

Procedura aperta per l'acquisizione *in service* di un sistema diagnostico completo per la determinazione di mutazioni geniche dei pazienti oncologici, per l'identificazione di mutazioni correlate a patologie neurologiche e cardiovascolari per le esigenze operative delle U.O.C. Laboratorio Analisi Cliniche e di altre eventuali esigenze aziendali.

Introduzione

Con l'introduzione delle terapie *target* per i malati oncologici la rilevazione delle alterazioni molecolari dei geni *target* è diventata essenziale per la valutazione dell'efficacia delle cure.

È stato riportato in letteratura, per esempio, che per il management del trattamento con chemioterapici del carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) può essere indispensabile ottenere il profilo genetico del paziente per selezionare terapie mirate e per lo *switch* della terapia inefficace.

Il test *gold standard* per rilevare la resistenza ai chemioterapici rimane il test di **Sequenziamento** che ad oggi può essere effettuato sia direttamente su tessuto prelevato in biopsia, e nei casi in cui non sia reperibile il materiale biotico, su sangue periferico (biopsia liquida) dove può essere presente il DNA circolante rilasciato dalle cellule neoplastiche. La biopsia liquida è una procedura che può dare informazioni dirimenti sulla diagnosi, la prognosi e la predittività al trattamento, grazie ad un solo prelievo di sangue periferico e successiva analisi tramite "Next Generation Sequencing" (NGS).

I test potrebbero essere utilizzati di routine in pazienti affetti da diversi tipi di neoplasia come il carcinoma polmonare, il melanoma, il tumore al seno e il carcinoma colon-rettale. Al momento, gli oncologi si basano soprattutto sulla diagnostica per immagini mediante tomografia computerizzata (TC) e la tomografia a emissione di positroni con fluorodesossi-glucosio (PET), entrambe tecniche dispendiose in termini di costi e di tempo, ed in genere informative 3-6 mesi dopo l'avvio delle cure. Pertanto, sia il sequenziamento eseguito a partire da tessuto, sia a partire da sangue periferico permetterebbero di personalizzare le terapie guidando l'avvio di linee *tailored*, evitando trattamenti inefficaci, migliorando la gestione degli aspetti economici di prescrizioni fuorvianti e migliorando le probabilità di successo terapeutico.

Oltre le applicazioni largamente utilizzate nel settore oncologico ad oggi le applicazioni di sequenziamento sono utilizzate per la diagnosi delle Malattie cardiovascolari, in particolare per le cardiomiopatie, e per l'identificazione dei fattori genetici associati alle malattie neurologiche.

Presentazione:

Il presente capitolato tecnico ha per 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 (mutazioni somatiche e germinali dei geni coinvolti nei tumori della mammella, tumori colon rettali, polmone e ovaio); per l'identificazione delle mutazioni associate alle malattie cardiovascolari ed neurologiche, dimensionato secondo i volumi di attività per le U.O.C. Laboratorio Analisi Cliniche e eventuali altre esigenze della ASL, qualora si dovessero presentare.

La strumentazione di base deve essere costituita da:

1. Un estrattore automatico per estrazioni di DNA/RNA da campioni per diverse matrici biologiche;
2. Un sistema di sequenziamento di ultima generazione non usato o ricondizionato
3. Tutti i reagenti e consumabili necessari per il funzionamento delle strumentazioni (sequenziatore ed estrattore)
4. Una Centrifuga
5. Un Termociclatore

6. Sistema di analisi cloud: possibilità di effettuare analisi applicazione specifico in ambito oncologico mediante infrastruttura CLOUD
7. Fornitura di UPS per il funzionamento della piattaforma

Caratteristiche minime del Sistema a pena di esclusione:

- I pannelli molecolari devono includere le mutazioni associate a terapie farmacologiche approvate dalle linee guida nazionali ed internazionali; il report di diagnosi deve consentire modifiche, se richiesto dall'utilizzatore.
- Il sistema deve poter valutare più geni contemporaneamente per lo stesso paziente, in modo da ottenere un pannello molecolare più ampio possibile per i seguenti tumori solidi principali (Colon, Mammella, Polmone, e Ovaie) da campioni da Biopsia Liquida.
- Il sistema deve essere in grado di identificare tutti gli SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) coinvolti in una diagnosi tumorale: **SNVs** (Single Nucleotide Variants), **INDELS** (Insertions and Deletions), **CNVs** (Copy Number Variants) e **Fusions**.
- Il sistema deve essere fornito completo di tutti gli accessori necessari per il corretto utilizzo in diagnostica.
- Addestramento continuo del personale fino a renderlo autonomo.

