



UOC DI ANATOMIA, ISTOLOGIA PATOLOGICA E CITODIAGNOSTICA

Direttore: Prof. Edoardo Pescarmona

Capitolato Gara per la Fornitura di una piattaforma automatizzata per il sequenziamento NGS (Next Generation Sequencing) ad alta produttività per la caratterizzazione molecolare di tessuti paraffinati, freschi e campioni citologici di neoplasie solide. Sistema Dedicato alla UOC di Anatomia Istologia Patologica e Citodiagnostica/IRE. Lotto unico indivisibile: Noleggio per una piattaforma integrata automatica per l'analisi di pazienti di interesse, mediante approcci di sequenziamento NGS.

Entità dell'appalto: spesa annuale prevista (IVA esclusa)/base d'asta per lotto 1 pari a 290.000,00 Euro (IVA esclusa)

Durata dell'appalto: 12 mesi (1 anno) con possibilità di rinnovo di ulteriori 12 mesi

Modalità per l'attribuzione del punteggio: 70 punti alla qualità e 30 punti al prezzo

Attualmente la pianificazione di terapie con farmaci a bersaglio molecolare in pazienti affetti da differenti neoplasie solide non può prescindere dallo screening mutazionale mediante NGS di una serie di geni coinvolti nella progressione tumorale. Questa necessità si amplierà ulteriormente nell'immediato futuro per far fronte alla crescente richiesta di analisi genomiche a maggiore complessità e profondità di sequenziamento. Ciò è dovuto alla crescente disponibilità di nuovi farmaci autorizzati per uso clinico o in fase avanzata di sperimentazione.

In questo contesto l'Anatomia Patologica ha la necessità di mantenersi all'avanguardia tecnologica per poter garantire ai suoi pazienti l'accesso a queste terapie personalizzate innovative.

Attualmente l'Anatomia Patologica dispone, a noleggio, di una piattaforma NGS di prima generazione, dei software di analisi delle varianti rilevate, di uno strumento per la preparazione automatica delle librerie/templati e dell'expertise necessario per effettuare le analisi molecolari sopra descritte. Tuttavia, la crescente disponibilità di farmaci biologici, già autorizzati dall'AIFA, e la validazione, in trial clinici, di numerose molecole che entreranno a breve nella pratica clinica, stanno determinando un notevole incremento della richiesta da parte degli oncologi di test molecolari necessari per la selezione di pazienti da avviare a terapie a bersaglio molecolare, questo anche a seguito della recente istituzione presso il nostro IRCCS di un dedicato Molecular Tumor Board. Tali richieste afferiscono alla UOC di Anatomia Patologica/IRE che, in tale contesto, deve far fronte a un numero sempre crescente di prestazioni biomolecolari. Pertanto, si avverte l'esigenza di noleggiare una piattaforma NGS di ultima generazione e un ulteriore strumento per la preparazione automatica di librerie e templati al fine di processare contemporaneamente un numero elevato di campioni in tempi più brevi, e con un rapporto costo/beneficio ottimale rispetto alla metodica attualmente in uso presso la UOC di Anatomia Patologica/IRE. L'introduzione della piattaforma richiesta e di due

preparatori automatici di librerie e templati permetterà quindi l'immediata esecuzione dei test molecolari e l'integrazione del nuovo sistema nella diagnostica molecolare di routine. Inoltre, la possibilità di applicare un unico workflow di analisi completamente automatizzato sia per la routine diagnostica che per la ricerca clinica ci permetterà di abbattere ulteriormente i costi legati ai tempi di analisi e al personale dedicato.

L'alta performance di sequenziamento associata ad una maggiore scalabilità, ci permetterà di operare con maggiore rapidità nella diagnostica molecolare di routine, aumentandone anche l'efficacia grazie alla possibilità di identificare con maggiore sensibilità mutazioni a bassa frequenza allelica predittive di risposta e/o resistenza a farmaci a bersaglio molecolare. L'utilizzo del nuovo sequenziatore consentirà di effettuare analisi di "targeted/whole exome sequencing" per l'implementazione di terapie personalizzate e per identificare i pazienti da inserire in nuovi protocolli terapeutici basati sull'utilizzo di farmaci sperimentali diretti contro oncoproteine o farmaci immunologici

Oggetto: fornitura in service di un sistema di sequenziamento NGS comprendente:

- Un sequenziatore Next Generation Sequencing ad alta processività e ad alta sensibilità.
- Un preparatore automatico che su medesima piattaforma garantisca preparazione della libreria di ampliconi, del template e caricamento del supporto di sequenziamento.
- Un preparatore automatico di back up che garantisca le medesime caratteristiche del precedente preparatore.
- Reagenti per la produzione di librerie a DNA o RNA a partire da tessuti FFPE o freschi e da campioni citologici, e materiali di consumo necessari per l'esecuzione fino a 850 test/anno.

