

## ALLEGATO B

**Oggetto: Procedura aperta telematica di rilievo comunitario, ai sensi ai sensi dell'art. 71 del d. lgs. 36/2023, per l'affidamento della fornitura di un sistema di sequenziamento NGS - strumentazione e reagenti - da destinare al Laboratorio di Genetica - UOC Patologia Clinica - della ASL Taranto.**

### Lotto 1

#### Fornitura strumentazione:

Assistenza full-risk obbligatoria – come da capitolato SAT All. G per tutti gli strumenti di seguito indicati e per tutta la durata della fornitura. Si precisa che detta strumentazione è finalizzata all'esecuzione delle metodiche del lotto 1 e del lotto 2.

N.1 Sistema NGS quale back-up marcato CE-IVD;

N.1 Sistema automatizzato per la preparazione delle librerie;

Strumentazione accessoria obbligatoria per il funzionamento dell'intero flusso operativo NGS costituita da:

- n.1 Blocco termico a dispersione passiva per PCR plate con supporto per provette da 0,2 ml e un blocco con supporto per provette da 1.5 ml;
- n.1 Dispositivo per la quantificazione DNA ed RNA pre-allestimento librerie;
- n.1 Strumento per valutare la qualità delle librerie;
- n. 1 Agitatore per micropiastre;
- n. 1 Termociclatore con le seguenti specifiche di prestazione: intervallo di controllo della temperatura tra 4°C e 99°C, accuratezza del controllo  $\pm 0,25^\circ\text{C}$  da 35°C a 99°C, temperatura regolabile del lid;
- n.1 centrifuga da banco per micropiastre;
- n.1 Centrifuga da banco per microprovette;
- n.1 Supporto magnetico per piastre;
- n. 1 Supporto magnetico per provette 12 x 1.5 ml;
- n. 1 Vortex per tubi da 1,5 ml con velocità regolabile;
- Magneti per purificazione librerie per tubi da 0,2 ml e 1.5 ml;
- n.02 Pipette multicanale 30 – 300ul;
- n. 02 Pipette multicanale 0.5 – 10ul;
- Thermo Shaker riscaldato;
- Sistema di concentrazione di DNA/RNA;
- n. 2 PC per l'analisi dei dati comprensivo di stampante e storage dati esterno (almeno 20TB).

### A. STRUMENTAZIONE

#### Requisiti minimi strumentazione (obbligatori a pena di esclusione)

#### 1. Sistema NGS combinato per scansione Chip microarray e sequenziamento:

- Apparecchiatura nuova di ultima generazione CE IVD;

- Protocolli di sequenziamento supportati sia di tipo Single End che “Paired-End”;
- Reagenti pronti all’uso (nessuna operazione manuale viene richiesta in termini di preparazione o diluizione delle soluzioni);
- Possibilità di sequenziamento di un genoma umano (30x coverage) in meno di 30 ore;
- Amplificazione clonale completamente automatizzata e inclusa all’interno dello strumento;
- Tecnica di sequenziamento che consenta l’aggiunta di basi e la relativa detection ciclo per ciclo ovvero base per base anche in presenza di regioni omopolimeriche;
- Possibilità di aggiornamento tecnologico per la lettura di vetrini ad alta densità (array) per studi di genotipizzazione;
- Strumentazione aperta e compatibile con l’uso di reagenti (kit) forniti da diverse aziende di terze parti presenti nel lotto 2;
- Software per l’analisi di varianti e per l’analisi microarray;
- Istruzioni, manuale d’uso e di manutenzione e schede tecniche in lingua italiana;
- L’azienda aggiudicataria sarà tenuta a fornire un banco di supporto per la strumentazione offerta previo sopralluogo presso i locali in cui lo strumento sarà collocato.

