

LOTTO 1:

N. 1 sistema diagnostico completo per estrazione di acidi nucleici, per la determinazione di mutazioni geniche utili alla *target therapy* dei pazienti oncologici, per l'identificazione di mutazioni correlate a patologie metaboliche, per le esigenze operative delle UU.OO.CC. Laboratorio Analisi Cliniche, Anatomia Patologica ed altre necessità cliniche della ASL

OGGETTO: la fornitura in service di un sistema di **sequenziamento**, nuovo di fabbrica e di ultima generazione con tecnologia (NGS) massiva in parallelo, per l'identificazione di mutazioni somatiche associate a disordini oncologici e di mutazioni somatiche e germinali dei geni coinvolti nei tumori della mammella, tumori colon rettali, polmone e ovaio, ed altre necessità di diagnosi, dimensionato secondo i volumi di attività per le UU.OO.CC. Laboratorio Analisi Cliniche, Anatomia Patologica, ed altre esigenze della ASL.

La strumentazione di base deve essere costituita da:

1. Un estrattore automatico per estrazioni di DNA/RNA da campioni di tessuto e da campioni derivati da sangue periferico;
2. Uno strumento per la preparazione delle library;
3. Uno strumento per la preparazione degli amplificati in fase di pre-sequenziamento nucleotidico;
4. Un sistema di sequenziamento di ultima generazione SBS (Sintesys by sintesys) in grado di eseguire sequenziamento per sintesi;
5. Strumentazione per la valutazione qualitativa e quantitativa (QC) degli acidi nucleici lungo tutta la fase pre-analitica.

Caratteristiche minime del Sistema a pena di esclusione:

- Il sistema deve lavorare con tecnica di **sequenziamento "Sequencing by synthesis"**; l'aggiunta delle basi e la relativa detection devono avvenire ciclo per ciclo, base per base, anche nel caso di regioni omopolimeriche.
- Il sistema deve essere in grado di lavorare campioni da biopsia solida, biopsia liquida
- Il sistema deve essere fornito di un sistema di gestione dei reagenti in maniera tale da poter lavorare senza sprechi di reagenti e che quindi permetta la determinazione di un costo finito del risultato (dall'estrazione al referto diagnostico).
- Il sistema deve prevedere la completa automazione con protocolli standardizzati e ready-to-use della preparazione delle library, dell'amplificazione clonale per la preparazione automatica dei template per la gestione delle librerie multiple, e del sequenziamento in un workflow continuo e con il collegamento alla LIS ospedaliero per la tracciabilità del campione.
- Il sistema deve essere fornito con un software per l'analisi primaria e secondaria ed un software di interpretazione dei dati completamente integrato nel sistema con caricamento dei dati grezzi sul software di analisi e passaggio a quello di interpretazione il tutto in modalità automatica e senza intervento dell'operatore. I due software devono essere in grado di presentare i risultati in automatico dalla macchina con una spiegazione medico-clinica delle mutazioni rilevate, un'indicazione della diagnosi, della terapia farmacologica ed eventuali studi clinici in corso o, in alternativa, possano essere interpretati dall'utilizzatore.
- I pannelli molecolari devono includere le mutazioni associate a terapie farmacologiche approvate dalle linee guida nazionali ed internazionali; il report di diagnosi deve poter inoltre essere personalizzato con bibliografia inerente alla diagnosi, se richiesto dall'utilizzatore.
- Il sistema deve essere "da banco", e non deve richiedere l'utilizzo di GAS (Argon, azoto, etc.) o altri elementi che comportino difficoltà di approvvigionamento e di gestione in laboratorio.
- Il sistema deve poter valutare più geni contemporaneamente per lo stesso paziente, in modo da ottenere un pannello molecolare più ampio possibile per i 5 tumori solidi principali (Colon, Polmone, Tiroide e Ovaie) da campioni da Biopsia Liquida o solida.
- I pannelli molecolari utilizzati devono rispettare tutti i requisiti minimi richiesti dalle Associazioni EMA/AIFA
- Il sistema deve essere in grado di identificare tutti gli SNP coinvolti in una diagnosi tumorale: SNVs, INDELS, CNVs e FUSIONS.
- La quantità minima di partenza del DNA deve essere <50 ng. per un intero pannello di geni e per singolo campione.
- Il sistema deve avere una sensibilità =/< al 5% ed una specificità pari al 99%

