

ALLEGATO TECNICO

LOTTO 1) fornitura per ASL MEDIO CAMPIDANO Sequenziatore + diagnostici

Fornitura di un sistema analitico (apparecchiature, reagenti e materiali) in service per determinare la tipizzazione rapida di agenti patogeni batterici virali e fungini e la determinazione di varianti geniche di resistenza agli antimicrobici, mediante tecnica di Next Generation Sequencing (NGS) in pazienti con infezioni

Destinazione: Laboratorio di Patologia Clinica, Microbiologia Clinica e Biologia Molecolare dell'Ospedale Nostra Signora di Bonaria di San Gavino Monreale, ASL Medio Campidano

Durata della fornitura: 3 anni con eventuali proroghe annuali.

Determinazioni previste/anno: 225

Caratteristiche essenziali

Acquisizione in service di un sistema di estrazione di acidi nucleici da plasma/ espettorato/saliva e da altri liquidi biologici, tipizzazione rapida di agenti patogeni batterici virali e fungini e la determinazione di varianti geniche di resistenza agli antimicrobici, mediante tecnica di Next Generation Sequencing (NGS) in pazienti con infezioni.

Il sistema deve essere composto da sequenziatore, reagenti, consumabili, accessori, assistenza tecnica, con le caratteristiche di seguito riportate:

Caratteristiche del Sequenziatore NGS:

- Sequenziatore con metodologia NGS a sequenziamento massivo parallelo.
- Strumento ottimizzato ed integrato con software di analisi, in grado di effettuare il sequenziamento massivo parallelo di acidi nucleici sia a singolare lettura (single-end) che in letture accoppiate (paired-end).
- Tecnologia di sequenziamento basata sulla sintesi del filamento omologo (tecnologia SBS) capace di produrre almeno 15 Gbasi di sequenza nel formato FASTQ.
- Dotato di software in house che permetta di effettuare l'analisi dei dati grezzi (produzione di file FASTQ), l'allineamento su genomi di riferimento e l'identificazione delle varianti genomiche rispetto al genoma di riferimento.
- Amplificazione clonale completamente automatizzata e inclusa all'interno dello strumento.
- Assistenza tecnica full- risk e applicativa per l'addestramento degli operatori.
- Aggiornamento tecnologico.

Caratteristiche dei reagenti, accessori e consumabili:

Il sistema deve prevedere i seguenti accessori, reagenti e consumabili per un numero di determinazioni previste/anno pari a 225

La fornitura deve comprendere:

- N 1 Sistema di estrazione Acidi nucleici mediante cartuccia con KIT di estrazione degli acidi nucleici da plasma, espettorato, saliva o altro fluido biologico potenzialmente infetto;
- N 2 Termociclatori;
- N 1 centrifughe da banco per tubi 1,5 mL;
- N 1 centrifuga da banco per MPT velocità fissa;
- Reagenti in kit per il sequenziamento NGS, basati sulla sintesi del filamento omologo (tecnologia SBS) per eseguire:

45 runs/anno di circa 4M clusters.

30 runs/anno di circa 1M clusters,

15 runs/anno di circa 25M clusters;

- Kit di preparazione delle library per la detection dei patogeni con tecnologia NGS;
- Dotazione di PC, schermo e stampante, con connessioni dati idonei alle necessità di analisi previste dal KIT al punto precedente;
- Materiali di consumo per biologia molecolare (plastica monouso, micropiastre da termocilatore con fogli termosigillanti, tubi da PCR, puntali 10, 100, 1000 uL) sufficienti alla preparazione di 250/300 test/anno;
- N.1 incubatore per la preparazione di librerie con protocollo di cattura;
- N.1 fluorimetro e reagenti per la determinazione della quantità e qualità degli acidi nucleici estratti e delle preparazioni di librerie;
- Biglie magnetiche per la purificazione degli acidi nucleici;
- Magneti per biglie adatti a micropiastre 96 wells e tubi eppendorf da 1.5 mL;
- Micro Pipette da 10, 100, 1000 uL, e micropipette multicanali (8 canali) da 10 e 100 uL.

