

Allegato A

Sistema macchina reattivi per la Tipizzazione Molecolare degli alleli HLA di classe I e II con tecnica di PCR-SSO Reverse e per Identificazione di anticorpi anti-HLA di classe I e II mediante tecnologia Luminex-xMAP3D

	Reattivi per Tipizzazione molecolare HLA PCR-SSO Reverse degli alleli HLA di classe I e II	Test annui
1	HLA-A bassa/media risoluzione	600
2	HLA-A alta risoluzione	60
3	HLA-B bassa/media risoluzione	600
4	HLA-B alta risoluzione	60
5	HLA-C bassa/media risoluzione	600
6	HLA-C alta risoluzione	60
7	HLA-DRB1 bassa/media risoluzione	600
8	HLA-DRB1 alta risoluzione	60
9	HLA-DRB3, -DRB4, -DRB5 bassa/media risoluzione	100
10	HLA-DQA1 bassa/media risoluzione	600
11	HLA-DQB1 media/alta risoluzione	600
12	HLA-DPA1 bassa/media risoluzione	100
13	HLA-DPB1 bassa/media risoluzione	100
14	Streptavidina coniugata con PE	6.000

	Reattivi per l'Identificazione di anticorpi anti-HLA di classe I e II	Test annui
1	Identificazione di anticorpi anti-HLA di Classe I mediante Tecnologia Luminex Single Antigen Beads	600
2	Identificazione di anticorpi anti-HLA di Classe II mediante Tecnologia Luminex Single Antigen Beads	600
3	Siero di Controllo Negativo	150
4	Anti IgG umane coniugate con PE	5000
5	Anti-immunoglobuline umane di isotipo IgM coniugate con PE, liofilizzate e specifiche per l'identificazione di anticorpi anti-HLA mediante tecnologia Luminex.	4000
6	Microsfere rivestite con frammenti Fc di immunoglobuline di isotipo IgM in grado di legare anti-immunoglobuline umane coniugate con PE, rilevabili dal Luminex come controllo positivo IgM.	200

Reattivi, Controlli, Materiale di consumo

Reattivi, calibratori, controlli e materiale di consumo (puntali, piastre, ecc.) in quantità adeguata al numero dei test sopra indicati per la Tipizzazione HLA di classe I e II e per l'Identificazione di anticorpi anti-HLA di classe I e II.

Sarà richiesto l'invio di n. 2 test per ciascuno dei suddetti reattivi da testare presso il Laboratorio utilizzatore per la verifica di qualità dei risultati e l'attribuzione del punteggio di qualità

Strumentazione richiesta

Uno strumento Luminex basato su Tecnologia xMAP 3D da banco, nuovo, aperto anche all'utilizzo di eventuali altre tipologie di reattivi non indicati sopra che utilizzino la stessa tecnologia, con lettura Laser

Computer, Monitor, Tastiera, Mouse, Stampante, Toner, Cavi di alimentazione, Cavo di comunicazione

USB
Software specifico di ultima versione, certificato CE/IVD, per l'acquisizione dei dati; Software di analisi dei dati acquisiti con capacità di trasferimento degli stessi al software gestionale LURTO in uso presso il Laboratorio del CRTL
Ampio range dinamico per determinare valori di fluorescenza molto bassi o molto alti
Doppia siringa di campionamento per velocizzare la processazione dei campioni
Kit di allineamento dell'altezza della sonda di campionamento
Piastra per la manutenzione automatica dello strumento
Blocchi di riscaldamento da 96 e 384
Linea di aspirazione per Sheath Fluid
Linea di uscita del liquido di scarto
Lettore bar-code
Gruppo di continuità e stabilizzatore di corrente
Server idoneo per il backup dei dati

Requisiti essenziali di ingresso per i Reattivi per Tipizzazione molecolare HLA PCR-SSO Reverse degli alleli HLA di classe I e II (da possedere tutti, pena esclusione)	
a)	Marcatura CE/IVD
b)	Microsfere fluorescenti rivestite con sonde oligonucleotidiche sequenza-specifiche per la tipizzazione a <u>bassa/media/alta risoluzione</u> degli alleli di classe I e II del Sistema HLA (loci HLA-A, -B, -C, -DRB1,3,4,5, -DQA1, -DQB1, -DPA1 e -DPB1), con metodica di PCR-SSO Reverse - tecnologia Luminex-xMAP3D
c)	Streptavidina coniugata con PE per la rilevazione del prodotto PCR biotinilato legato alle sonde specifiche mediante tecnologia Luminex-xMAP3D
d)	Procedura di PCR unica per tutti i loci

Requisiti essenziali di ingresso per i Reattivi per Identificazione di anticorpi anti-HLA di classe I e II (da possedere tutti, pena l'esclusione)	
a)	Marcatura CE/IVD, fatta eccezione dei reattivi 5 e 6.
b)	Microsfere fluorescenti rivestite con <u>singoli antigeni</u> HLA di classe I (HLA-A, -B, -C) o di classe II (HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, -DPB1) per l'identificazione, mediante tecnologia Luminex-xMAP3D, di anticorpi anti-HLA di isotipo IgG specifici per <u>tutte le molecole HLA sierologicamente definite</u>
c)	Siero di controllo negativo per test di identificazione di anticorpi anti-HLA mediante tecnologia Luminex-xMAP3D
d)	Anti-immunoglobuline umane di isotipo IgG e IgM coniugate con PE, liofilizzate, per l'identificazione di anticorpi anti-HLA mediante tecnologia Luminex-xMAP3D
e)	Microsfere rivestite con frammenti Fc di immunoglobuline di isotipo IgM in grado di legare anti-immunoglobuline umane coniugate con PE, rilevabili dal Luminex come controllo positivo IgM.

