

ALLEGATO A

Capitolato Tecnico per la Fornitura di una piattaforma automatizzata per il sequenziamento NGS (Next Generation Sequencing) ad alta produttività e relativa fornitura di pannelli per analisi di sequenziamento per ricostruire la sequenza genomica di SARS-CoV-2 e per la caratterizzazione genetica/molecolare di diverse tipologie di campioni biologici e di un Sistema di Sequenziamento Capillare, basato su metodo Sanger da dedicare alla UOSD Laboratorio di Genetica Medica ASL-Viterbo.

Descrizione del Capitolato Tecnico: il Capitolato Tecnico è costituito da due sublotto (di seguito sublotto 1 e sublotto 2) **ad aggiudicazione unica.**

SOMMARIO

SUBLOTTO 1	1
Art. 1 Oggetto della fornitura	2
Art. 2 Caratteristiche del Sistema	2
2.1 Caratteristiche minime della strumentazione (pena l'esclusione):.....	3
2.2 Caratteristiche minime dei consumabili richiesti per la preparazione di librerie genomiche (pena l'esclusione):	3
2.3 Assistenza tecnica	4
Art. 3 Contenuto offerta tecnica.....	5
Art. 4 Fabbisogno presunto di consumabili.....	5
Art. 5 Sopralluogo obbligatorio e vincoli impiantistici.....	6
Art. 6 Caratteristiche preferenziali soggette a punteggio.....	6
SUBLOTTO 2	7
Art. 1 Oggetto della fornitura	7
Art. 2 Caratteristiche del Sistema	8
Art. 3 Reattivi	9
Art. 4 Caratteristiche preferenziali soggette a punteggio.....	10

SUBLOTTO 1

Capitolato Tecnico per la Fornitura di una piattaforma automatizzata per il sequenziamento NGS (Next Generation Sequencing) ad alta produttività e relativa fornitura di pannelli per analisi di sequenziamento per ricostruire la sequenza genomica di SARS-CoV-2 al fine di identificare e caratterizzare le varianti del virus note (VOC - Variant of Concern e VOI - Variants of Interest) e sconosciute e per la caratterizzazione genetica/molecolare di diverse tipologie di campioni biologici da dedicare alla UOSD Laboratorio di Genetica Medica ASL-Viterbo.

Art. 1 Oggetto della fornitura

La presente procedura è relativa ai seguenti ambiti:

- sequenziamento della sequenza genomica del virus SARS-CoV-2 al fine di identificare e caratterizzare le varianti del virus note (VOC - Variant of Concern e VOI - Variants of Interest) e sconosciute;
- farmacodiagnostica per la corretta impostazione delle terapie oncologiche e oncoematologiche;
- caratterizzazione diagnostica e prognostica in oncologia e oncoematologia;
- diagnosi e studio delle malattie rare;
- diagnosi, caratterizzazione genetica e farmacodiagnostica delle principali malattie neurodegenerative.

Il presente Capitolato Tecnico disciplina il contratto di fornitura *in service* di una nuova strumentazione per sequenziamento massivo-parallelo di acidi nucleici ad alta processività (NGS: Next Generation Sequencing), comprensivo di garanzia *full risk* e relativa fornitura di pannelli per analisi di sequenziamento per le specifiche attività della UOSD Laboratorio di Genetica Medica della ASL Viterbo.

La fornitura in particolare dovrà comprendere:

- Un sequenziatore Next Generation Sequencing ad alta processività e ad alta sensibilità (strumentazione, hardware e software per analisi e interpretazione dei dati analitici). 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 il template, la libreria 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 o RNA a partire da tessuti FFPE o freschi e da campioni citologici, e materiali di consumo necessari per l'esecuzione dei pannelli richiesti.
- Pannelli per analisi di sequenziamento specifici.

