibil, pe lângă descrierea pagubelor, și probe non-invasive de ADN de la urșii care au atacat gospodăriile din zona de proiect. Este vorba în special de fire de păr de urs lăsate în garduri. Folosind aceeași metodologie de laborator ca și în cazul recensămintelor generale, am testat posibilitatea de a compara probele de la atacuri cu datele din populația generală. Am reușit să identificăm genotipurile urșilor problemă și credem că această unealtă este o oportunitate de management. Trasabilitatea genetică a urșilor

2. TECHNICAL DATA

For a good understanding of the contract objectives and for writing the offer, the bidders shall take into consideration the following requirements:

The Foundation Conservation Carpathia (FCC) has implemented a long-term monitoring scheme for brown bear, wolf, Eurasian lynx and red deer since 2017. At present FCC has successfully completed the initial stage of the monitoring scheme (*T0*) having accurate population estimates from genetic data for all species (e.g., [losif et al., 2021](#)). In project LIFE18 NAT/RO/001082, at 5 years after the initial monitoring stage, FCC surveys again the same wildlife populations (*T1*) to understand what the population trends are in the context of the conservation measures taken (ecological restoration, trophy hunting ban, anti poaching, intervention and prevention against human-wildlife conflicts, etc.). In parallel with these genetic censuses, especially for brown bear, FCC monitors the impact of various prevention measures on the number and intensity of conflicts.

In activity C4 of LIFE18 NAT/RO/001082 project we have implemented anti-poaching measures and bear conflict mitigation prevention (electric fences, deterring bear attacks, etc.). In activity D5 we are monitoring the effect of these coexistence measures. As part of the rapid response team actions in 2020-2022, we collected where possible, in addition to damage descriptions, non-invasive DNA samples from bears attacking in the villages in the project area. We talk about bear hairs left in barbwire fences for example. Using the same laboratory methodology as the general genetic census, we tested the possibility of comparing samples from attacks with data from the general population. We were able to identify problem bear genotypes and we believe this tool can be a major management opportunity. Genetic tracking of problem bears can help us to understand the structure of attacking

problemă ne poate ajuta să înțelegem care este structura urșilor care atacă în sate, ce sex au, cât de des și unde atacă același individ, dacă anumiți indivizi dezvoltă anumite tipare de atac, șamd. Considerăm că monitorizarea genetică a urșilor problemă poate fi o unealtă de management valoroasă aplicabilă la scară locală.

bears in villages, what sex they are, how often and where the same individual attacks, whether certain individuals develop certain attack patterns, and so on. We believe a genetic tracking of problem individual can act as a useful tool for local scale decision making.

Pentru a avea impact de management în timp real, pentru a demonstra utilitatea și pentru a clarifica parametri schemei de monitorizare astfel încât să fie replicabilă și în alte părți, această monitorizare a conflictelor dintre oameni și faună este împărțită în patru mari etape:

- etapa de colectare date din teren;
- etapa de laborator;
- etapa analizei bioinformatică a datelor;
- etapa de răspuns de management înapoi în teren (echipele de intervenție).

Chiar dacă procedura de achiziții se referă la etapele de laborator și bioinformatică, etapa de teren și cea de răspuns de management fiind realizate de FCC, prezentăm mai jos toate cele patru etape astfel încât ofertanții să înțeleagă întregul proces și calendarul aferent. Etapele care vizează ofertanții au metodologia detaliată.

In order to have real-time management impact, to demonstrate utility, and to clarify the parameters of the monitoring scheme so that it is replicable elsewhere, this monitoring of human-wildlife conflict is divided into four main stages:

- data collection in the field;
- laboratory stage;
- bioinformatics stage;
- management response, back in the field (rapid intervention teams).

Although this acquisition procedure refers to the laboratory and bioinformatics stages, with the field and management response phases being carried out by FCC, we present all four phases below so that bidders understand the entire process and the associated timeline. The steps that concern bidders have detailed methodology.