<i>Caratteristiche del Sistema analitico:</i>
--

Il sistema deve:

- Essere interamente compatibile con il metodo di sequenziamento con tecnica SBS;
- Consentire la identificazione dei principali patogeni di interesse clinico (lista nell'allegato A);
- Detection delle singole specie microbiologiche basato su tecnologia di cattura delle sequenze di DNA e cDNA;
- Determinare, nella stessa analisi, la presenza delle varianti geniche che determinano la resistenza ai farmaci antimicrobici;
- Consentire la preparazione della library in <12 ore;
- Includere la detection l'intero sequenziamento del SARS-CoV-2 al fine di evidenziare l'insorgenza di nuove varianti del virus.
- Includere il software per tutta la pipeline necessaria alla identificazione del patogeno con accesso alle banche dati genomiche e alle eventuali varianti di resistenza ai farmaci terapeutici antivirali o antimicrobici;

- Essere riscattato alla scadenza del contratto (tutte le apparecchiature e accessori ad eccezione dei reattivi e consumabili);
- Nessun costo aggiuntivo per le determinazioni richieste.
- Criteri di valutazione delle offerte

Patogeni respiratori

Batteri (comunitari e ospedalieri)

Patogeni classici della polmonite:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae* (incluso ceppi non-tipizzabili)
- *Moraxella catarrhalis*
- *Staphylococcus aureus* (MSSA / MRSA)
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae* (nei fragili)

Gram-negativi nosocomiali / severi:

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoniae* (e complesso *Klebsiella spp.*)
- *Enterobacter cloacae* complex
- *Escherichia coli* (polmoniti nosocomiali)
- *Acinetobacter baumannii*
- *Serratia marcescens*
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Burkholderia cenocepacia* complex (fibrosi cistica, ICU)

Patogeni atipici (fondamentali in NGS):

- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Legionella pneumophila* (e altre specie)

2. Virus respiratori

Virus stagionali e ad alta prevalenza:

- **Influenza A, B** (con sottotipi H1/H3)
- RSV A e B
- Rhinovirus / Enterovirus

- **Adenovirus** (vari tipi)
- **Coronavirus “classici”** (229E, NL63, OC43, HKU1)

Virus ad alto impatto clinico:

- **SARS-CoV-2**
- Parainfluenza 1–4
- Metapneumovirus umano (hMPV)
- **Bocavirus** (meno frequente, ma utile come parte di un pannello “completo”)

3. Funghi respiratori

(indispensabili in ICU, immunodepressi, COVID-ARDS, neutropenia)

- *Aspergillus fumigatus* (e altre specie di *Aspergillus*)
- *Candida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis*
- *Pneumocystis jirovecii*
- *Mucorales* (*Rhizopus*, *Mucor* spp.)

LOTTO 2) fornitura per ASL Cagliari - ALLEGATO TECNICO NGS –

Fornitura in service di un sistema analitico completo di Genotipizzazione HIV per il rilevamento di mutazioni di farmaco resistenza con tecnologia NGS per il Laboratorio Analisi dell'Osp. SS.Trinità.

Elenco determinazioni prevedibili / anno:

- HIV RT - PR - INTEGRASI 120
- HIV RNA GENOMA INTERO 30

Composizione e requisiti indispensabili:

- Termociclatore 96 well
- Sistema per elettroforesi del DNA per verifica qualità delle librerie
- Fluorimetro per quantificazione DNA
- Strumento per automazione della preparazione delle librerie, purificazione con biglie magnetiche e termociclatore integrato.
- Sequenziatore NGS che utilizzi chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS), tecnologia paired-end senza interventi manuali, completamente automatizzato.
- Sequenziatore NGS in grado di generare un output almeno fino a 15 Gb.

- Gruppo di continuità UPS. adeguato alla strumentazione offerta.
- Kit di estrazione acidi nucleici.
- Kit di preparazione librerie per piattaforma NGS in grado di amplificare le regioni di RNA virale HIV target di farmaco resistenza.
- Software per l'allineamento e l'interpretazione automatica dei dati NGS, compatibile con i principali database di farmacoresistenza HIV.
- Kit per l'analisi dell' HIV da RNA RT- PR - INT validato CE-IVD.