Art. 2 Caratteristiche del Sistema

Il sistema richiesto dovrà possedere quanto sotto riportato.

a) Caratteristiche qualitative e tecniche

- La strumentazione dovrà possedere le caratteristiche qualitative e tecniche minime precisate al § 2.1
- I consumabili dovranno possedere le caratteristiche minime precisate al § 2.2.

b) Completezza

Dovrà essere fornito tutto il necessario per l'esecuzione dell'attività diagnostica prevista e al funzionamento delle strumentazioni. In particolare la fornitura dovrà comprendere:

- noleggio, installazione e collaudo di tutta la strumentazione necessaria all'esecuzione dell'analisi di sequenziamento;
- collegamento della strumentazione alla rete ai fini di assistenza da remoto;
- hardware e software dedicati, comprensivi di memorie con capacità adeguata alla mole di dati prodotti dalla metodica e di stampanti per il corretto e completo funzionamento e per l'esecuzione del *workflow* di lavoro;
- l'offerta economica dovrà contenere tutti i reagenti, pannelli, e tutto il materiale di consumo a completamento della fornitura necessario al corretto funzionamento della strumentazione;

- fornitura gratuita di eventuale strumentazione accessoria prevista nel manuale d'uso/scheda tecnica/protocollo di sequenziamento e necessaria allo svolgimento dell'attività diagnostica;
- assistenza tecnica *full-risk* completa di manutenzione ordinaria, straordinaria, di supporto tecnico e di tutto il necessario al funzionamento della strumentazione (§ 2.3);
- Formazione del personale in loco su strumentazione software hardware uso dei pannelli ed interpretazione dei dati. La formazione dovrà comprendere teoria e pratica su tecnologia e workflow NGS, uso dello strumento e software dedicati, setup della seduta di lavoro, interpretazione risultati dei pannelli richiesti.
- Assistenza per la realizzazione di pannelli custom anche da remoto.
- Assistenza nell'analisi dei dati da remoto mediante software dedicato e servizio per analizzare campioni e generare report di analisi.
- fornitura di sistema di memorizzazione ai fini di immagazzinamento on board dei dati prodotti dall'analisi, con uno spazio di archiviazione di almeno 30 (trenta) Terabyte iniziali, comprensivo di backup ed avente il massimo grado di sicurezza.

2.1 Caratteristiche minime della strumentazione (pena l'esclusione):

- a) La strumentazione dovrà essere in grado di automatizzare il flusso di lavoro dal campione al report e offrire risultati in un singolo giorno.
- b) Lo strumento dovrà 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.
- c) La piattaforma dovrà garantire i reagenti stabili sulla piattaforma per 15 giorni.
- d) Lo strumento dovrà poter processare campioni sia a RNA che DNA in una singola corsa.
- e) Lo strumento dovrà consentire di ottenere il report a partire da acido nucleico in 14 ore for a *single-pool assay* su una *single-lane run*, e 30 ore per una *full-chip run* per una libreria con frammenti da 200bp.

2.2 Caratteristiche minime dei consumabili richiesti per la preparazione di librerie genomiche (pena l'esclusione):

- a) 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, da campioni citologici, oppure ≤ 20 ng da acido nucleico circolante (cfDNA e cfRNA).
- b) Pannello specifico per l'analisi del genoma completo del virus Sars-CoV-2 da un input iniziale di almeno 1 ng di RNA. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e templatato. (n. di campioni/anno = 60)
- c) Pannello specifico in grado di permettere l'analisi delle seguenti patologie: Sindrome di Lynch, Poliposi Adenomatosa, neoplasie mammalla/Ovaio, Sindrome Li-Fraumeni, Sindrome Cowden/Phts, Sindrome Peutz-Jeghers. Il pannello dovrà essere specifico per analisi di DNA in grado di identificare, contestualmente, le varianti somatiche o germinali umane sia da materiale fresco che FFPE almeno dei seguenti geni: ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK2, FANCD2, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD54L, TP53. Il pannello dovrà permettere l'aggiunta dei geni di interesse a seconda delle esigenze del laboratorio. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e templatato. (n. di campioni/anno = 120)
- d) Pannello per analisi DNA/RNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti (hotspots, CNV, Fusioni inter-geniche ed intrageniche) somatiche o germinali umane sia da materiale fresco, FFPE e cfDNA dei principali geni (minimo 50 geni) associati a patologie neoplastiche. Il pannello dovrà contenere almeno i seguenti geni: ALK, BRAF, EGFR, NTRK1/2/3, RET, ROS1, MET, PIK3CA, IDH1/2, PTEN, TP53. Il pannello dovrà

avere un *workflow* completamente automatico per libreria e template (n. di campioni/anno = 120)