2.1. Etapa de teren	2.1. Field stage
<p><i>Responsabilități:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>Colectează probele în teren - autoritatea contractantă;</i> ● <i>Transportul probelor - autoritatea contractantă;</i> 	<p><i>Responsabilities:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>Collect samples in the field - contracting authority;</i> ● <i>Sample shipping - contracting authority;</i>
<p>În perioada 2023-2024 proiectul sus-menționat presupune evaluarea sistematică a tiparelor de conflict om-animale sălbatice, continuarea unor măsuri de management pentru diminuarea conflictelor și monitorizarea impactului acestor măsuri. Pentru specia urs, etapa de teren presupune colectarea sistematică a probelor non-invazive de ADN și va fi realizată de FCC astfel: februarie - decembrie 2023 și februarie - decembrie 2024. Colectarea probelor se va concentra mai ales pe urșii care atacă la șeptel, stupine, sau fac pagube la locuințe și anexe, mai ales în intravilan, și mai puțin pe urșii care fac pagube în livezi sau departe de localități (în golul alpin spre exemplu). Echipele de teren vor încerca să colecteze o proba de ADN de la fiecare atac de acest fel astfel încât eșantionul să fie reprezentativ pentru 1-2 sezoane de conflict.</p>	<p>In the period 2023-2024 the above-mentioned project involves the systematic assessment of human-wildlife conflict patterns, the continuation of management measures to mitigate conflicts and the monitoring of the impact of these measures. For the brown bear, the field phase involves the systematic collection of non-invasive DNA samples and will be carried out by the FCC as follows: February - December 2023 and February - December 2024. Sample collection will focus mainly on bears attacking livestock, beehives, or damaging houses and outbuildings, especially inside or close proximity of villages, and less on bears damaging orchards or far away from settlements (in the summer alpine grazing area for example). Field teams will endeavour to collect a DNA samples from each such attack so that the samples are representative of 1-2 seasons of conflicts in the project area.</p>
<p>După testele realizate in 2020-2022, eșantionul de probe este estimat la maxim 50 de probe de ADN de la atacurile urșilor pe an pentru doi ani consecutivi. Probele non-invazive de ADN colectate vor fi în principal fire de păr, uneori și excremente lăsate de urși în garduri, curți, grajduri, anexe, atunci când atacă în gospodării. Ocazional vom colecta și țesut și sânge dacă găsim urșii morți sau răniți. Pentru fiecare măsură de management implementată și care presupune manipularea ursului (capturare, relocare, împușcare) vom lua o probă de țesut pentru același scop.</p>	<p>After tests made in 2020-2022, the sample size is estimated at maximum 50 DNA samples from bear attacks per year for two consecutive years. The non-invasive DNA samples collected will mainly be hairs, sometimes also droppings left by bears in fences, yards, stables, outbuildings when attacking in households. Occasionally we will also collect tissue and blood if we find dead or injured bears. For each management measure implemented that involves handling bears (capture, relocation, shooting) we will take a tissue sample for the same purpose.</p>
<p>Calendarul exact de colectare al probelor nu poate fi anticipat, el va depinde de intensitatea conflictelor din sezonul respectiv. În consecință, ofertantul trebuie să aibă capacitatea să recalibreze calendarul său de analiză urgentă a probelor în laborator.</p>	<p>The exact timing of the sample collection cannot be predicted; it will depend on the intensity of the conflicts in the season. Consequently, the bidder must be able to recalibrate its timetable for urgent laboratory sample analysis.</p>