Requisiti essenziali di ingresso per lo strumento (da possedere tutti pena l'esclusione)	
a)	Marcatura CE/IVD
b)	Tecnologia xMAP3D (Multi Analyte Profiling)
c)	Compatibilità con le biglie MagPlex, MicroPlex, SeroMap, LumAvidin, MagPlex TAG
d)	Capacità di discriminazione di 500 microsferi
e)	Tempo di lettura di 20-25 minuti per piastra da 96 pozzetti
f)	Analisi di proteine e acidi nucleici
g)	Capacità di lettura da Piastre da 96 pozzetti o da 384 pozzetti
h)	Regolazione automatica altezza ago (sensore di livello)
i)	Compensazione automatica della viscosità per autoregolazione della fluidica
l)	Lettura con ottica Laser, APDs, PMTs
m)	Software di acquisizione di ultima versione, dotato di certificazione CE/IVD

Elementi valutabili (punti Max 70)

Elementi valutabili Strumento (punti max 3)		PUNTI
Q1	Possibilità di rilettura della piastra amplificata SI/NO (documentare)	0-1
Q2	Numero di raggi laser superiore a 2 SI/NO (documentare)	0-1
Q3	Versatilità del Software aperto alla modifica di parametri (documentare)	0-1

Elementi valutabili per Reattivi per Tipizzazione molecolare HLA PCR-SSO Reverse degli alleli HLA di classe I e II (max punti 26)		PUNTI
Q1	A parità di reattivo, valutazione del numero di esoni amplificati, della risoluzione della tipizzazione ottenuta e della capacità di definire la presenza e la specificità di alleli "null"(documentare)	0-2
Q2	Per le singole sonde utilizzate, descrizione della specificità allelica, del controllo di qualità e delle revisioni/aggiornamenti eseguiti dalla Ditta Produttrice (documentare)	0-1
Q3	Qualità dei risultati della prova di Laboratorio effettuata con utilizzo di campioni biologici provenienti dai controlli di qualità dell'ISS non inferiori al consensus ottenuto dagli stessi	0-10
Q4	Capacità del software di analisi di interpretare i dati acquisiti e di evidenziare: - sonde al limite, cioè che danno una risposta al limite del cutoff di positività - risposte delle singole sonde rispetto a quella ottenuta nei controlli di qualità eseguiti dalla Ditta produttrice - alleli comuni e rari SI/NO (documentare)	0-3
Q5	Capacità del software di analisi di generare file di export contenenti i dati della tipizzazione HLA ottenuti che possano essere trasferiti automaticamente nel software gestionale del Laboratorio SI/NO (documentare)	0-10

Elementi valutabili per i Reattivi per Identificazione di anticorpi anti-HLA di classe I e II (max punti 41)		PUNTI
Q1	Numero totale di specificità alleliche HLA di classe I e II coniugate con le biglie riconosciute in maniera non ambigua (documentare)	0-1
Q2	Possibilità di confrontare le specificità anticorpali evidenziate nei sieri dei pazienti nel corso del tempo in modo grafico e statistico e di effettuare l'analisi per epitopi e per gruppi CREG degli anticorpi evidenziati SI/NO (documentare)	0-1
Q3	Qualità dei risultati della prova di Laboratorio effettuata con utilizzo di campioni biologici provenienti dai controlli di qualità dell'ISS non inferiori al consensus ottenuto dagli stessi	0-26
Q4	Capacità del software di analisi di fornire il valore grezzo di MFI di ogni biglia SI/NO (documentare)	0-1

Q5	Capacità del software di analisi di valutare la percentuale di PRA, non solo riferita alla frequenza allelica delle specificità HLA presenti sulle biglie, ma anche riferita alla frequenza delle specificità HLA presenti nelle tipizzazioni di soggetti sani, rappresentative della popolazione di riferimento, inseribili nello stesso software di analisi SI/NO (documentare)	0-1
Q6	Capacità del software di analisi di riportare l'intensità di fluorescenza delle singole biglie testate con un siero in studio con quella delle stesse biglie testate con un siero di controllo negativo introdotto nel software di analisi SI/NO (documentare)	0-1
Q7	Capacità del software di analisi di generare file di export contenenti i dati dell'identificazione degli anticorpi anti-HLA ottenuti che possano essere trasferiti automaticamente nel software gestionale del Laboratorio SI/NO (documentare)	0-10