

## CAPITOLATO TECNICO

### GARA EUROPEA A PROCEDURA APERTA TELEMATICA PER LA FORNITURA IN SOMMINISTRAZIONE BIENNALE DI KIT DI DIAGNOSTICA MOLECOLARE PER LE ESIGENZE DEL LABORATORIO DI EMATOLOGIA ONCOLOGICA DELL'ISTITUTO

#### LOTTO N. 1 (UNICO):

Quantità Totali Richieste TEST/CFZ	Tipologia	Caratteristiche tecniche minime
96 test	Kit per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie mieloproliferative	<p><b>Caratteristiche del pannello-Geni target:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ABL1, 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</li> <li>• Marcatura CE-IVD su strumentazione MiseqDx Illumina (N. Inv. 5608) di proprietà del Laboratorio di Ematologia molecolare</li> </ul> <p><b>Tecnologia del kit:</b> Kit disegnati secondo tecnologia Hybrid Capture</p>
32 test	Kit per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie mieloproliferative e per identificare presenza/assenza di almeno 100 trascritti di fusione	<p><b>Caratteristiche del pannello-Geni target:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ABL1, 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 e almeno 100 trascritti di fusione</li> <li>• Compatibilità su strumentazione MiseqDx Illumina (N. Inv. 5608) di proprietà del Laboratorio di Ematologia molecolare</li> </ul> <p><b>Tecnologia del kit:</b> Kit disegnati secondo tecnologia Hybrid Capture almeno per processare il DNA</p>
416 test	Kit per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie linfoproliferative a cellule B	<p><b>Caratteristiche del pannello-Geni target:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ARID1A, B2M, BCL2, CCND3, CD58, CHD2, CDKN2A, CDKN2B, CIITA, CXCR4, EP300, FOXO1, GNA13, ID3, IRF4, MAL, MEF2B, KMT2A, KMT2D, MYC, MYD88, NFKBIE, PAX5, PIM1, POT1, PRDM1, PTPN1, REL, SOCS1, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53, ATM, BCL6, BIRC3, BRAF, BTK, CARD11, CCND1, CD79A, CD79B, CREBBP, EZH2, FBXW7, KRAS, NOTCH1, NOTCH2, NRAS, PLCG2, PTEN, SF3B1, STAT6, TCF3, XPO1</li> <li>• Compatibilità su strumentazione MiseqDx Illumina (N. Inv. 5608) di proprietà del Laboratorio di Ematologia molecolare</li> </ul> <p><b>Tecnologia del kit:</b></p>

		Kit disegnati secondo tecnologia Hybrid Capture
<b>144 test</b>	Kit custom per malattie linfoproliferative a cellule T	<b>Kit custom</b> disegnato secondo le necessità del laboratorio e compatibile con piattaforma MiseqDx Illumina di proprietà (N. Inv. 5608) che dovrà avere almeno il seguente Contenuto genico: CD28, FYN, PLCG1, TET2, IDH2, DNMT3, STAT3, STAT5B, (N642H), JAK1, JAK3, PRKCB, CARD11, TNFRSF1B, RHOA, (G17V), DDX3X, CCR4
<b>32 test</b>	Kit custom	<b>Kit custom</b> disegnato secondo le necessità del laboratorio e compatibile con piattaforma MiseqDx Illumina (N. Inv. 5608) di proprietà Laboratorio di Ematologia molecolare
<b>1800 test</b>	Estrazioni	<b>N 288</b> Estrazioni a partire da tessuto fresco (DNA) <b>N 72</b> estrazioni a partire da tessuto FFPE (DNA) <b>N 960</b> Estrazioni a partire da sangue intero (DNA) <b>N 480</b> Estrazioni a partire da sangue intero (RNA)
<b>216 CFZ</b>	Cartucce di sequenziamento	<b>Cartucce di sequenziamento</b> compatibili con strumentazione MiseqDx Illumina (N. Inv. 5608) di proprietà del laboratorio necessarie per il sequenziamento di: <b>N. 24 cartucce per 96 test</b> per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie mieloproliferative <b>N. 8 cartucce per 32 test</b> per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie mieloproliferative e per identificare presenza/assenza di almeno 100 trascritti di fusione <b>N. 104 cartucce per 416 test</b> per rilevare le varianti di geni coinvolti in malattie linfoproliferative B <b>N. 36 cartucce per 144 test</b> Kit custom per malattie linfoproliferative a cellule T <b>N. 8 cartucce per 32 test</b> kit custom <b>N. 24 cartucce per test NGS di clonalità B e T</b> <b>N. 12 cartucce necessarie per l'ipermutazione somatica</b>
<b>3000 test</b>	Reagenti per controllo qualità librerie e acidi nucleici	<b>Reagenti compatibili con strumento LabChip GX TOUCH24 Perkin Elmer</b> (N. INV. 5604) di proprietà del Laboratorio di Ematologia molecolare