<p>2.2 Etapa de laborator</p> <p><i>Responsabilități:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Oferă datele de teren asociate fiecărei probe (metadate) - autoritatea contractantă; ● Analizele de laborator, PCR - prestatorul; ● Livrabile, rapoarte, date descriptive cu privire la succesul de genotipare - prestatorul; 	<p>2.2 Etapa de laborator</p> <p><i>Responsabilities:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Stores/shares metadata - contracting authority; ● Lab analysis, PCR - bidder; ● Deliverables, reports, descriptive data on genotyping success - bidder;
<p><u>Organizarea laboratorului și prevenirea contaminării</u></p> <p>ADN-ul în probele non-invazive este de calitate slabă și în cantitate redusă, de aceea contaminarea (mai ales cu reziduri PCR) este o problemă serioasă. Ofertanții sunt responsabili de implementarea unei proceduri stricte de lucru a probelor astfel încât să elimine riscul contaminării. Ofertanții trebuie să aibă protocoale stricte de acces / transfer între sub-etapele de laborator pentru a reduce contaminarea. Ofertanții trebuie să folosească controale negative ale probelor în toate etapele de laborator.</p>	<p><u>Organizing the lab and contamination risk</u></p> <p>DNA in non-invasive samples is of poor quality and low quantity, so contamination (especially with PCR residues) is a serious problem. Providers are responsible for implementing a strict procedure for working with samples so as to eliminate the risk of contamination. Bidders must have strict access/transfer protocols between laboratory sub-stages to reduce contamination. Bidders must use negative sample controls at all laboratory stages.</p>
<p><u>Genotiparea probelor de urs</u></p> <p>Pentru comparabilitatea genotipurilor între momentele de timp, ofertanții trebuie să utilizeze metoda de genotipare descisă în De Barba și colab. (2016). Metoda se bazează pe secvențierea ADN de ultimă generație (NGS), rezolvă problema comparabilității genotipurilor între diferite laboratoare, rezolvă problema subiectivismului în genotipare, crește succesul de genotipare, și reduce timpii de analiză la un preț mai redus.</p> <p>Secvențele ADN utilizate sunt descrise în De Barba și colab. (2016). Pentru înțelegerea tuturor detaliilor ofertanții trebuie să citească lucrarea sus-menționată dar și studiile Skrbinek et al. 2019 și Iosif et al. 2021. Pe scurt, la specia urs trebuie analizați 13 markeri genetici și un marker de identificare a sexului în cadrul aceleiași analize PCR. Merkerii genetici folosiți sunt: Ua03, Ua06, Ua14, Ua16, Ua17, Ua25, Ua51, Ua57, Ua63, Ua64, Ua65, Ua67, Ua68, and ZF for sex ID. În această etapă prestatorul trebuie să aibă grijă la erorile de pipetare</p>	<p><u>Genotyping of bear samples</u></p> <p>For comparability of genotypes between time frames, bidders should use the genotyping method described in De Barba et al. (2016). The method is based on next-generation DNA sequencing (NGS), solves the problem of comparability of genotypes between different laboratories, solves the problem of subjectivity in genotyping, increases genotyping success, and reduces analysis times at a lower cost.</p> <p>The DNA markers used are described in De Barba et al. (2016). To understand all the details bidders should read the aforementioned paper but also the Skrbinek et al. 2019 and Iosif et al. 2021 studies. Briefly, in the bear species 13 genetic markers and one sex identification marker should be analysed in the same PCR analysis. The genetic markers used are: Ua03, Ua06, Ua14, Ua16, Ua17, Ua25, Ua51, Ua57, Ua63, Ua64, Ua65, Ua67, Ua68, and ZF for sex ID. At this stage the provider must be careful</p>

pentru că aceste erori pot afecta toate etapele ulterioare de laborator.

Cea mai buna proba de la fiecare individ, va trebui analizata si cu metoda capillary sequencing. Cea mai bună probă, sau proba de referință a urșilor noi, adică cei detectați la momentul atacului dar care nu au fost detectați și la recensământul general. În situația în care un număr relativ mic de probe trebuie analizate rapid, costurile cresc semnificativ. Este cazul probelor colectate de la ursii problemă, cei care fac atacuri repetate în satele din zona de proiect. În acest caz, metoda capillary sequencing este mai potrivită chiar dacă folosește un set diferit de markeri genetici. Scopul acestei analize suplimentare este de a genera genotipuri comparabile pentru toți urșii identificați cu ajutorul markerilor NGS (vedeți mai sus). Acest lucru va permite o identificare directă, și o comparare rapidă a seturilor mici de probe, respectiv o relaționare directă cu setul istoric de genotipuri. Probele de referință trebuie să fie genotipate cu un set adițional de 11 loci microsatelitari (Mu50, G10X, G10D, G10H, G10C, G10P, Mu09, Mu59, Mu23, Mu15, G10L) și o altă genă de identificare a sexului (SRY) în cadrul unei singure reacții PCR. Protocolul este descris în detaliu în Skrbinišek et al. 2010.

