



## UOC DI ANATOMIA, ISTOLOGIA PATOLOGICA E CITODIAGNOSTICA

Direttore: Prof. Edoardo Pescarmona

**Avv. Gianluca Moretti**  
Direttore UOC ABS

**OGGETTO : Capitolato Gara per la Fornitura di una piattaforma automatizzata per il sequenziamento NGS (Next Generation Sequencing) ad alta produttività e sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici a completamento del workflow di analisi. Strumentazione utile per la caratterizzazione molecolare di tessuti paraffinati, freschi e campioni citologici di neoplasie polmonari. Sistema Dedicato alla UOC di Anatomia Istologia Patologica e Citodiagnostica/IRE. Lotto unico indivisibile: Noleggio per una piattaforma integrata automatica e un sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici dedicati all'analisi di pazienti di interesse**

**Entità dell'appalto: spesa annuale prevista (IVA esclusa)/base d'asta per lotto 1 pari a 380.000,00 Euro (IVA esclusa)**

**Durata dell'appalto: 36 mesi (3 anni) con possibilità di rinnovo di ulteriori 24 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 neoplasie polmonari 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. Inoltre i pazienti affetti da neoplasie polmonari in uno stadio avanzato necessitano di un trattamento farmacologico immediato da prescrivere dopo la diagnosi istopatologica.

In questo contesto la UOC di Anatomia Patologica IRE ha la necessità di mantenersi all'avanguardia tecnologica per poter garantire una riduzione dei tempi di refertazione e quindi, per i pazienti, un accesso più tempestivo alle terapie personalizzate innovative, e allo stesso tempo abbattendo i costi per il SSN per terapie inappropriate

Vista l'elevata richiesta di test molecolari e l'urgenza di refertazione delle neoplasie polmonari in stadio avanzato, è necessaria la fornitura di strumenti che consentano mediante un unico workflow di analisi automatico di generare un referto completo a partire dall'estrazione degli acidi nucleici.

Attualmente le tempistiche di refertazione indicate dalle linee guida nazionali ed internazionali per la

diagnostica molecolare delle neoplasie polmonari sono al di sotto dei 7 giorni, e la strumentazione richiesta ci dovrà consentire di emettere il referto finale con tempistiche in linea con quelle raccomandati dalle società scientifiche.

Il sequenziatore richiesto dovrà avere una elevata processività e l'intero workflow (dalla estrazione degli acidi nucleici alla generazione del referto finale) dovrà ed essere completamente automatico.

L'alta performance di sequenziamento associata ad una maggiore scalabilità, ci permetterà non solo di operare con maggiore rapidità nella diagnostica molecolare di routine delle neoplasie polmonari, ma anche di identificare con maggiore sensibilità mutazioni a bassa frequenza allelica predittive di risposta e/o resistenza a farmaci a bersaglio molecolare.

**Oggetto: fornitura in service di un sistema di sequenziamento NGS e di un sistema di estrazione e misura di acidi nucleici comprendente:**

### **1) sistema di sequenziamento NGS**

- Un sequenziatore Next Generation Sequencing ad alta processività e ad alta sensibilità. Il sequenziatore dovrà essere in grado di essere utilizzato come piattaforma stand-alone e consentire la preparazione di libreria NGS in completa automazione.
- La piattaforma dovrà essere in grado di preparare la libreria, il template e il caricamento del chip in un'unica soluzione.
- La strumentazione dovrà consentire di ottenere l'analisi primaria del dato, chiamata delle varianti, annotazione secondaria e generazione del report finale.
- Reagenti per la produzione di librerie a DNA e RNA a partire da tessuti FFPE o freschi e da campioni citologici, e materiali di consumo necessari per l'esecuzione fino a 600 test/anno.

### **2) sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici**

- Utilizzo di estrazione a biglie magnetiche
- Estrazione da: paraffinato, tessuto fresco e congelato, sangue, plasma, midollo osseo e liquidi biologici
- Possibilità di connessione con il sequenziatore al fine di ottenere automaticamente i corretti volumi di acido nucleico necessari per il successivo sequenziamento mediante diversi pannelli genici
- Lo strumento dovrà consentire l'analisi di qualità e quantità dell'acido nucleico estratto in maniera completamente automatica senza l'intervento dell'operatore.
- Reagenti utili per l'estrazione simultanea di DNA e RNA da 600 campioni di neoplasie polmonari (campioni paraffinati)

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

#### **Il sequenziatore NGS deve:**

- Essere in grado di automatizzare il flusso di lavoro dal campione al report e offrire risultati in un singolo giorno
- Richiedere meno di 5 minuti di lavoro manuale per la preparazione e non richiedere più nessun tipo di intervento da parte dell'utilizzatore dall'inizio della corsa fino alla creazione del report.
- Garantire i reagenti stabili sulla piattaforma per 15 giorni
- Processare campioni sia a RNA che DNA in una singola corsa.
- Consentire di ottenere il report a partire da acido nucleico in 14 ore per un pannello costituito

- da un singolo pool di primer fino a un totale di 30 ore per 1 chip completo (200bp per libreria)
- Avere dei software di analisi integrati per l'identificazione delle varianti biologicamente rilevanti e per la produzione di una reportistica delle mutazioni di interesse clinico in grado di correlare le varianti rilevate con farmaci e terapie secondo le linee guida US-FDA, US-NCCN, ESMO, EMA. I software dovranno avere la possibilità di essere aggiornati periodicamente, quando necessario.