- Il sistema deve essere fornito completo di tutti gli accessori necessari per il corretto utilizzo in diagnostica.
- Il sistema deve essere fornito di strumentazione idonea per l'esecuzione dei controlli di qualità del DNA e dell' RNA durante le diverse fasi del flusso di lavoro NGS (estrazione, arricchimento del campione e costruzione delle librerie). Tali strumenti accessori devono consentire la quantificazione degli acidi nucleici (spettrofotometro e RT-PCR) e la valutazione della qualità degli acidi nucleici mediante analisi dell'elettroferogramma (elettroforesi capillare).

TEST RICHIESTI CON METODICA IN NGS PER ANNO:

Geni valutati nei pannelli a partire da sangue periferico	Numero pannelli (referti, quantità annuale)* **
Pannello*** carcinoma polmonare : NFE2L2, RARB, SOX2, ALK, EGFR, GRM8, MDM2, NOTCH1, RB1, STK11, APC, EPHA5, PIK3CA, ROS1, BAI3, ERBB4, KIT, MUC16, PIK3CG, RUNX1T1, BAP1, FBXW7, KMT2D, MYC, PKHD1, SMAD4, BRAF, FGFR1, KRAS, NF1, PTEN, SMARCA4, AKT1, CDKN2A, FGFR2, LRP1B, KDR, MET, PDGFRA, RET, TP53, ATM, ERBB2, KEAP1, MLH1.	100
Pannello*** carcinoma alla mammella :TP53, CFBF, ESR1, IRAK4, MYC, PPM1L, TRAF5,CDKN2A, EXT2, KMT2C, NEK2, PTGFR, ZBED4, ATM, EGFR, FBXO32, MAP2K4,ACVR1B, CDH1, EXOC2, ITCH, NCOR1, PTEN, WEE1, AKT1, RB1, BAP1, EP300, FGFR1, MAP3K1,PCGF2, RET, BRCA1, ERBB2, FGFR2, MDM2, PIK3CA, SEPT9, BRCA2, ERBB3, GATA3, MUC16, PIK3R1, PBRM1.	50
Pannello*** carcinoma colon rettali :CASP8, ERBB2, MAP7, MYO1B, SMAD2, CDC27, FBXW7, MIER3, NRAS, SMAD4, ATM, CTNNB1, FZD3, MLH1, PIK3CA, TCERG1, ATP6V0D2, DCC, GPC6, MSH2, PIK3R1, TCF7L2, BAX, DMD, KRAS, MSH3, PTPN12, TGFBR2, ACVR1B, BRAF, EP300, MAP2K4, MSH6, SLC9A9, TP53, AKT1, WBSCR17, APC.	50
Pannello*** carcinoma ovaio :PIK3CA, TP53, ARID1A, CCNE1, CUBN, KIT, MSH2, PIK3R1,BRAF, CDK12, EGFR, KRAS, NF1, PPP2R1A, BRCA1, CDKN2A, ERBB2, KREMEN,1 NRAS, PTEN, BRCA2, CSMD3, FAT3, MAS1L, PDGFRA, RB1, AKT1, CBLC, CTNNB1, GABRA6, MLH1, USP16.	50
Pannello*** genetico per la rilevazione di mutazioni determinate da sequenze disegnate <i>ex novo</i> per specifici aspetti clinici	200

* ogni pannello equivale ad un referto

**per ogni referto (definito come valutazione del pannello di geni) è compresa una procedura di estrazione, per cui per 450 pannelli esposti nella seguente tabella sono comprese 450 estrazioni che l'azienda aggiudicatrice deve fornire.

***ogni pannello è determinato dai geni più comunemente associati al tipo di carcinoma. Ogni pannello è dinamico poiché la lista dei geni non è definitiva, ma può cambiare in relazione alle evidenze della più recente letteratura per cui nuovi geni possono essere aggiunti e/o alcuni geni in lista possono essere eliminati. L'eliminazione e/o l'inclusione di geni da ogni pannello in corso di validità della gara aggiudicata non modifica il prezzo di ogni referto poiché rientra nell'aggiornamento tecnologico come definito nei paragrafi successivi.