2.3 Etapa analizei bioinformatică a datelor

După obținerea secvențelor de ADN sub forma unui fișier informatic, ofertanții trebuie să utilizeze unelte informatice pentru a identifica alelele fiecărui urs. Pentru a verifica acuratețea acestei etape informatice, ofertanții vor calcula următorii indici pentru fiecare probă: până la opt re-amplificări per probă în funcție de calitatea probei și suprapunerea genotipului cu altă probă conform Adams & Waits, 2007 respectiv Taberlet și colab., 1996; indicele de calitate descris de Miquel și colab., 2006 și indicele de calitate descris de Miller, Joyce, & Waits, 2002.

Identificarea probelor care aparțin aceluiași genotip - atribuirea indivizilor fiecărei probe genotipate cu succes

Identificarea probelor care aparțin aceluiași genotip nu este o operațiune simplă. În cadrul acestei etape

about pipetting errors because these errors can affect all subsequent laboratory steps

The best sample from each individual should also be analysed with capillary sequencing. The best sample, or reference sample of new bears, i.e. those detected at the time of the attack but not detected in the general census. Where a relatively small number of samples need to be analysed quickly, the costs increase significantly. This is the case for samples collected from problem bears, those that make repeated attacks in villages in the project area. In this case, capillary sequencing is more appropriate even if it uses a different set of genetic markers. The aim of this additional analysis is to generate comparable genotypes for all bears identified using NGS markers (see above). This will allow direct identification, and rapid comparison of small sample sets, i.e. a direct relation to the historical set of genotypes. Reference samples must be genotyped with an additional set of 11 microsatellite loci (Mu50, G10X, G10D, G10H, G10C, G10P, Mu09, Mu59, Mu23, Mu15, G10L) and another sex identification gene (SRY) in a single PCR reaction. The protocol is described in detail in Skrbinišek et al. 2010.

2.3 Bioinformatics stage

After obtaining the DNA sequences in the form of a computer file, bidders must use computer tools to identify the alleles of each bear. To check the accuracy of this computational step, bidders will calculate the following indices for each sample: up to eight re-amplifications per sample depending on the quality of the sample and the overlap of the genotype with another sample according to Adams & Waits, 2007 respectively Taberlet et al., 1996; the quality index described by Miquel et al., 2006 and the quality index by Miller, Joyce, & Waits, 2002.

Matching of samples belonging to the same genotype - assignment of individuals to each successfully genotyped sample

Matching samples belonging to the same genotype is not a simple operation. Assignment errors can

pot apărea erori de atribuire precum atribuirea incorectă atunci când indicii de calitate ai probelor au valori mici sau crearea de indivizi noi ne-reali din cauza erorilor de genotipare. Dacă prima eroare este minimizată de numărul mare de markeri genetici folosiți per specie, pentru a cunoaște magnitudinea celei de-a doua erori prestatorul va trebui să livreze genotipurile brute pentru verificarea eventualelor neconsecvențe.

Livrabilul final va avea forma unor seturi de date cu istoric de recapturare al indivizilor identificați pentru toate probele colectate / genotipate. Seturile de date livrate vor avea o structură predefinită și vor conține toate datele colectate din teren atribuite fiecărei probe, precum și rezultatele analizelor genetice: genotipul, sexul genetic, indicii de genotipare, comentariile din teren cu privire la pagubele făcute de acel urs.

2.4. Etapa de răspuns de management

Responsabilități:

- *Interpretarea, cartarea datelor, transferul informației către echipele de intervenție și implicarea comitetului local pentru situații de urgență - autoritatea contractantă;*

Livrabilele de la punctele 2.2 și 2.3 vor fi utilizate de către FCC pentru interpretarea, cartarea datelor, transferul informației către echipele de intervenție și implicarea comitetului local pentru situații de urgență în luarea unei decizii. Pe baza acestor date se vor lua decizii de management în privința urșilor identificați ca făcând probleme recurente, mai ales în zonele fierbinți cu număr mare de conflicte. Printre măsurile de management pe care echipa de intervenție le poate lua în funcție de magnitudine, gravitatea problemei și profilul ursului identificat, enumerăm: alungarea ursului cu metode repelente specifice, capturarea și relocarea ursului precum și urmărirea acestuia cu colar GPS sau împușcarea acestuia. În paralel continuăm să înregistrăm date despre magnitudinea conflictelor pentru a putea înțelege dacă măsurile luate de noi au efectul așteptat.

occur during this step, such as incorrect assignment when the quality indices of the samples have low values, or the creation of new non-real individuals due to genotyping errors. If the first error is minimised by the large number of genetic markers used per species, in order to know the magnitude of the second error the provider will have to deliver the raw genotypes to check for possible inconsistencies.