**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  $\leq 10$  ng di DNA/RNA per paziente sia da materiale fresco che FFPE, e da campioni citologici.
- Pannello per analisi di RNA+DNA (600 test) in grado di identificare contestualmente le varianti somatiche umane almeno dei seguenti geni: ALK, BRAF, EGFR, NTRK1/2/3, RET, ROS1, MET
- TP53, PTEN, BRAF, ALK, RET, MET, KRAS, FGFR 1/2/3.
- Avere la possibilità di disegnare qualsiasi pannello custom sia per RNA che per DNA
- Avere la possibilità di integrare i diversi pannelli con le versioni più aggiornate allo stesso prezzo (eventuali CE-IVD) per tutti i biomarcatori necessari per la routine del laboratorio.

**Caratteristiche minime (pena l'esclusione) del sistema per la purificazione e misura degli acidi nucleici:**

- Il sistema dovrà permettere l'estrazione degli acidi nucleici mediante l'utilizzo di biglie magnetiche
- Lo strumento dovrà consentire l'estrazione degli acidi nucleici dei campioni processati con la misurazione della loro purificazione e quantizzazione in maniera completamente automatica
- Il sistema dovrà permettere l'estrazione di DNA e RNA (in contemporanea) di campioni paraffinati
- La strumentazione dovrà consentire la connessione diretta alla piattaforma di sequenziamento NGS al fine di minimizzare l'errore umano durante l'intero workflow di analisi

**Assistenza tecnica**

**Tutto il sistema di piattaforma genomica e il sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici 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. Sistema NGS:** possibilità di preparare sullo stesso strumento libreria e template; Sì / No  
Relazionare 7

**2. Sistema NGS:** possibilità di processare campioni sia a RNA che DNA in una singola corsa;  
Sì / No  
Relazionare 7

**3. Sistema NGS e sistema di purificazione degli acidi nucleici:** possibilità di automatizzare il

flusso di lavoro NGS a cominciare dal lisato tumorale fino al report diagnostico;

Sì / No

Relazionare 4

**3. Sistema NGS:** la possibilità di ottenere il report a partire da acido nucleico in 14 ore per un pannello a singola pool fino a 30 ore per un una corsa a chip pieno con una libreria di 200pb

Sì / No

Relazionare 7

**4. Sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici:** possibilità di quantizzare e diluire gli acidi nucleici per consentire un passaggio diretto dallo strumento per la purificazione e misura degli acidi nucleici al sequenziatore NGS

Sì / No

Relazionare 7

**5. Sistema di purificazione e misura degli acidi nucleici:** Possibilità di avere un sistema di barcoding associato allo strumento per la purificazione e misura degli acidi nucleici che permetta il monitoraggio in tempo reale del workflow di estrazione.

Sì / No

Relazionare 7

**6. Server Integrato alla piattaforma:** Possibilità di avere un software direttamente sullo strumento che consenta all'utilizzatore finale di eseguire la preparazione, la gestione e controllo della corse pianificate, vedere e analizzare i risultati e generare un report delle corse effettuate dal sequenziatore. La strumentazione non deve richiedere connessione esterna, ma tutte le analisi devono avvenire on site.

Sì / No

Relazionare 2

**7. 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 6

## Reagenti 18 punti

- Pannello per analisi di DNA e RNA (600 tesT): Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie e templatato NGS, per l'identificazione delle varianti somatiche umane contenute in geni d'interesse; si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello evidenziando: caratteristiche delle analisi delle SNV, indel, CNV e fusioni e come quest'ultime sono evidenziate dal pannello e dal sistema del software di analisi.

Sì / No

Relazionare 7

- 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.

Sì / No

Relazionare 7

- Reagenti per l'estrazione contemporanea di DNA e RNA di 600 campioni paraffinati utilizzando la tecnica a biglie magnetiche.

Si/No

Relazionare 4

### **Assistenza 5 punti**

1. Assistenza tecnica e Supporto scientifico certificata su Roma

Si / No

Relazionare 3

2. Hot line e Possibilità assistenza in remoto

Si / 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

Si / No

Relazionare 1