Si richiede, che, Le Ditte, pena l'esclusione, dovranno garantire che:

- 1. Tutti i dati grezzi di sequenziamento devono essere analizzati con una piattaforma bioinformatica che possieda le seguenti caratteristiche:**
  - Interpretazione di tutte le varianti conosciute e non, analisi del copy number variations (CNV) e/o analisi dell'amplificazione genica partendo dallo stesso dato grezzo di sequenziamento NGS;
  - Informazioni riguardanti possibili trattamenti terapeutici e trial clinici disponibili.
- 2. La ditta proprietaria della piattaforma bioinformatica dovrà possedere le seguenti caratteristiche:**

- Garantire la protezione dei dati dei pazienti attraverso l'utilizzo di data center sicuri, certificati ISO 27001 e la criptazione locale dei dati conforme alla nuova normativa europea (GDPR- Regolamento UE 2016/679), oltre a possedere certificazione ISO13485;
- Consentire un programma di validazione per la costruzione della pipeline automatica di analisi dei dati grezzi di sequenziamento e rilascio di un report ufficiale che attesti le performance delle corse di sequenziamento effettuate dal laboratorio su campioni di routine diagnostica per kit custom disegnati secondo le necessità del laboratorio.

**3. Dovranno essere forniti tutti i consumabili o reagenti accessori, necessari alla preparazione delle librerie di sequenziamento;**

**4. Tutti i prodotti dovranno essere forniti come lotto unico.**

L'impegno di spesa presunto del presente LOTTO N.1 è di circa **€ 500.000,00 (IVA esclusa)**.

## **LOTTO N. 2 (UNICO):**

<b>Descrizione</b>	<b>Confezione unitaria</b>	<b>Quantità Totali Richieste (CFZ)</b>
Pannello ipermutazione somatica-IGHV per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 x 105 test: 5 saggi da 21 campioni	3 x 105 test
Pannello IGH FR1/2/3 per MiSeqDx Illumina	1 x 105 test: 5 saggi da 21 campioni	4 x 105 test
Pannello IGK per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 x 105 test: 5 saggi da 21 campioni	1 x 105 test
Pannello TCRB per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 x 105 test: 5 saggi da 21 campioni	2 x 105 test
Pannello TCRG per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 x 105 test: 5 saggi da 21 campioni	2 x 105 test
Software di analisi per Diagnosi per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 software	1 software
Software di analisi per Malattia Minima Residua per piattaforma MiSeqDx Illumina	1 software	1 software
Taq DNA Polimerasi (hot start polimerasi) 1000 U, 5U/μl	1 x 200 μL	3 x 200 μL
Kit per la quantificazione delle librerie (Universal qPCR Kit) per piattaforme di sequenziamento Illumina	Ogni kit è costituito da: <b>1.</b> KAPA SYBR® FAST Universal qPCR Kit; <b>2.</b> 1 x 1 ml Illumina Primer Premix (10X);	10

	3.6 x 80 µl Illumina DNA Standards	
--	---------------------------------------	--

I prodotti richiesti devono presentare le seguenti caratteristiche minime:

**1. Riarrangiamenti catene pesanti immunoglobuline (IGH) e Ipermutazione somatica:**

- Il sistema deve permettere la valutazione, in seduta contemporanea e nel minor numero di reazioni possibili (una reazione multiplex), di tutti i possibili riarrangiamenti delle catene pesanti dei geni delle immunoglobuline (IGH: FR1, FR2 e FR3) e di eventuali mutazioni responsabili della ipermutazione somatica (SHM) dando una misura della loro entità;
- Deve fornire, oltre all'informazione riguardante la presenza o meno di clonalità dei geni delle IGH dei linfociti B, la possibilità di identificare la sequenza di DNA specifica per ogni riarrangiamento genico clonale in modo da poter monitorare la presenza di cloni, anche molto ridotti, nei campioni successivi;
- E' necessario avere controlli positivi di clonalità e negativi inclusi nel kit;
- Il sistema deve permettere la costruzione di librerie di frammenti di DNA con metodica basata su PCR (senza necessità di frammentazione del DNA genomico e centrifugazione) e includere l'indexing in modo che queste possano essere sequenziate nella stessa reazione (pool di campioni);
- Possibilità di combinare l'analisi di tutti i marcatori di clonalità in una sola run di sequenziamento;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di reagenti per la quantizzazione delle librerie;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di una Taq validata;
- Il sistema deve essere compatibile con sequenziamento di nuova generazione (NGS) su piattaforma Illumina MiSeqDx;
- Software di diagnosi in grado di generare grafici e tabelle descrittive dei riarrangiamenti clonali identificati;
- Possibilità di utilizzare gli stessi kit di determinazione della clonalità anche per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR)
- Possibilità di disporre di ulteriore software "stand-alone" per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR);
- Il sistema ed il software devono possedere certificazione CE-IVD con specifica indicazione per uso diagnostico.