- e) Pannello per analisi contemporanea di DNA e RNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti (hotspots, full gene, Fusioni geniche, espressione genica) dei principali geni umani associati alle principali malattie emato-oncologiche; acute myeloid leukemia (AML), myeloid dysplastic syndrome (MDS), myeloproliferative neoplasms (MPN), chronic myeloid leukemia (CML), chronic myelomonocytic leukemia (CMML), and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). Il pannello dovrà essere in grado di analizzare almeno i seguenti geni: JAK2, CALR, MYC, ABL1, FLT3, KIT, BRAF, BCL2, MET, TP53, ALK. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e template. (n. di campioni/anno = 30)
- f) Pannello per analisi contestuale di DNA/RNA per una caratterizzazione completa (analisi di varianti di almeno 160 geni) 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. Ovviamente si dovrà sempre avere la possibilità di modificare i geni a seconda delle esigenze cliniche richieste dell'ospedale. (n. di campioni/anno = 15).
- g) Pannello per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane implicate nelle seguenti patologie: Malattia di Fabry, Rene Policistico Dominante, Melanoma Ereditario. Il pannello dovrà contenere almeno i seguenti geni: GLA, PKD1, PKD2, CDKN2A, CDKN2B, CDK4, BAP1, POT1, TERF2IP, ACD, TERT, MITF, MC1R, MGMT. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e template. Ovviamente si dovrà sempre avere la possibilità di modificare i geni a seconda delle esigenze cliniche richieste dell'ospedale. (n. di campioni/anno = 65).
- h) Pannello per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane da materiale fresco implicate nella seguente patologie neurodegenerative: Parkinson. Il pannello dovrà contenere un minimo di 30 geni di cui: ATP13A2, FUS, PLA2G6, PANK2, PARK7, SYNJ1, TH, DNAJC6, FBXO7, WDR45. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e template. Ovviamente si dovrà sempre avere la possibilità di modificare i geni a seconda delle esigenze cliniche richieste dell'ospedale. (n. di campioni/anno = 25).
- i) Pannello per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane da materiale fresco implicate nella seguente patologie neurodegenerative: Alzheimer. Il pannello dovrà contenere un minimo di 30 geni di cui: APOE, ATXN2, CHMP2B, ITM2B, PANK2, REEP1, TARDBP, VAPB. Il pannello dovrà avere un *workflow* completamente automatico per libreria e template. Ovviamente si dovrà sempre avere la possibilità di modificare i geni a seconda delle esigenze cliniche richieste dell'ospedale. (n. di campioni/anno = 25).

La consegna dei reagenti/consumabili necessari per i singoli pannelli dovrà avvenire entro 20 (venti) giorni lavorativi dalla data dell'ordine.

2.3 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 e da remoto tramite sistemi informatici.

L'assistenza tecnica *full-risk* dovrà essere completa di manutenzione ordinaria e straordinaria: manutenzione ordinaria secondo quanto previsto nei manuali d'uso e di manutenzione della strumentazione; supporto specialistico telefonico in lingua italiana nelle fasce orarie lavorative dal lunedì al venerdì dalle 9:00 alle 17:30, in caso di urgenza intervento in loco entro 24 (ventiquattro) ore lavorative dalla segnalazione e risoluzione del malfunzionamento entro le successive 72 (settantadue) ore lavorative.

Art. 3 Contenuto offerta tecnica

Nell'offerta tecnica dovranno essere presenti:

- a) schede tecniche aggiornate dei prodotti forniti in lingua italiana o in lingua inglese;
- b) manuali d'uso degli strumenti in lingua italiana o in lingua inglese;
- c) dichiarazione attestante lo status di prodotto in corso di registrazione o non soggetto all'obbligo di cui al D.M. 20/02/2007 di cui all'Art. 2, lettera c del presente capitolato;
- d) documentazione attestante la presenza dei requisiti tecnici necessari;
- e) dichiarazione attestante il possesso degli elementi di valutazione richiesti nel presente capitolato.