Base d'asta di € 450.000,00 per anno IVA esclusa.

La ditta aggiudicatrice dovrà provvedere gratuitamente all'aggiornamento tecnologico delle strumentazioni e dei software. Per aggiornamento tecnologico si intende anche l'aggiornamento della lista dei geni che costituiscono ogni pannello, desunto dalle più recenti pubblicazioni di letteratura.

La ditta deve fornire a propria cura e spese tutti i documenti relativi, anche non tecnici, relativi al funzionamento della strumentazione ed ai sistemi, compresi eventuali aggiornamenti.

Devono inoltre essere previsti nella fornitura:

- Possibilità di interfacciamento della strumentazione con il LIS di laboratorio
- Trasporto, installazione e collaudo.
- Assistenza tecnica di tipo full-risk comprendente la manutenzione ordinaria e straordinaria, compresa la fornitura di parti di ricambio dello strumento, con interventi entro le quarantotto ore e garanzia minima di supporto telefonico.
- Possibilità di formazione continua del personale da effettuarsi a totale onere della Ditta fornitrice.

TEST RICHIESTI CON METODICA IN NGS PER ANNO:

Esami	n. test
Carcinoma del polmone, almeno le seguenti mutazioni: NFE2L2, RARB, SOX2, ALK, EGFR, BRAF, ROS1, GRM8, MDM2, NOTCH1, RB1, STK11, APC, EPHA5, PIK3CA, BAI3, ERBB4, KIT, MUC16, PIK3CG, RET, TP53, ATM, ERBB2, KEAP1, MLH1.	100
Carcinoma della mammella, almeno le seguenti mutazioni: BRCA1, BRCA2, TP53, Palb2, BARD1, CHEK2, PTEN, ATM, BRIP1, STK11, RAD51C, RAD51D, RECQL.	40
Pannello BRCA1, BRCA2, CDH1, Palb2, PTEN, TP53	10
Carcinoma del colon-retto, almeno le seguenti mutazioni: 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, WBSR17, APC.	60
Carcinoma ovaio, almeno le seguenti mutazioni: 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
Diagnosi genetica delle malattie cardiovascolari	
Cardiopatía ipertrofica	50
Cardiomiopatia dilatativa	50
Cardiomiopatia restrittiva	50
Displasia/cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro	50
Displasia/cardiomiopatia aritmogena del ventricolo sinistro	50
Rilevazione di geni associati alle malattie neurologiche	
Alzheimer (es. PSAN1, PSEN2, APP, ABCA7, SORL1)	30
Epilessia (es. SCN1A, SLC6A1, KNT1, KCNQ2)	20
Parkinson (es. PNK1, PARK2)	20
Sclerosi Multipla (es. IL7R, CYP27B1)	20
totale	600

Valutazione tecnica qualitativa

	Caratteristica	Punteggio
1	Sequenziatore con metodologia di sequenziamento mediante sintesi	No =0 Si =10
2	Fasi di Amplificazione clonale e sequenziamento automatizzate ed integrate all'interno del singolo strumento al fine di diminuire il numero di interventi degli operatori nel flusso di lavoro	No =0 Si =15
3	Elevata produttività almeno >100 Giga Basi per singola corsa (<i>run</i>)	101-115 =5 >115 =10
4	Possibilità di sequenziamento a partire da entrambe le estremità dei filamenti (paired end)	No=0 Si =10
5	Produttività in termini di Milioni di frammenti sequenziati (<i>reads</i>) per singola corsa (<i>run</i>)	200-300M =5 >300M=10
6	Possibilità di impostare prima della corsa la lunghezza precisa delle sequenze da generare	No =0 Si =5
7	Nessuna Necessità di GAS e/o acqua ultra-pura associati all'utilizzo dello strumento	No =0 Si =5
8	Fornitura dei reagenti per la preparazione delle library pronti per l'uso	No =0 Si =5
9	Possibilità di progettare pannelli customizzati per diverse patologie oltre che per quelle oncologiche	No = 0 Si = 5
10	Possibilità di utilizzare un controllo per i processi di estrazione e amplificazione.	No =0 Si =5
	Totale	Max 80