**2. Riarrangiamenti catene leggere immunoglobuline (IGK)**

- Il sistema deve permettere la valutazione in seduta contemporanea e nel minor numero di reazioni possibili (1 reazione multiplex) di tutti i possibili riarrangiamenti delle catene leggere dei geni delle immunoglobuline (IGK, in particolare dei riarrangiamenti Vk-Jk, Vk-Kde e INTR-Kde) per lo studio della clonalità nei linfociti B; Deve fornire, oltre all'informazione riguardante la presenza o meno di clonalità delle IGK, la possibilità di

identificare la sequenza di DNA specifica per ogni riarrangiamento genico clonale in modo da poter monitorare la presenza di cloni, anche molto ridotti, nei campioni successivi;

- E' necessario avere controlli positivi di clonalità e negativi inclusi nel kit;
- Il sistema deve permettere la costruzione di librerie di frammenti di DNA con metodica basata su PCR (senza necessità di frammentazione del DNA genomico e centrifugazione) e includere l'indexing in modo che queste possano essere sequenziate nella stessa reazione (pool di campioni);
- Possibilità di combinare l'analisi di tutti i marcatori di clonalità in una sola run di sequenziamento;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di reagenti per la quantizzazione delle librerie;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di una Taq validata;
- Il sistema deve essere compatibile con sequenziamento di nuova generazione (NGS) su piattaforma Illumina MiSeqDx;
- Software di diagnosi in grado di generare grafici e tabelle descrittive dei riarrangiamenti clonali identificati;
- Possibilità di utilizzare gli stessi kit di determinazione della clonalità anche per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR)
- Possibilità di disporre di ulteriore software "stand-alone" per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR);
- Il sistema ed il software devono possedere CE-IVD con specifica indicazione per uso diagnostico.

### **3. Riarrangiamenti recettore BETA e GAMMA DEI LINFOCITI T**

- Il sistema deve permettere la valutazione in seduta contemporanea e nel minor numero di reazioni possibili (1 reazione multiplex) di tutti i possibili riarrangiamenti del recettore beta (TCR-B) e del recettore gamma (TCR-G) dei linfociti T per lo studio della clonalità nei linfociti T;
- Esso deve fornire, oltre all'informazione riguardante la presenza o meno di clonalità dei geni del TCR-B e TCR-G dei linfociti T, la possibilità di identificare la sequenza di DNA specifica per ogni riarrangiamento genico clonale in modo da poter monitorare la presenza di cloni, anche molto ridotti, nei campioni successivi.
- E' necessario avere controlli positivi di clonalità e negativi inclusi nel kit;
- Il sistema deve permettere la costruzione di librerie di frammenti di DNA con metodica basata su PCR (senza necessità di frammentazione del DNA genomico e centrifugazione) e includere l'indexing in modo che queste possano essere sequenziate nella stessa reazione (pool di campioni);
- Possibilità di combinare l'analisi di tutti i marcatori di clonalità in una sola run di sequenziamento;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di reagenti per la quantizzazione delle librerie;
- Deve essere inclusa anche la fornitura di una Taq validata;

- Il sistema deve essere compatibile con sequenziamento di nuova generazione (NGS) su piattaforma Illumina MiSeqDx;
- Software di diagnosi in grado di generare grafici e tabelle descrittive dei riarrangiamenti clonali identificati;
- Possibilità di utilizzare gli stessi kit di determinazione della clonalità anche per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR)
- Possibilità di disporre di ulteriore software "stand-alone" per l'analisi dei follow-up e la valutazione della Malattia Minima Residua (MMR);
- Il sistema ed il software devono possedere certificazione CE-IVD con specifica indicazione per uso diagnostico.

**4. Tutti i prodotti dovranno essere forniti come lotto unico.**

L'impegno di spesa presunto del presente LOTTO N. 2 è di circa **€ 155.000,00 (IVA esclusa)**.

Si evidenzia che:

1. Tali prodotti al momento non rientrano nelle procedure di gare centralizzate So.Re.Sa;
2. Tali prodotti non sono presenti su MEPA;
3. I prodotti rientrano nella programmazione del biennio 2019/2020 già approvata dall'Istituto come CND W0106;
4. Non vi sono prodotti equivalenti nell'ambito di quelli attualmente contrattualizzati dall'Istituto.