La strumentazione richiesta dovrà avere le seguenti caratteristiche minime (pena l'esclusione):

- **Il sequenziatore NGS deve:**
 - essere in grado di generare letture in "single-end" fino a 600bp di lunghezza;
 - essere in grado di completare una corsa da 4/6 milioni di reads con letture di 200bp e relativa analisi in meno di 4h
 - poter alloggiare diversi supporti di corsa in grado di sviluppare reads da 200bp pari ad un minimo di 30 Megabasi/giorno fino ad un massimo di 20 Gigabasi/ giorno di informazione;
- **I preparatore automatici devono essere** in grado di eseguire senza intervento umano tutto il flusso di operazioni necessarie a:
 - preparare librerie genomiche di ampliconi
 - preparare il template;
 - caricare i supporti di corsa;

I consumabili richiesti per la preparazione di librerie genomiche dovranno avere le seguenti caratteristiche minime (pena l'esclusione) :

- Permettere la preparazione delle librerie NGS, mediante multiplex PCR, a partire da ≤ 10 ng di DNA/RNA per paziente sia da materiale fresco che FFPE, e da campioni citologici;
- Pannelli per analisi contestuale di DNA/RNA (160 test) in grado di identificare, contestualmente, le varianti somatiche umane almeno dei seguenti geni: EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, ALK, ROS1, MET, RET, NTRK1/2/3;
- Pannelli per analisi di DNA (30 test) in grado di identificare le varianti somatiche umane almeno dei seguenti geni: APC, ARID1A, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, POLE, PTEN, SMAD4, SOX9, TP53
- Pannelli per analisi di DNA (30 test) in grado di identificare le varianti somatiche umane almeno dei seguenti geni: GNA11, GNAQ, NF1, TERT, RB1, HRAS, CCND1, CDC4

- Pannelli per analisi DNA (450 test) debbono identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti somatiche umane almeno dei seguenti geni EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, KIT, PDGFRA, IDH1, IDH2;
- Pannelli per analisi DNA (160 test) debbono identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti somatiche umane dei principali geni associati a patologie neoplastiche quali:
- hotspot deve prevedere anche l'analisi delle relative CNVs
- Pannello per analisi contestuale di DNA/RNA (20 test) per una caratterizzazione completa (numero di geni compresi nel pannello >500) di casi selezionati al fine di evidenziare meccanismi di resistenza a terapie target e per la selezione di pazienti da avviare a immunoterapia secondo linee guida AIOM.

Assistenza tecnica

Tutto il sistema di piattaforma genomica deve prevedere supporto scientifico e assistenza tecnica certificata con base a Roma (pena l'esclusione).

Il servizio di assistenza tecnica e manutenzione ordinaria e straordinaria deve essere garantito per tutta la durata della fornitura, sia con interventi in loco, sia con contatto telefonico

Caratteristiche preferenziali soggette a punteggio

Strumentazione 47 punti:

1. Preparatore Automatico: possibilità di preparare sullo stesso strumento una libreria di ampliconi;

Sì / No

Relazionare 7

2. Preparatore Automatico: possibilità di effettuare tutti i passaggi necessari per la creazione dei template e il caricamento di almeno N°1 supporto di corsa;

Sì / No

Relazionare 7

3. Preparatore Automatico: disponibilità di un sistema decontaminante a raggi UV e di un sistema a flussi laminari di aria al fine di evitare contaminazioni esterne;

Sì / No

Relazionare 4

4. Sistema NGS: essere in grado di completare una corsa da 4/6 milioni di reads con letture di 200bp e relativa analisi in meno di 4h; tale requisito è indispensabile per rispondere alle esigenze cliniche