Art. 4 Fabbisogno presunto di consumabili

Nella **Tabella 1** viene riassunto il quantitativo presunto (n. di campioni)/anno suddiviso per tipologia di pannello descritto al § 2.2

PANNELLO	N. CAMPIONI/ANNO
b) Pannello specifico per l'analisi del genoma completo del virus Sars-CoV-2	60
c) Il pannello Sindrome di Lynch, Poliposi Adenomatosa, neoplasie mammalla/Ovaio, Sindrome Li-Fraumeni, Sindrome Cowden/Phts, Sindrome Peutz-Jeghers. Geni minimi che deve contenere il pannello: ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK2, FANCD2, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD54L, TP53.	120
d) Pannello per analisi DNA/RNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti (hotspots, CNV, Fusioni inter-geniche ed intrageniche) somatiche o germinali umane sia da materiale fresco, FFPE e cfDNA dei principali geni (minimo 50 geni) associati a patologie neoplastiche. Geni minimi che deve contenere il pannello: ALK, BRAF, EGFR, NTRK1/2/3, RET, ROS1, MET, PIK3CA, IDH1/2, PTEN, TP53.	120
e) Pannello per analisi contemporanea di DNA e RNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti (hotspots, full gene, Fusioni geniche, espressione genica) dei principali geni umani associati alle principali malattie emato-oncologiche; acute myeloid leukemia (AML), myeloid dysplastic syndrome (MDS), myeloproliferative neoplasms (MPN), chronic myeloid leukemia (CML), chronic myelomonocytic leukemia (CMML), and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). Geni minimi che deve contenere il pannello: JAK2, CALR, MYC, ABL1, FLT3, KIT, BRAF, BCL2, MET, TP53, ALK.	30
f) Pannello per analisi contestuale di DNA/RNA per una caratterizzazione completa (analisi di varianti di almeno 160 geni) 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.	15
g) Pannello custom per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane sia da materiale fresco che FFPE implicate nelle seguenti patologie: Malattia di Fabry, Rene Policistico Dominante, Melanoma Ereditario. Geni minimi che deve contenere il pannello: GLA, PKD1, PKD2, CDKN2A, CDKN2B, CDK4, BAP1, POT1, TERF2IP, ACD, TERT, MITF, MC1R, MGMT.	65
h) Pannello custom per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane da materiale fresco implicate nella seguente patologie neurodegenerative: Parkinson. Il pannello dovrà contenere un minimo di 30 geni di cui: ATPI3A2, FUS, PLA2G6, PANK2, PARK7, SYNJ1, TH, DNAJC6, FBXO7, WDR45.	25
i) Pannello custom per analisi DNA in grado di identificare, contestualmente, attraverso una singola reazione le varianti germinali umane da materiale fresco implicate nella seguente patologie neurodegenerative: Alzheimer. Il pannello dovrà contenere un minimo di 30 geni di cui: APOE, ATXN2, CHMP2B, ITM2B, PANK2, REEP1, TARDBP, VAPB.	25

Tabella 1: quantitativo presunto (n. di campioni)/ annuali suddiviso per tipologia di pannello descritto al § 2.2

Art. 5 Sopralluogo obbligatorio e vincoli impiantistici

Le ditte dovranno effettuare un sopralluogo nel laboratorio destinatario della fornitura per valutare l' idoneità degli spazi messi a disposizione per installare la loro strumentazione. Le ditte dovranno indicare le caratteristiche impiantistiche e logistiche necessarie alla corretta installazione della strumentazione negli spazi dedicati.

Art. 6 Caratteristiche preferenziali soggette a punteggio

Strumentazione 47 punti:

Nella **Tabella 2** le caratteristiche preferenziali della Strumentazione soggette a punteggio.

CARATTERISTICA SOGGETTA A VALUTAZIONE	VALUTAZIONE
Sistema NGS: possibilità di preparare sullo stesso strumento libreria e template	7 PUNTI
Sistema NGS: possibilità di processare campioni sia a RNA che DNA in una singola corsa	7 PUNTI
Sistema NGS: possibilità di automatizzare il flusso di lavoro NGS a cominciare dall'acido nucleico estratto e quantificato o da una libreria già costruita fino al report	4 PUNTI
Sistema NGS: 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	7 PUNTI
Sistema NGS: Possibilità di correre saggi diversi in unica corsa per ottimizzare tempi macchina	7 PUNTI
Sistema NGS: Possibilità di avere reagenti stabili nella strumentazione per 15 giorni	7 PUNTI
Server Integrato alla piattaforma Possibilità di avere un software direttamente sullo strumento che consenta all'utente finale di eseguire la preparazione, la gestione e controllo della corsa 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	2 PUNTI
Software 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	6 PUNTI

Tabella 2: Caratteristiche preferenziali della Strumentazione soggette a punteggio.