## 2. **Sequenziatore NGS di back-up:**

- Apparecchiatura nuova di ultima generazione CE IVD;
- Protocolli di sequenziamento supportati sia di tipo Single End che “Paired-End”;
- Reagenti pronti all’uso (nessuna operazione manuale viene richiesta in termini di preparazione o diluizione delle soluzioni);
- Amplificazione clonale completamente automatizzata e inclusa all’interno dello strumento;
- Tecnica di sequenziamento che consenta l’aggiunta di basi e la relativa detection ciclo per ciclo ovvero base per base anche in presenza di regioni omopolimeriche;
- Strumentazione aperta e compatibile con l’uso di reagenti (kit) forniti da diverse aziende di terze parti presenti nel lotto 2;

Dovrà essere garantita la costruzione e la validazione di pannelli genici “custom” (servizio concierge) con garanzia di rimborso in caso di fallimento delle specifiche di casa madre;

- Software per l’analisi di varianti;
- Istruzioni, manuale d’uso e di manutenzione e schede tecniche in lingua italiana;
- L’azienda aggiudicataria sarà tenuta a fornire un banco di supporto per la strumentazione offerta previo sopralluogo presso i locali in cui lo strumento sarà collocato.

## 3. **Sistema automatizzato per la preparazione di Librerie con termociclatore integrato:**

- Strumentazione aperta sulla quale dovranno essere installati n.massimo 10 script necessari all’automazione dei kit presenti sia nel lotto 1 che nel lotto 2 a discrezione del laboratorio.
- L’Azienda aggiudicataria sarà tenuta a fornire un banco di supporto per la strumentazione offerta previo sopralluogo presso i locali in cui lo strumento sarà collocato.

## B. **FORNITURA REAGENTI E CONSUMABILI**

1. L’azienda aggiudicataria sarà tenuta a fornire tutti i reagenti e consumabili necessari per i kit diagnostici di seguito elencati sia per la metodica manuale che automatizzata;

KIT DIGNOSTICI	TEST/ANNO
SNP – Array genomico ad alta risoluzione	160
Sequenziamento NGS: Esoma Clinico con numero di geni < 5000	144
Sequenziamento NGS: Pannello custom	32
Sequenziamento NGS: WES	32
Sequenziamento NGS: pannello di almeno 10 geni correlato con la HBOC	100
Sequenziamento NGS: BRCA ½ CE-IVD	504
Sequenziamento NGS: Fibrosi Cistica I e II Livello CE-IVD	216
Sequenziamento NGS: Chimerismo CE-IVD	300
Sequenziamento NGS: Alfa e Beta Talassemia CE-IVD	48

#### Requisiti minimi:

Kit e software d'analisi per l'esecuzione della metodica SNP array genomico (chip e reagenti dedicati).

- Vetrini a sonde SNPs con risoluzione effettiva non inferiore a 25kb e copertura ad alta densità di non meno di 3000 geni;
- Quantità di DNA minima di partenza necessario all'analisi non superiore a 200ng;
- Risoluzione di mosaicismi a basso livello;
- Identificazione della perdita di eterozigotità;
- Identificazione delle triploidie;
- Identificazione delle isodisomie uniparentali;
- Reagenti pronti all'uso;
- Utilizzo di un'unica piattaforma sia per le applicazioni in diagnosi postnatale che in diagnosi oncologica (piattaforma arricchita nelle regioni note per essere associate sia a patologia congenita che oncologica);
- Software di analisi unico per la metodica array- CGH genomico e target;
- Software di analisi con database integrato;
- Link diretti ai principali database internazionali per l'interpretazione del risultato con la possibilità di inserire link customizzati dall'utilizzatore;
- Backup dell'archivio dati automatico su hardware esterno;
- Memoria storica all'interno del software dei campioni analizzati con sistemi adottati precedentemente dal laboratorio;
- Possibilità di inserire le informazioni provenienti da database italiani;
- Creazione di report personalizzabili;