Sì / No

Relazionare 7

5. Sistema NGS: disponibilità preferenziale di una tecnologia di sequenziamento basata su semiconduttori con rivelazione a variazione di pH

Sì / No

Relazionare 7

6. Sistema NGS poter alloggiare diversi supporti di corsa in grado di sviluppare reads da 200bp pari ad un minimo di 30 Megabasi/giorno fino ad un massimo di 20 Gigabasi/ giorno di informazione;

Sì / No

Relazionare 7

7. Server Integrato alla piattaforma capacità del disco rigido di almeno 10TB e contestuale capacità di effettuare analisi primaria e secondaria;

Sì / No

Relazionare 2

8. **Sistema di analisi cloud:** possibilità di effettuare analisi applicazione specifico in ambito oncologico mediante infrastruttura **CLOUD** regolata da accessi multi utente

Sì / No

Relazionare 2

9. **Richiesta di un software** di prescrizione che permetta di produrre una reportistica delle mutazioni di interesse clinico in grado di correlare con farmaci e terapie secondo le linee guida US-FDA, US-NCCN, ESMO, EMA; ed inoltre sia in grado di identificare per le mutazioni identificate la presenza di clinical trial attivi a livello globale. Si prega di indicare la frequenza degli aggiornamenti e la possibilità di supportare e aggiornare hardware e software di interesse.

Sì / No

Relazionare 4

Reagenti 18 punti

○ Pannelli per analisi contestuale di DNA/RNA (160 test): Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie NGS, mediante multiplex PCR per l'identificazione delle varianti somatiche umane contenute in geni d'interesse; si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello evidenziando: Hot Spot, CNV e fusioni e se sia compatibile con il Preparatore Automatico menzionato nella sezione precedente

Sì / No

Relazionare 5

○ Pannelli per analisi di DNA (60 test): Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie NGS, mediante multiplex PCR per l'identificazione delle varianti somatiche umane contenute in geni d'interesse; si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello evidenziando: Hot Spot, CDS e se sia compatibile con il Preparatore Automatico menzionato nella sezione precedente e che permetta, in caso di necessità, il medesimo flusso in modalità "manuale".

Sì / No

Relazionare 4

○ Pannelli per analisi DNA (450 test): Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie NGS, mediante multiplex PCR per l'identificazione delle varianti somatiche umane contenute in geni d'interesse; si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello evidenziando quali Hot Spot e test è in grado di riconoscere e se sia compatibile con il Preparatore Automatico menzionato nella sezione precedente e che permetta, in caso di necessità, il medesimo flusso in modalità "manuale".

○ Sì / No

Relazionare 4

○ Pannelli per analisi di DNA (160 test): Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie NGS, mediante multiplex PCR per l'identificazione delle varianti somatiche umane contenute in geni d'interesse; si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello evidenziando: Hot Spot e CNV e se sia compatibile con il Preparatore Automatico menzionato nella sezione precedente

Sì / No

Relazionare 2

○ Pannello per analisi contestuale di DNA/RNA (20 test) per una caratterizzazione completa (numero di geni compresi nel pannello >500) di casi selezionati al fine di evidenziare meccanismi

di resistenza a terapie target e per la selezione di pazienti da avviare a immunoterapia secondo linee guida AIOM. Il pannello deve prevedere l'analisi contestuale di MSI (instabilità microsatellitare) e TMB (carico mutazionale del tumore).

- Sì / No
- Relazionare 2

- Possibilità di garantire un sistema di disegno custom di pannelli NGS ad alta efficienza a partire da 1 ng di DNA/RNA per paziente sia di materiale fresco che FFPE, sia di campioni citologici; se sia compatibile con il Preparatore Automatico menzionato nella sezione precedente.
Sì / No
Relazionare 1

Assistenza 5 punti

1. Assistenza tecnica e Supporto scientifico certificata su Roma Sì / No

Relazionare **1**

2. *Hot line* e Possibilità assistenza in remoto Sì / No

Relazionare **1**

3. Presenza sul territorio Nazionale di un laboratorio aziendale dedicato al NGS in cui effettuare risoluzione di problemi e corsi di aggiornamento addizionali Sì / No

Relazionare **3**

Roma 15 Settembre 2020

Prof. Edoardo Pescarmona