The final deliverable will be in the form of datasets with recapture history of identified individuals for all collected/genotyped samples. The delivered datasets will have a predefined structure and will contain all data collected from the field attributed to each sample, as well as the results of the genetic analyses: genotype, genetic sex, genotyping indices, field comments on the damage done by that bear.

2.4. Management response stage

Responsibilities:

- *Mapping, transfer the information towards rapid intervention teams and involving the local committee into decision making - contracting authority;*

The deliverables in 2.2 and 2.3 will be used by the FCC for interpretation, data mapping, transfer of information to response teams, and local emergency committee involvement in decision making. Based on this data, management decisions will be made regarding bears identified as recurring problems, especially in hotspots with high numbers of conflicts. Among the management measures that the intervention team can take depending on the magnitude, severity of the problem and profile of the identified bear, we list: chasing the bear with specific repellent methods, capturing and relocating the bear as well as tracking the bear with GPS collar or shooting the bear. In parallel, we continue to record data on the magnitude of conflicts to understand whether our measures are having the expected effect.

2.5 Literatură citată

Adams, J.R. & Waits, L.P. (2007). An efficient method for screening faecal DNA genotypes and detecting new individuals and hybrids in the red wolf (*Canis rufus*) experimental population area. *Conserv. Genet.* 8, 123–131. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10592-006-9154-5>

De Barba, M., Miquel, C., Lobréaux, S., Quenette, P.Y., Swenson, J.E. & Taberlet, P. (2016). High-throughput microsatellite genotyping in ecology: improved accuracy, efficiency, standardization and success with low-quantity and degraded DNA. *Mol. Ecol. Resour.* 17, 492–507. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1755-0998.12594>

Iosif, R., Skrbinšek, T., Jelenčič, M., Boljte, B., Konec, M., Erich, M., Sulică, B., Moza, I., Ungureanu, L., Rohan, R., Bîrloiu, D., Promberger, B. (2021). Report on monitoring brown bears using non-invasive DNA sampling in the Romanian Carpathians. <https://www.carpathia.org/wp-content/uploads/2021/10/FCC-Report-on-monitoring-brown-bear-using-non-invasive-DNA-sampling-in-the-Romanian-Carpathians.pdf>

Miller, C.R., Joyce, P. & Waits, L.P. (2002). Assessing allelic dropout and genotype reliability using maximum likelihood. *Genetics* 160, 357–366. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11805071/>

Skrbinšek T., Jelenčič M., Waits L.P., Kos I., Trontelj P. (2010). Highly efficient multiplex PCR of noninvasive DNA does not require preamplification *Molecular Ecology Resources*, 10, 495–501. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1755-0998.2009.02780.x>

Skrbinšek, T., Jelenčič, M., Boljte, B., Konec, M., Erich, M., Iosif, R., Moza, I. & Promberger, B. (2019). Report on analysis of genetic samples collected in 2017 – 2018 on brown bears (*Ursus arctos*), Eurasian lynx (*Lynx lynx*) and grey wolf (*Canis lupus*)

2.4. Literature cited

Adams, J.R. & Waits, L.P. (2007). An efficient method for screening faecal DNA genotypes and detecting new individuals and hybrids in the red wolf (*Canis rufus*) experimental population area. *Conserv. Genet.* 8, 123–131. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10592-006-9154-5>

De Barba, M., Miquel, C., Lobréaux, S., Quenette, P.Y., Swenson, J.E. & Taberlet, P. (2016). High-throughput microsatellite genotyping in ecology: improved accuracy, efficiency, standardization and success with low-quantity and degraded DNA. *Mol. Ecol. Resour.* 17, 492–507. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1755-0998.12594>

Iosif, R., Skrbinšek, T., Jelenčič, M., Boljte, B., Konec, M., Erich, M., Sulică, B., Moza, I., Ungureanu, L., Rohan, R., Bîrloiu, D., Promberger, B. (2021). Report on monitoring brown bears using non-invasive DNA sampling in the Romanian Carpathians. <https://www.carpathia.org/wp-content/uploads/2021/10/FCC-Report-on-monitoring-brown-bear-using-non-invasive-DNA-sampling-in-the-Romanian-Carpathians.pdf>