Geni valutati nei pannelli a partire da campioni in FFPE o materiale citologico	Numero pannelli (referti, quantità annuale)* **
Pannello*** tumori alla mammella ACVR1B, CDH1, EXOC2, ITCH, NCOR1, PTEN, WEE1, AKT1, RB1, BAP1, EP300, FGFR1, MAP3K1, PCGF2, RET, BRCA1, ERBB2, FGFR2, MDM2, PIK3CA, SEPT9, BRCA2, ERBB3, GATA3, MUC16, PIK3R1, TP53, CFBF, ESR1, IRAK4, MYC, PPM1L, TRAF5, CDKN2A, EXT2, KMT2C, NEK2, PTGFR, ZBED4, ATM, EGFR, FBXO32, MAP2K4, PBRM1.	50
Pannello*** carcinoma tiroide (deve includere BRAF, V600E, KRAS codone 12/13, NRAS codone 61 HRAS codone 12/13/61, RET/PTC1, RET/PTC3)	50
Pannello*** carcinoma ovaio BRAF, CDK12, EGFR, KRAS, NF1, PPP2R1A, BRCA1, CDKN2A, ERBB2, KREMEN,1 NRAS, PTEN, BRCA2, CSMD3, FAT3, MAS1L, PDGFRA, RB1, AKT1, CBLC, CTNNB1, GABRA6, MLH1, PIK3CA, TP53, ARID1A, CCNE1, CUBN, KIT, MSH2, PIK3R1, USP16.	50
Pannello*** genetico per la rilevazione di mutazioni determinate da sequenze disegnate <i>ex novo</i> per specifici aspetti clinici	100

* ogni pannello equivale ad un referto

**per ogni referto (definito come valutazione del pannello di geni) è compresa una procedura di estrazione, per cui per i 250 pannelli esposti nella seguente tabella sono comprese 250 estrazioni che l'azienda aggiudicatrice deve fornire

***ogni pannello è determinato dai geni più comunemente associati al tipo di carcinoma. Ogni pannello è dinamico poiché la lista dei geni non è definitiva, ma può cambiare in relazione alle evidenze della più recente letteratura per cui nuovi geni possono essere aggiunti e/o alcuni geni in lista possono essere eliminati. L'eliminazione e/o l'inclusione di geni da ogni pannello in corso di validità della gara aggiudicata non modifica il prezzo di ogni referto poiché rientra nell'aggiornamento tecnologico come definito nei paragrafi successivi.

CRITERI DI VALUTAZIONE

	Caratteristica	Punteggio
1	La piattaforma di sequenziamento deve essere in grado di utilizzare e dispensare i reagenti necessari al suo funzionamento per singolo campione, da un minimo di 1 a max 48. Verrà premiata proporzionalmente l'azienda con il numero maggiore di opzioni.	Max5 proporzionale
2	Possibilità di caricamento dei campioni in modalità parallela o in continuo anche a corsa iniziata del sequenziatore	No =0 Si =10
3	Completa automazione delle fasi di estrazione degli acidi nucleici, della preparazione delle librerie, dell'amplificazione clonale per la preparazione automatica dei template per la gestione di librerie multiple e del sequenziamento con workflow continuo nonché dei controlli di qualità	No =0 Si =10
4	Collegamento alla LIS Ospedaliero dalla fase di estrazione al software di refertazione, con possibilità di diagnosi del sistema in modalità/controllo remoto	No =0 Si =5
5	Possibilità di personalizzare il report di diagnosi con farmaci oncologici indicati, riferimenti delle mutazioni riscontrate e refertate da bibliografia internazionale.	No =0 Si =
6	Disponibilità, compatibilità con la strumentazione fornita e caratteristiche tecniche di pannelli genici per applicazioni di interesse futuro – ricerca e analisi su DNA circolante.	No =0 Si =5
7	Analisi dei dati grezzi pre-ottimizzata e completamente automatizzata con visualizzazione dei dati integrata e intuitiva. Passaggio a VCF inferiore ai 20 minuti per permettere di caricare in continuità i file VCF per l'interpretazione.	No =0 Si =10
8	Software di interpretazione diagnostica dei risultati con link a referenze di pubblicazioni, studi clinici, bibliografia internazionale, verrà premiata proporzionalmente l'azienda con il numero maggiore di opzioni	Max 10 proporzionale
9	Tracciabilità del singolo campione lungo tutto il processo ngs attraverso un software dedicato e connesso alla rete lis, dalla fase di estrazione a quella dell'interpretazione del risultato	No =0 Si =5
	totale	Max 70