Reagenti 18 punti:

Nella **Tabella 3** le caratteristiche preferenziali dei Reagenti soggette a punteggio.

Pannello della Tabella 1	CARATTERISTICA SOGGETTA A VALUTAZIONE	VALUTAZIONE
b)	Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie e template NGS, per l'identificazione delle varianti del genoma del virus SARS CoV-2	2 PUNTI
c)	Reagenti pronti all'uso in unico kit per la preparazione delle librerie e template 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 fusioni e come quest'ultime sono evidenziate dal pannello e dal sistema del software di analisi.	3 PUNTI

d)	Possibilità di garantire un sistema di disegno custom di pannelli NGS ad alta efficienza a partire da 10 ng di DNA per paziente sia di materiale fresco che FFPE, sia di campioni citologici. Si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello custom evidenziando: Hot Spot, CDS.	3 PUNTI
e)	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 fusioni e come quest'ultime sono evidenziate dal pannello e dal sistema del software di analisi.	3 PUNTI
g)	Possibilità di garantire un sistema di disegno custom di pannelli NGS ad alta efficienza a partire da 10 ng di DNA per paziente sia di materiale fresco che FFPE, sia di campioni citologici. Si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello custom evidenziando: Hot Spot, CDS.	3 PUNTI
h) e i)	Possibilità di garantire un sistema di disegno custom di pannelli NGS ad alta efficienza a partire da 10 ng di DNA per paziente sia di materiale fresco che FFPE, sia di campioni citologici. Si prega di dare descrizione estensiva della natura del pannello custom evidenziando: Hot Spot, CDS.	3 PUNTI
/	Possibilità di disegnare pannelli custom senza limiti minimi o massimi di geni per analisi di DNA e RNA, per campioni di Paraffinato, Fresco e Biopsia Liquida.	2 PUNTI

Tabella 3: Caratteristiche preferenziali dei Reagenti soggette a punteggio.

Assistenza 5 punti

Nella **Tabella 4** le caratteristiche preferenziali relative all'assistenza soggette a punteggio.

CARATTERISTICA SOGGETTA A VALUTAZIONE	PRESENTE	VALUTAZIONE
Assistenza tecnica e Supporto scientifico certificata su Roma	SI/NO	Relazionare max 1 PUNTI
Hot line e possibilità assistenza in remoto	SI/NO	Relazionare max 2 PUNTI
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 Max 2 PUNTI

Tabella 4: Caratteristiche preferenziali relative all'assistenza soggette a punteggio.

SUBLOTTO 2

Capitolato Tecnico per la Fornitura di Sistema di Sequenziamento Capillare, basato su metodo Sanger, provvisto di un sistema di rilevazione a fluorescenza, in grado di processare corse multiple (almeno 4 reazioni per corsa).

Art. 1 Oggetto della fornitura

Il presente Capitolato Tecnico disciplina il contratto di fornitura *in service* di una piattaforma di Sequenziamento di DNA multicapillare con tecnologia Sanger per analisi di sequenze e frammenti per la validazione dei dati in NGS (Next Generation Sequencing) e per l'attività diagnostica specifica della Sezione di Genetica Molecolare della UOSD Laboratorio di Genetica Medica.

Le caratteristiche indicate al successivo paragrafo 2.1 “Caratteristiche tecniche minime obbligatorie a pena di esclusione” identificano i requisiti tecnici minimi che il sistema oggetto dell’appalto deve possedere a pena di esclusione. Il mancato “possesso” o il mancato raggiungimento anche di uno solo dei requisiti di cui sopra comporterà l’esclusione dalla gara.