Miller, C.R., Joyce, P. & Waits, L.P. (2002). Assessing allelic dropout and genotype reliability using maximum likelihood. *Genetics* 160, 357–366. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11805071/>

Skrbinšek T., Jelenčič M., Waits L.P., Kos I., Trontelj P. (2010). Highly efficient multiplex PCR of noninvasive DNA does not require preamplification *Molecular Ecology Resources*, 10, 495–501. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1755-0998.2009.02780.x>

Skrbinšek, T., Jelenčič, M., Boljte, B., Konec, M., Erich, M., Iosif, R., Moza, I. & Promberger, B. (2019). Report on analysis of genetic samples collected in 2017 – 2018 on brown bears (*Ursus arctos*), Eurasian lynx (*Lynx lynx*) and grey wolf (*Canis lupus*)

in a pilot area in Southern Carpathians, Romania.
<https://www.carpathia.org/wp-content/uploads/2021/08/FCC-2017.2018.Final-Report-Bear.pdf>

Taberlet, P., Griffin, S., Goossens, B., Questiau, S., Manceau, V., Escaravage, N., Waits, L.P. & Bouvet, J. (1996). Reliable genotyping from small DNA. *Nucleic Acids Res.* 24, 3189–3194.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC146079/>

3. VALOAREA MAXIMĂ ESTIMATĂ A CONTRACTULUI

Bugetul estimat pentru serviciile descrise la punctul 2 este de **19,116 € fără TVA.**

4. FORMA DE ATRIBUIRE

Achiziție directă cu selecție de oferte.

5. PREZENTAREA OFERTEI

Ofertanții trebuie să realizeze și trimită următoarele documente:

5.1 **Propunerea tehnică** va trata aspectele de la punctul 2 în viziunea conceptuală a ofertantului și va conține abordarea propusă pentru realizarea serviciilor printr-o descriere succintă a metodelor propuse, inclusiv o descriere a capacității de livrare urgentă a datelor (cu termene maxime estimate pentru returnarea datelor). Este permisă asocierea a doi sau mai mulți ofertanți.

Propunerea tehnică nu trebuie să depășească 10 pagini (excluzând CV-urile experților) și trebuie să conțină cel puțin următoarele informații conform descrierii de la pct. 2 de mai sus:

- protocoalele PCR pentru specia urs,
- descrierea măsurilor luate pentru a reduce erorile de laborator,
- capacitatea de a analiza urgent probele cu termene maxime de livrare estimate.
- De asemenea, propunerea tehnică trebuie să prezinte capacitatea profesională a

in a pilot area in Southern Carpathians, Romania.
<https://www.carpathia.org/wp-content/uploads/2021/08/FCC-2017.2018.Final-Report-Bear.pdf>

Taberlet, P., Griffin, S., Goossens, B., Questiau, S., Manceau, V., Escaravage, N., Waits, L.P. & Bouvet, J. (1996). Reliable genotyping from small DNA. *Nucleic Acids Res.* 24, 3189–3194.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC146079/>

3. ESTIMATED MAXIMUM VALUE OF THE CONTRACT

The estimated budget for genetic services detailed in chapter 2 is **19,116 € VAT excluded.**

4. CONTRACT ASSIGNMENT

Direct acquisition with selection of offers.

5. PRESENTATION OF THE OFFER

The offer shall contain the following documents:

5.1 The Technical Proposal will address the issues in 2 in the bidder's conceptual vision and will contain the proposed approach to performing the services through a short description of the proposed methods, including a description of the urgent data delivery capability (with estimated maximum turnaround times). Two or more bidders are allowed to be associated.

The technical offer is not exceeding 10 pages (excluding CVs of the experts) and must contain at least the following information as described in chapter 2 above:

- PCR protocols for the bear species,
- description of measures taken to reduce laboratory errors,
- capacity to analyse samples urgently with estimated maximum delivery times.
- the specification, the technical offer must show the professional capacity of the

ofertanților. Anexat propunerii tehnice se atașează o prezentare a experților cheie implicați.