#### C. SUPPORTO TECNICO/SCIENTIFICO

##### Caratteristiche obbligatorie

1. In caso di qualsiasi problema tecnico che porti ad interruzione dell'attività sarà garantita l'esecuzione dell'intervento di ripristino delle strumentazioni e dell'attività entro 5 giorni lavorativi successivi alla segnalazione del guasto, con assistenza in loco;
2. Assistenza tecnica e supporto scientifico con personale di lingua italiana saranno garantiti anche telefonicamente;
3. L'azienda aggiudicataria dovrà prevedere un piano di formazione teorico -pratico on-site sull'uso della strumentazione, sulle procedure di preparazione delle librerie e dei template di acidi

nucleici ( per le diverse esigenze operative) e sulla valutazione dei dati ottenuti. Esplicitare e specificare il numero di ore previsto per il piano di formazione e se sarà condotto in modo collegiale oppure con i singoli operatori dei Servizi coinvolti oltre al numero massimo di operatori partecipanti;

4. Formazione del personale dedicato alla diagnostica;
5. Adesione ad un programma certificato di VEQ.

<b>PUNTEGGI CARATTERISTICHE TECNICHE</b>			
	<b>CRITERI DI VALUTAZIONE</b>	<b>MODALITA' ASSEGNAZIONE PUNTEGGIO</b>	<b>PUNTI</b>
<b>STRUMENTAZIONE</b>			
1	Strumento combinato per scansione Chip microarray e sequenziamento con produttività massima di almeno 100 Giga Basi per singola run con almeno 2 supporti di sequenziamento con una produttività variabile da 100 ad almeno 700 milioni di letture (reads) con modulo di lettura vetrini associato.	ON/OFF	8
2	Strumento di back-up con produttività massima di almeno 500 Mega Basi per singola run con almeno 3 supporti di sequenziamento con una produttività variabile da 1 al almeno 25 milioni di letture (reads)	ON/OFF	8
3	Nessuna necessità di GAS e/o acqua ultrapura associati all'utilizzo degli strumenti al punto 1 e 2	ON/OFF	2
4	Tecnica di sequenziamento che consenta l'aggiunta di basi e la relativa detection ciclo, ovvero base per base, anche in presenza di regioni omopolimeriche (Sequencing by Synthesis)	ON/OFF	7
5	N° di supporti di sequenziamento a produttività variabile	Proporzionale	3
6	Metodi presenti per la costruzione di librerie genomiche	Relazionare	6
7	Possibilità di impostare, prima della corsa, la lunghezza precisa delle sequenze che verranno generati	Relazionare	3
8	Tipologia di corsa	Relazionare	6
<b>REAGENTI</b>			
9	Kit per la preparazione di libraries e il sequenziamento di esoni con copertura di un numero di geni compreso tra 4500 e 5000.	ON/OFF	3
10	Possibilità di scelta vetrini con una densità variabile con range da 300k a oltre 1000k	ON/OFF	3
11	Accuratezza del dato di sequenziamento del BRCA 1/2	Proporzionale	5
12	Sostituzione reattivi in caso di fallimenti di corse per	ON/OFF	4

	cause di chimica e/o di hardware		
13	Tipologia di Barcoding Dual Index	ON/OFF	3
<b>ASSISTENZA E MANUTENZIONE</b>			
14	Minore tempo di intervento assistenza online/telefonica	Proporzionale	3
15	Completezza del piano di formazione teorico-pratico on-site	Relazionare	3
16	Almeno un intervento annuale di manutenzione preventiva, verifica di sicurezza elettrica e correttive illimitate	Proporzionale	3

## LOTTO 2

### Fornitura di reagenti per la preparazione delle librerie NGS (obbligatori a pena di esclusione)

KIT DIAGNOSTICI	GENI TARGET	TEST/ANNO
Pannello tumori eredo-familiari tra cui tumore della mammella dell'ovaio e del colon-retto	BRCA1;BRCA2;PALB2;ATM:APC;BARDI;BRIP;CDH1;CHEK2;EP CAM;FAM175A;MLH1;MRE11A;MSH2; MSH6;MUTYH;NBN;PIK3CA;PMS2;PTEN;RAD50;RAD51C;RAD 51D;STK11;TP53;XRCC2.	256
Pannello oncoematologico (sindromi mieloproliferative e mielodisplastiche)	ABLI;ASXL1;BRAF;CALR;CBL;CEBPA;CSF3R;DNMT3A; ETV6;EZH2; FLT3; HRAS; IDH1;IDH2; JAK2; KIT; KRAS; MPL; NPM1; NRAS; PTPN11; RUNX1; SETBP1;SF3B1; SRSF2; TET2; TP53; U2AF1; WT1;ZRSR2;	160
Pannello Nefropatie	AGXT;AQP2,ATP6V0A4; ATP6V1B1;AVPR2; BSND; CASR; CEP290; CLCN5; CLCNKB; COL4A3; COL4A4; COL4A5; CRB2; CTNS; CUBN; CYP24A1; DSTYK; EMP2; EYA1; FN1; FOXC1; GRHPR; HNF1b; KANK2; KCNJ1; LAMB2; NPHS2; NR3C2; OCRL; PAX2; PHEX; PKD1; PKD2; PKHD1; SIX1; SLC12A1; SLC12A3; SCL34A1; SLC4A1; SLCAA4; TTC21B; UMOD; WT1;	96
Pannello Mendelioma	Geni nucleari e mitocondriali	128
Pannello Neuropatie	Numero di geni superiore a 150	32
Pannello Epilessia	Numero di geni superiore a 50	32
Pannello Encefalopatie	Numero di geni superiore a 50	32
Pannello Disabilità Intellettive	Numero di geni superiore a 250	32
Pannello Autismo	Numero di geni superiore a 50	32
Licenza software	Genome browser per analisi terziaria con predittori siti di splicing e per differenti dati bioinformatici (VCF, sanger file)	1
Programma di validazione per		1

pannelli custom		
Programma di validazione per CNV		1
Certificato e report di performance analitiche		1
Analisi librerie NGS		650

#### **CARATTERISTICHE OBBLIGATORIE PENA ESCLUSIONE**

- Fornitura di un software/piattaforma di analisi di interpretazione automatica dei dati prodotti da ciascuna corsa di sequenziamento;
- Piattaforma bioinformatica completa che permetta l'accesso a dati di comunità genomica internazionale riguardo varianti genetiche;
- Piattaforma di analisi installabile su dispositivi multipli e con creazione di un numero illimitato di utenti;
- Training e Installazione dei protocolli NGS sulla strumentazione non automatizzata inclusa nel lotto 1;

#### **CARATTERISTICHE A PUNTEGGIO**

<b>ELEMENTI DI VALUTAZIONE</b>	<b>PUNTEGGIO</b>	<b>MODALITA' ASSEGNAZIONE PUNTEGGIO</b>
Certificazione CE-IVD per <u>Pannello oncoematologico</u> (sindrome mieloproliferative e mielodisplastiche) e per <u>Pannello Tumori eredo-familiari</u>	15	ON/OFF
Kit pronti all'uso di preparazione libreria NGS che utilizzi Tecnologia hybrid-captur	5	ON/OFF
Pannello oncoematologico (patologie mieloidi) con uniformità di coverage di almeno 98%	10	ON/OFF
Pannello mieloide Detection di varainti complesse nei geni FLT3 e ITD e ampie delezioni	10	ON/OFF
Reagenti per purificazione delle librerie inclusi nel kit	5	ON/OFF
Software di analisi dei dati automatizzata delle corse di sequenziamento che permetta all'utente l'interpretazione di tutte le varainti conosciute e non e l'analisi del copy number variations (CNV) per tutti i geni presenti nel pannello, partendo dallo stesso dato grezzo di sequenziamento NGS	5	ON/OFF
Classificazione integrata nel software di analisi delle varianti germinali tramite linee guida ACMG	5	ON/OFF

Piattaforma software di analisi qualificata AgID per l'analisi dei dati genomici, fornitura di una protezione dei dati dei pazienti attraverso l'utilizzo di data center sicuri e certificati ISO 27001 e criptazione dei dati grezzi/analizzati conforme alla nuova normativa europea (GDPR-Regolamento UE 2016/679)	10	ON/OFF
Generazione di report automatico IVD per utilizzo diagnostico (solo per i pannelli offerti che siano CEIVD)	5	ON/OFF
<b>TOTALE</b>	<b>70</b>	