



Sede Legale  
Viale Strasburgo n.233 - 90146 Palermo  
Tel 0917801111 - P.I. 05841780827  
Settore Provveditorato  
Tel. 091.7808305 Fax. 091.7808394

Palermo li 20/10/2017

Prot 8387/PR

OGGETTO: INDAGINE DI MERCATO PER LA FORNITURA DI REAGENTI HLA NEXT GENERATION SEQUENCING, REAGENTI HLA SBT APLOTIPI, REAGENTI HLA SANGER, OCCORRENTI ALLA U.O. DI MEDICINA TRASFUSIONALE E DEI TRAPIANTI P.O. CERVELLO.

A TUTTE LE DITTE INTERESSATE

Dovendo questa Amministrazione procedere all'acquisto di Reagenti HLA NEXT GENERATION, REAGENTI HLA SBT APLOTIPI, REAGENTI HLA SANGER, occorrenti LL U.O. di Medicina Trasfusionale e dei Trapianti P.O. Cervello, come di seguito specificato si chiede a tutte le ditte interessate quali operatori economici del settore di inviare la propria manifestazione di interesse a partecipare a successiva procedura di gara:

LOTTO N. 1

**Caratteristiche tecniche richieste per i reagenti per tipizzazione genomica HLA tramite PCR-SBT Metodo Next Generation Sequencing.**

I reagenti ed il software fornito devono essere adatti per l'utilizzo su sequenziatori ION Torrent Life Technologies ed avere le seguenti caratteristiche:

- I kit devono poter amplificare e sequenziare tramite metodica NGS tutti i loci HLA: A-B-C-DPB1-DQA1-DQB1-DRB1-DRB3/4/5-DQA1-DPA1 ed utilizzare Primer Marcati CE-IVD
- Il kit deve permettere in unica reazione di PCR di amplificare ciascun locus HLA separatamente (anche per il locus DQB1).
- I kit devono coprire l'intero gene (tutti gli esoni) per tutti i loci HLA della Classe I
- kit di preparazione della libreria (dsDNA Fragmentasi e set di Indici)
- Possibilità di effettuare il pooling dei loci prima della preparazione della libreria
- Il Software dedicato deve permettere di ottenere la tipizzazione rapida e automatica dei campioni, con la possibilità di analizzare sia il singolo campione che tutti i campioni contemporaneamente.
- I passaggi dell'analisi con il software devono essere molto rapidi: analisi, determinazione dei loci, setting dalla reference, allineamento delle letture, phasing, tipizzazione.

## LOTTO N. 2

### Caratteristiche Reagenti HLA SBT Sanger Aplotipi

I reagenti devono avere le seguenti caratteristiche:

- devono consentire di effettuare la tipizzazione genomica HLA di classe I e II ad alta risoluzione mediante amplificazione gruppo specifica con separazione aplotipi e successivo sequenziamento con metodo Sanger;
- i primers di amplificazione e di sequenza devono poter amplificare e sequenziare gli esoni completi al fine di non perdere i polimorfismi in posizioni iniziali; inoltre per diminuire il numero delle ambiguità la tecnica deve consentire la separazione degli aplotipi in fase di amplificazione anche per campioni sconosciuti (più reazioni gruppo specifiche);
- kit per sequenziamento completo di controllo positivo e negativo (degli esoni 1,2,3,4 in entrambe le direzioni) per tipizzazione HLA-A\* con le miscele di primers gruppo specifici (12 mix) liofilizzate e preseminate in micropiastre formate da 16 pozzetti da 0,2 ml direttamente utilizzabili su thermal cycler;
- kit per sequenziamento completo di controllo positivo e negativo (degli esoni 1,2,3,4 in entrambe le direzioni) per tipizzazione HLA-B\* con le miscele di primers (14 mix) liofilizzate e preseminate in micropiastre formate da 16 pozzetti da 0,2 ml direttamente utilizzabili su thermal cycler;
- kit per sequenziamento completo di controllo positivo e negativo (degli esoni 2,3,4 in entrambe le direzioni) per tipizzazione HLA-C\* con le miscele di primers (12 mix) liofilizzate e preseminate in micropiastre formate da 16 pozzetti da 0,2 ml direttamente utilizzabili su thermal cycler;
- kit per sequenziamento completo di controllo positivo e negativo ( dell'esone 2 in entrambe le direzioni + codone 86) per tipizzazione HLA-DRB1\* con le miscele di primers ( 14 mix) liofilizzate e preseminate in micropiastre formate da 16 pozzetti da 0,2 ml direttamente utilizzabili su thermal cycler;
- kit per sequenziamento completo di controllo positivo (dell'esone 2 e 3 in entrambe le direzioni) per tipizzazione HLA-DQB1\* con le miscele di primers (8 mix) liofilizzate e preseminate in provettine da 0.2 ml utilizzabili su thermal cycler; - kit per sequenziamento completo di controllo positivo (dell'esone 2 in entrambe le direzioni) per tipizzazione HLA-DQA1\* con le miscele di primers (4 mix) liofilizzate e preseminate in provettine da 0.2 ml utilizzabili su thermal cycler;
- kit da scegliere in apposito catalogo: disponibilità primers liquidi che consentano di sequenziare esoni aggiuntivi per classe I e II, per risoluzione g Group, escludere alleli null, risolvere P group
- kit da scegliere in apposito catalogo: primers specifici di sequenza per risolvere eventuali ambiguità Cis/Trans ancora presenti dopo separazione allelica in amplificazione.
- 

