

## 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 riportato:**

#### *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, espettato, 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.

#### ***Caratteristiche del Sistema analitico:***

- 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 detectione 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 terapici 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*
- *Chlamydophila 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:**

- Termociclato 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 termociclato 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.