5.2 Propunerea financiară se va prezenta în euro fără TVA, are caracter ferm și obligatoriu, din punctul de vedere al conținutului ofertei, pe toată perioada de valabilitate a ofertei, sub sancțiunea respingerii acesteia. Perioada de valabilitate a ofertei trebuie să fie valabilă minim 60 de zile.

Lipsa completării ofertei financiare atrage imposibilitatea evaluării ofertei. Nu se admit oferte alternative.

5.3 Ofertantul va trebui să demonstreze capacitatea sa prin:

5.3.1 experiența profesională:

- Cel puțin un expert în genetică moleculară care să îndeplinească obligatoriu următoarele cerințe:
 - Studii universitare (minim PhD);
 - Experiență 10 ani în studii / proiecte de genetică moleculară - dovada îndeplinirii se face cu CV.
 - Experiență în coordonare în minim două contracte / proiecte de evaluare populațională cu ajutorul geneticii la specia urs - dovada îndeplinirii se face cu CV în care se indică titlul proiectelor, finanțatorul și anul;
 - Succesul de genotipare obținut în studiile menționate / proiecte pe specia urs și coordonate de expertul coordonator să nu fie mai mic de 50% - dovada îndeplinirii se face cu link către rapoarte tehnice / articole științifice rezultate în urma proiectelor.
 - Cel puțin o publicație ca autor principal în revistă științifică peer-reviewed disponibilă în Web of

tenderers. A presentation of the key experts involved is attached to the technical offer.

5.2 The financial proposal must be presented in euros excluding VAT, and is binding, in terms of the content of the offer, for the entire period of validity of the offer, under penalty of rejection. The period of validity of the tender must be at least 60 days.

Failure to complete the financial offer makes it impossible to evaluate the offer. Alternative offers are not allowed.

5.3 The bidder has to demonstrate its capacity through:

5.3.1 professional experience:

- At least one expert in molecular genetics who must meet the following requirements:
 - University degree (minimum PhD);
 - 10 years experience in molecular genetics studies/projects - proof of fulfilment with CV.
 - Experience in coordinating a minimum of two population assessment contracts/projects using genetics on brown bear - proof of this should be provided by CV indicating project title, funder and year;
 - Genotyping success achieved in the above mentioned studies / projects on brown bear and coordinated by the coordinating expert must not be less than 50% - proof of fulfilment shall be provided with a link to the technical reports / scientific articles resulting from the projects.
 - At least one publication as lead author in a peer-reviewed scientific journal available on the Web of

Science. Publicația trebuie să aibă ca obiectiv analize genetice cu markeri moleculari specifici pentru specia urs - dovada îndeplinirii condiției se face cu CV cu link de accesare;

- Cel puțin un tehnician laborator cu experiență în:
 - Studii universitare (minim MSc);
 - Experiență în prelucrarea probelor non-invasive de ADN - dovada îndeplinirii condiției se face cu CV;
 - Experiență minim un an într-un laborator de genetică - dovada îndeplinirii condiției se face cu CV.

Science. The publication must have as its objective genetic analysis with specific genetic markers for brown bear - proof of fulfilment of the condition is with CV with link;

- At least one laboratory technician with experience in:
 - University degree (minimum MSc);
 - Experience in processing non-invasive DNA samples - proof of fulfilment of the requirement by CV;
 - Minimum one-year experience in a genetics laboratory - proof of fulfilment of the condition is provided by CV.

6. ATRIBUIREA CONTRACTULUI

Atribuirea contractului se face conform criteriului "oferta cea mai avantajoasa din punct de vedere economic".

Contractul va fi atribuit ofertantului care îndeplinește toate condițiile tehnice și financiare și acumulează cel mai mare punctaj

Algoritmul de calcul:

Nr. factor	Factor de evaluare	Punctaj maxim
F1	Valoare: se acorda punctajul maxim pentru ofertantul cu cea mai mică valoare financiara propusa (euro fara TVA)	50
F2	Nr. contracte: se acorda punctajul maxim pentru ofertantul cu cel mai mare numar de proiecte/contracte prezentat pentru dovedirea experientei in genetica moleculara la specia urs	15
F3	Nr. publicatii peer reviewed: se acorda punctajul maxim pentru ofertantul cu cel mai mare numar de publicații peer reviewed prezentat pentru dovedirea experientei la specia urs	15

6. AWARDING THE CONTRACT

The contract will be awarded on the basis of the criterion "most economically advantageous tender".