## LOTTO N. 3

### Caratteristiche Reagenti per tipizzazione genomica HLA tramite PCR SBT metodo Sanger

I reagenti ed il software fornito devono avere le seguenti caratteristiche:

1. Il kit deve permettere in unica reazione di PCR, di amplificare ciascun locus HLA (anche DQB1).
2. I kit devono coprire l'intero gene (tutti gli esoni) per tutti i loci HLA della Classe I
3. I kit devono permettere l'analisi dei seguenti esoni:
  - a. HLA A,B e C: esoni 2, 3 e 4 ; HLA DRB1: esoni 2 e 3
  - b. HLA DQB1: esoni 2 e 3; HLA DPB1: esoni 2 e 3; HLA DQA1 esoni 1,2,3,4.
4. I primer per l'amplificazione e sequenziamento devono essere liofilizzati per essere più stabili .
5. Disponibilità di una ampia gamma di primer gruppo specifici per la risoluzione di ambiguità
6. Il software dedicato deve poter analizzare le intere regioni esoniche e parte delle regioni introniche dei loci fondamentali per risolvere le ambiguità.
7. I kit devono coprire le principali regioni per risoluzione ambiguità ed eventuali regioni aggiuntive.
8. Il software deve avere la possibilità di inserire eventuali tipizzazioni a bassa/media risoluzione già esistenti, in modo da poter selezionare i GSSP in anticipo rispetto alla corsa di sequenziamento, al fine di arrivare ad un genotipo senza ambiguità in un solo passaggio.

L'azienda dovrà inoltre fornire la Taq polimerasi adeguata alla qualità al sistema proposto e i reagenti per la purificazione degli amplificati. La chimica dei BigDye Terminators data la specifica impostazione dei parametri del sequenziatore ABI Prism 310 e/o 3500xL Dx. L'offerta deve comprendere ad uso gratuito: la strumentazione necessaria per la purificazione finale (agitatore e centrifuga per piastre da 96 pozzetti); software di interpretazione implementato su un PC dedicato e stampante, con garanzia degli aggiornamenti e dovrà essere interfacciato con i sistemi gestionali IBMDR e quello interno al laboratorio;

Si prega di indicare

1. Se si dispone di quanto in oggetto richiamato nelle condizioni sopra descritte;
2. Qualora ciascun Operatore Economico dovesse riscontrare divergenze tra le caratteristiche richieste e quelle possedute o divergenze dal punto di vista economico voglia cortesemente segnalare, accompagnando, se del caso, discrasie riscontrate da motivate considerazioni;
3. Si invita, altresì, a produrre, ove ne sussistano i presupposti, dichiarazione opportunamente documentata che attesti eventuali esclusività afferenti il prodotto da acquistare per ogni altra determinazione che questa Stazione Appaltante assumerà nel merito;
4. Prezzo indicativo di mercato.

Ciò per consentire a questa Amministrazione una mirata valutazione della procedura da attivare.

Si prega di voler dare riscontro alla presente con urgenza e comunque entro e non oltre il **03/11/2017**. a mezzo mail all'indirizzo [approvvigionamenti@ospedaliriunitipalermo.it](mailto:approvvigionamenti@ospedaliriunitipalermo.it). e all'indirizzo [e.furnari@villasofia.it](mailto:e.furnari@villasofia.it) Si precisa che il mancato invio delle segnalazioni ad entrambi gli indirizzi di posta elettronica sopra segnalati esonererà questa Stazione Appaltante in caso di eventuale mancato riscontro.

La presente solo al fine di espletare un indagine di mercato.

**Il Responsabile del Settore**  
**f.to Dott.ssa Lupo Antonina**