Art. 2 Caratteristiche del Sistema

Strumentazione

Si richiede:

- a. **Sequenziatore lineare di acidi nucleici mediante approccio Sanger.** La strumentazione deve essere nuova di fabbrica e deve inoltre possedere le seguenti caratteristiche minime:
 - sfruttare il principio dell'elettroforesi capillare con un sistema ottico di rivelazione a fluorescenza policromatica basato su raggio di eccitazione laser a stato solido e identificazione del segnale mediante CCD camera;
 - Poter alloggiare 8-well *strip tubes* e/o 96 well *standard plates*;
 - Prevedere automazione nel prelievamento dei campioni da *plate* a capillari per la corsa, senza alcun intervento da parte dell’operatore;
 - processare corse multiple con fino a 4 reazioni per corsa
 - possedere un sistema *all-in-one* a cartuccia contenente capillari, polimero, pompa, buffer all’anodo, finestra per il passaggio del raggio di eccitazione laser;
 - permettere la conservazione della cartuccia all’interno dello strumento da 4 a 6 mesi o fino al raggiungimento di 250 iniezioni;
 - essere in grado di effettuare autocalibrazioni;
 - permettere di effettuare sequenziamento ed analisi di frammenti nella stessa *plate* di corsa;
 - possedere un’interfaccia *touch screen* che permetta di effettuare senza l’utilizzo obbligato di un PC: creazione di protocolli di corsa in modalità Guest, di selezionare specifiche destinazioni di default per i file di corsa (es. porta USB, disco di rete o ambiente online), di mettere in pausa una corsa e scegliere se la temperatura del blocco venga mantenuta durante il periodo di pausa (durante il periodo di pausa l’utente può aprire/chudere il cassetto del blocco per accedere ai campioni. L’utente può far ripartire la corsa dal punto in cui era stata messa in pausa direttamente da touchscreen), di editare le assegnazioni di campioni e fluorofori, di eseguire *dye calibration* aggiuntive e visualizzare i risultati direttamente sul *touch screen* dello strumento;
 - gestire il quantitativo di polimero necessario alle applicazioni del laboratorio tramite una pompa automatica;
 - essere dotato di un sistema di identificazione tramite radiofrequenza (RFID) per la cartuccia ed i reagenti;
 - Prevedere l’eventuale collegamento ad un ambiente online nel quale, a discrezione dell’utente, i dati di corsa possono essere condivisi con collaboratori e possono essere caricati dati di corsa o di performance dello strumento;
 - Protezione e tracciabilità, con sicurezza, *audit* e *software e-signature* (SAE) per applicazioni HID (forensi);
 - *Software* dedicato alle applicazioni forensi e *software* dedicato alle applicazioni utili alle analisi di routine (sequenziamento ed analisi di frammenti);
 - Poter essere utilizzato con un *software online browser-based* per l’analisi dei dati, permettendo l’accesso solamente a utenti selezionati;

- Riduzione dell'*editing pull-up* (falso picco secondario) l'autocalibrazione utilizzando dati spettrali specifici del campione e la calibrazione da marcatore a marcatore riduce la modifica *pull-up*;
 - Capacità di rilevazione 8 fluorocromi, 8 Dye.
- b. **Centrifuga da banco** con rotore dedicato per almeno due 96 well standard plates e per provette da 1.5/2.0 ml.
- c. **Digital vortex mixer** dotato di vassoio per micropiastre, supporto per provette da Ø19×10mm, 12 mm ×13, 15mm×12, 20mm×4, 26mm×4.

Art. 3 Reattivi

Si richiedono i reattivi dedicati elencati nella **Tabella I** nelle quantità annue specificate.