LOTTO 2: UN SISTEMA DI HIGH THROUGHPUT SCREENING CON TECNOLOGIA DI SEQUENZIAMENTO DI NUOVA GENERAZIONE (NGS) PER L'IDENTIFICAZIONE DI MUTAZIONI SOMATICHE IN NEOPLASIE EMATOLOGICHE, PER LE ESIGENZE DELL'U.O.C. SERVIZIO DI IMMUNOEMATOLOGIA - MEDICINA TRASFUSIONALE - LABORATORI DI EMATOLOGIA DELLA AUSL DI PESCARA (PRESIDI DI PESCARA - PENNE - POPOLI) .

La fornitura prevede un lotto unico comprendente:

- un sistema NGS (Next Generation Sequencing) con certificazione CE-IVD;
- un preparatore automatico in grado di gestire l'allestimento delle librerie;
- un bioanalizzatore in grado di determinare la qualità delle librerie allestite;
- reattivi, ovvero due pannelli di geni uno composto da 37 geni per le leucemie mieloidi acute ed uno di 26 geni per le leucemie linfoblasti che acute;
- materiale di consumo specifico inclusi i kit per il sequenziamento e per l'analisi delle librerie;
- software applicativo per analisi di sequenza per l'identificazione ed interpretazione dei risultati ottenuti.

Le caratteristiche sottostanti devono essere esplicitamente dichiarate e sono da ritenersi indispensabili ed essenziali **pena esclusione** dalla procedura.

TABELLA 1.	
Sequenziatore:	
1	Sequenziatore di nuova generazione (NGS) che sfrutta metodica "Sequencing by Synthesis" (SBS).
2	Il Sequenziatore deve essere marcato CE-IVD - Direttiva Europea 98/79/EC.
3	Il Sistema deve garantire la lettura base per base e il segnale di detection deve essere relativo a ciascuna singola base.
4	Il Sistema deve essere esente da sensibilità di tipo strutturale, come ad esempio regioni omopolimeriche.
5	Il Sistema deve essere completo di software per l'analisi dei dati di sequenza primaria e secondaria.
6	La Produttività/Processività: da un minimo di 500Mb fino a un massimo di 15 Gb per run.
7	Il sistema di arricchimento e preparazione di librerie per pannelli di geni deve essere basato su tecnologia multiplex PCR e cattura per sonde.
8	Massima lunghezza di sequenziamento supportata in Paired-ends Protocol: 600 coppie di basi ovvero 2x300bp.
9	Nessun intervento manuale da parte dell'operatore deve essere richiesto tra la generazione della prima e della seconda fase "lettura/sequenza".
10	Il sequenziatore non deve richiedere l'utilizzo di GAS (Argon, Azoto etc.) o di altre condizioni stringenti (es: acqua ultra-pura) da affiancare alla workstation.
11	Analisi primaria e secondaria del dato deve essere eseguita automaticamente ed autonomamente dallo strumento
Preparatore automatico:	
1	Sistema di dimensioni molto compatte
2	Dotato di blocco automatico durante il funzionamento dello strumento
3	Dotato di UV
4	Dotato di Tecnologia di dispensazione di precisione
5	Dotato di più linee di lavoro indipendenti
6	Sistema di movimentazione micropiastre all'interno del piano di lavoro dotato di sensore di presa.
7	Presenza di allarmi per comparsa di problemi durante l'aspirazione e dispensazione dei reagenti.
8	Software di gestione di immediata comprensione.
9	Manutenzione preventiva prima dell'uso.
Bioanalizzatore	
1	Sistema microfluidico compatto per eseguire elettroforesi di campioni di DNA, RNA e cDNA.
2	Capacità di determinare il DNA frammentato in un intervallo compreso tra i 50 e 1000 bp

3	Materiale necessario per l'analisi (Kit e Chip comprensivo di Ladder) per la quantizzazione di DNA ed RNA
4	Sistema di rivelamento ad alta sensibilità
REATTIVI	
1	Pronti all'uso
2	Reattivi per la diagnostica con marchio CE/IVD

ART. 7 PREVISIONE DEI CONSUMI

I biomarkers diagnostici e prognostici per la terapia delle neoplasie del sistema emopoietico sono elencati nella tabella seguente.