The contract will be awarded to the tenderer who satisfies all the technical and financial conditions and accumulates the highest score.

Calculation algorithm:

No. factor	Assessment factor	Maximum score
F1	Value: maximum points will be awarded to the bidder with the lowest proposed financial value (euro excluding VAT)	50
F2	No. of contracts: maximum points will be awarded to the bidder with the highest number of projects/contracts submitted for proof of experience in molecular genetics in the bear species.	15
F3	No. of peer reviewed publications: maximum points will be awarded to the bidder with the highest number of peer reviewed publications submitted to prove experience in bear species.	15

LIFE18 NAT/RO/001082

F4	Calendar: se acorda punctajul maxim pentru ofertantul cu cel mai rapid grafic de execuție / analiza probelor în regim de urgență.	20
Total		100

F4	Calendar: maximum points will be awarded to the bidder with the fastest turnover rate / analysis of samples on an emergency basis.	20
Total		100

Algoritmul de calcul este următorul:

Pmax – este punctajul maxim care se acorda fiecărui factor;

Pofn – punctajul aferent ofertei „n” (Ofn); (puncte);

Punctajul aferent ofertei „n” se calculează cu formula:

$$Pofn = (Valoare\ F1\ a\ ofertei\ financiare\ celei\ mai\ mici / Valoare\ F1\ al\ ofertei\ "n") \times Pmax + (Valoare\ F2\ a\ ofertei\ cu\ cel\ mai\ mare\ numar\ de\ proiecte\ si\ contracte / Valoare\ F2\ a\ ofertei\ "n") \times Pmax + (Valoare\ F3\ a\ ofertei\ cu\ cel\ mai\ mare\ numar\ de\ publicatii / Valoare\ F3\ a\ ofertei\ "n") \times Pmax + (Valoare\ F4\ a\ ofertei\ cu\ cel\ mai\ rapid\ grafic\ de\ executie / Valoare\ F4\ a\ ofertei\ "n") \times Pmax,$$
 exprimat in puncte.

7. DEPUNEREA OFERTEI

Depunerea ofertei (oferta tehnica, financiara si documente care să ateste experiența profesionala) se face până la data de 30.05.2023 la adresa de email r.iosif@carpathia.org sau prin poștă la sediul Fundației Conservation Carpathia, Calea Feldioarei Nr 27, Brasov, România.

The calculation algorithm is as follows:

Pmax - is the maximum score to be given to each factor;

Pofn - the score for bid "n" (Ofn); (points);

The score for bid "n" is calculated with the formula:

$$Pofn = (F1\ value\ of\ the\ lowest\ financial\ offer / F1\ value\ of\ offer\ "n") \times Pmax + (F2\ value\ of\ the\ offer\ with\ the\ highest\ number\ of\ projects\ and\ contracts / F2\ value\ of\ offer\ "n") \times Pmax + (F3\ value\ of\ the\ offer\ with\ the\ highest\ number\ of\ publications / F3\ value\ of\ offer\ "n") \times Pmax + (F4\ value\ of\ the\ offer\ with\ the\ fastest\ turnover\ rates / F4\ value\ of\ offer\ "n") \times Pmax,$$
 expressed in points.

7. SUBMITTING THE OFFER

The offer (technical offer, financial offer and documents showing professional expertise) will be submitted by 30.05.2023 at email address r.iosif@carpathia.org or through regular mail at Foundation Conservation Carpathia, 27 Calea Feldioarei, Brasov, Romania.

Prepared by

Ruben Iosif

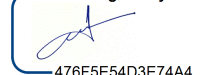
DocuSigned by:



PROJECT MANAGER

Daniel Bucur

DocuSigned by:



476F5E54D3E74A4...

LIFE18 NAT/RO/001082

LEGAL DEPARTMENT,

Ioana Săvulescu

DocuSigned by:

Ioana Săvulescu

5B0B11FDB52E4ED...

Approved,

EXECUTIVE DIRECTOR

Barbara Promberger

DocuSigned by:

Barbara Promberger

3C21436385864BF...