Reattivi	Quantità/anno
Oligonucleotidi (primers forward) 20-40 bp desalted	50
Oligonucleotidi (primers reverse) 20-40 bp desalted	50
Formamide grado molecolare	25 ml
Nuclease free water	500 ml
TE Buffer	100 ml
RBC Lysis Buffer IX	2 litri
Dpbs senza calcio e magnesio	5 litri
TRIzol reagent	200 ml
1 Kb Plus DNA Ladder	50 microgrammi
50 bp DNA Ladder	50 microgrammi
Master Mix per la sintesi di cDNA per applicazioni in RT-qPCR (reagenti tutti compresi)	150 reazioni
Kit per Cycle Sequencing adatto per <i>de novo</i> sequencing, resequencing (chimica compatibile con Big Dye v3.1)	500 reazioni
Kit completo per Cycle Sequencing adatto per <i>de novo</i> sequencing, resequencing in tempi rapidi in grado di combinare gli steps di amplificazione in PCR, purificazione dei prodotti di PCR e Cycle Sequencing.	2000 reazioni
Kit completo per Cycle Sequencing adatto per <i>de novo</i> sequencing, resequencing contenente tutti i reagenti per l'esecuzione degli steps di amplificazione in PCR, purificazione dei prodotti di PCR, Cycle Sequencing e purificazione dei prodotti di Cycle Sequencing.	200 reazioni
Kit per purificazione dei prodotti di PCR	500 reazioni
Kit per purificazione dei prodotti di Cycle Sequencing	500 reazioni
Kit per sequencing standard contenente DNA preparato per realizzare spectral calibration, performance check e/o un controllo della corsa di sequenziamento	1 kit
Kit analisi polimorfismi STR del DNA ad almeno 20 loci + amelogenina per elettroforesi capillare in fluorescenza	200 reazioni
Kit analisi polimorfismi Y-STR del DNA ad almeno 15 loci per elettroforesi capillare in fluorescenza	100 reazioni
Films adesivi per la chiusura di piastra da 96 wells non ottici	300 films
Films adesivi per la chiusura di piastra da 96 wells ottici	200 films
Plate da 96 wells ottiche per sequenziamento con barcode	40
Plate da 96 wells ottiche per RT-PCR da 0.1 ml con barcode compatibili con la strumentazione in dotazione al laboratorio (Step-One Pls e Quant Studio 5)	40
Provette con tappo per amplificazione in RT-PCR e PCR da 0.2 ml	1000
Tappetini di chiusura delle plate da 96 wells (septa) per sequenziamento	40
Tutto quanto necessario al funzionamento dello strumento per il sequenziamento: capillari, buffer (anodo, catodo), polimero, reagenti per l'eventuale manutenzione periodica da parte dell'esecutore per l'esecuzione delle reazioni di sequenziamento ed analisi dei frammenti richieste.	Proporzionale alle reazioni richieste
Size standard con marcatore LIZ per l'analisi di frammenti compresi tra 20 e 600 bp.	800 reazioni
Size standard con marcatore ROX per l'analisi di frammenti compresi tra 35 e 500 bp.	800 reazioni
Matrice standard kit a sei colori per spectral calibration con i marcatori FAM, VIC, NED, SID, TAZ e LIZ	Quantità per 8 runs
Matrice standard kit a cinque colori per spectral calibration con i marcatori FAM, VIC, NED, PET e LIZ	Quantità per 8 runs
Kit per estrazione DNA/RNA virale manuale o compatibile con la strumentazione in dotazione al laboratorio	250 estrazioni
Kit per estrazione DNA genomico da sangue, saliva, FFPE, manuale o compatibile con la strumentazione in dotazione al laboratorio	250 reazioni

Tabella I: reattivi dedicati all'attività di sequenziamento ed analisi dei frammenti mediante elettroforesi capillare.

Art. 4 Caratteristiche preferenziali soggette a punteggio

Strumentazione 63 Punti

Nella **Tabella 2** le caratteristiche preferenziali relative alla strumentazione soggette a punteggio.

CARATTERISTICA SOGGETTA A VALUTAZIONE	Punteggio
Principio dell'elettroforesi capillare: presenza di un sistema ottico di rivelazione a fluorescenza policromatica basato su raggio di eccitazione laser a stato solido e identificazione del segnale mediante CCD camera	18 PUNTI
Sistema di identificazione tramite radiofrequenza (RFID) in grado di tracciare tutti i consumabili installati, i numeri di lotto, le date di scadenza e il tempo di permanenza sullo strumento;	18 PUNTI
Software dedicato ad applicazioni HID (forensi)	9 PUNTI
Sistema all-in-one a cartuccia contenente capillari, polimero, pompa, buffer all'anodo	9 PUNTI
Interfaccia touch screen che permetta di eseguire dye calibration aggiuntive e visualizzare i risultati direttamente sul touchscreen dello strumento	9 PUNTI

Tabella 2: caratteristiche preferenziali relative alla strumentazione soggette a punteggio

Assistenza 7 Punti

Nella **Tabella 3** le caratteristiche preferenziali relative all'assistenza soggette a punteggio.

CARATTERISTICA SOGGETTA A VALUTAZIONE	VALUTAZIONE
Possibilità assistenza in remoto	3 PUNTI
Supporto della casa madre nel Lazio e presenza di un laboratorio aziendale per risoluzione problemi, training e aggiornamenti	4 PUNTI

Tabella 3: Caratteristiche preferenziali relative all'assistenza soggette a punteggio.