REATTIVI	N° campioni/anno	N° sedute mensili
Pannello mieloide : 37 geni - coverage minimo/teorico 500x ASXL1,ASXL2,BCOR,BCOR1,CALR,CBL,CSF3R,CSNK1A1,DNMT3A,ETNK1,ETV6 EZH2,FLT3TKD,GATA1,GATA2,IDH1,IDH2,JAK2,KIT,KRAS,MPL,MYC,NF1,NPM1, NRAS,PIGA,PTPN11,RAD21,RUNX1,SETBP1,SF3B1,SRSF2,STAG2,TET2,U2AF1,W T1,ZRSR2	500	2
Pannello linfoide: 26 geni - coverage minimo/teorico 500x ATM,BCL2,BIRC3,BRAF,BTK,CXCR4,EGR2,FBXW7,FOXO1,ID3,KLF2,MAP2K1,MY D88,NFKBIE,NOTCH1,NOTCH2,PHF6,PLCG2,POT1,SAMHD1,STAT3,STAT5B,TCF3 ,TP53,UBR5,XPO1	500	2
Materiale di consumo legato ai sistemi offerti	1000	2

CRITERI DI VALUTAZIONE

A) Caratteristiche tecniche preferenziali:

Punti max 70

Suddivisi in base ai criteri di seguito riportati

TABELLA 2			Max punteggio assegnabile
	CRITERIO	SUBCRITERI	
A	Strumento Sequenziatore NGS		
1	Lo strumento deve essere in grado di produrre almeno 10 Giga (miliardi) basi per corsa	Si coeff = 1 NO coeff = 0	6
2	Produttività con almeno 4 diverse scalabilità	Si coeff = 1 NO coeff = 0	6
3	Possibilità di settare a priori la lunghezza precisa delle "letture" che verranno generate, impostando semplicemente il software di gestione della corsa con il numero preciso di cicli desiderati	Si coeff = 1 NO coeff = 0	5
4	Amplificazione clonale delle librerie totalmente automatica all'interno del sequenziatore senza l'ausilio di intervento manuale o di un ulteriore preparatore	Si coeff = 1 NO coeff = 0	15
5	Accuratezza dello strumento \geq a Q30 (99,9%)	Si coeff = 1 NO coeff = 0	4
6	Sistema di rilevazione del segnale ottico	Si coeff = 1 NO coeff = 0	4
7	Reagenti di amplificazione per librerie e sequenziamento pronti all'uso	Si coeff = 1 NO coeff = 0	6
B	Strumento Preparatore automatico		
1	Possibilità di prelevare e dispensare utilizzando almeno 4 linee di lavoro in grado di operare sui 3 assi cartesiani(x,y,z) in modo totalmente indipendente	Si coeff = 1 NO coeff = 0	4

TABELLA 2			Max punteggio assegnabile
	CRITERIO	SUBCRITERI	
2	Possibilità di lavorare con tutte le tipologie di chimiche per le più svariate applicazioni NGS e non.	N° maggiore coeff =1 N° inferiore coeff = 0,25	4
3	Tipologia di prelievo e dispensazione senza liquidi di sistema	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
4	Range di volumi gestibili dai singoli canali da 1 a 1000 µl, in un'unica operazione di aspirazione e dispensazione.	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
5	Canali dotati di sensore di livello, preferibilmente di tipo pressometrico e capacitivo	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
6	Monitoraggio in tempo reale della pressione all'interno delle linee di lavoro	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
7	Chiusura totale	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
8	Assenza di manutenzione da parte dell'operatore sulla strumentazione	Si coeff = 1 NO coeff = 0	2
9	Possibilità di up-grade / implementazione del preparatore, sia nel numero di canali di pipettaggio che con eventuali accessori, con modalità "plug & play", per eventuali nuove e sopraggiunte esigenze del laboratorio	Si coeff = 1 NO coeff = 0	4
TOTALE			70

PER ENTRAMBI I LOTTI

MODALITA' DI FATTURAZIONE

ALTERNATIVA 1:

canoni di noleggio e assistenza
costo a pannello

ALTERNATIVA 2:

costo a referto/pannello: