

FORNITURA DI REAGENTI IN NGS PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA CLONALITA' B e T

LOTTO 1: FORNITURA DI REAGENTI IN NGS PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA CLONALITA' B e T (ATTRAVERSO LO STUDIO DEI RIARRANGIAMENTI IgH, Igk,TCRg e TCRb) e PER LA DEFINIZIONE DELLO STATO MUTAZIONALE DEL GENE TP53

OBIETTIVO DELLA FORNITURA

La fornitura deve garantire al laboratorio di ematologia la **valutazione in NGS** della Malattia Minima Residua (MRD) nei pazienti con malattie linfoproliferative B e T e deve permettere la stratificazione prognostica del rischio attraverso la ricerca di mutazioni associate a prognosi sfavorevole.

CARATTERISTICHE DELLA FORNITURA:

La fornitura deve comprendere:

1. kit per la rilevazione di clonalita' B e T in base all'analisi dei loci IgH nelle regioni FR1, FR2, FR3, Igk, TCRg e TCRb
2. kit per la rilevazione della clonalità e dello stato ipermutazionale (SHM) del gene IGHV
3. Kit per la rilevazione dello stato mutazionale di P53

Validati sulla piattaforma NGS illumina MiSeq presente in laboratorio.

ULTERIORI DETTAGLI DELLA FORNITURA

Per i reagenti per lo studio di clonalita' B e T e per la rilevazione dello stato di ipermutazione somatica del gene IgHV si richiede inoltre alla ditta di fornire:

- kit per la quantificazione delle librerie,
- Taq validata
- Iscrizione al programma di certificazione di Qualità UK Neqas
- Validati nel flusso CE-IVD

1. CARATTERISTICHE MINIME DEI REAGENTI PER LO STUDIO DI CLONALITA' B e T

- Il Kit per lo studio di clonalità B e T validati sulla piattaforma NGS illumina MiSeq presente in laboratorio a partire da DNA (in particolare, i kit devono permettere l'individuazione di clonalità sul gene IgH, nelle regioni FR1, FR2 e FR3, nel gene Igk, nel gene TCRg e nel gene TCRb)
- Software di Analisi per valutazione delle clonalità CE-IVD stand-alone
- Software di Analisi per la valutazione della Malattia Minima Residua (MRD) stand-alone, con sistema per la valutazione dei replicati necessari a raggiungere la sensibilità desiderata
- I kit devono poter individuare e restituire la sequenza del clone emergente per permettere studi di valutazione di malattia minima residua successivi
- I kit devono essere completi di controlli positivi e negativi

2. CARATTERISTICHE MINIME DEI REAGENTI PER LA RILEVAZIONE DELLO STATO DI IPERMUTAZIONE SOMATICA DEL GENE IgHV

- Il kit deve permettere l'individuazione di clonalità sul gene IgH a partire da DNA e le eventuali mutazioni responsabili della ipermutazione somatica (SHM) dando una misura della loro entità
- Il kit deve poter individuare e restituire la sequenza del clone emergente per permettere studi di valutazione di MRD successivi
- Il kit deve essere completo di controlli positivi e negativi

3. CARATTERISTICHE MINIME DEI REAGENTI PER LO STUDIO DELLO STATO MUTAZIONALE DEL GENE P53

- Kit deve permettere rilevazione dello stato mutazionale di P53 volto ad identificare mutazioni puntiformi e piccole inserzioni/delezioni nelle regioni codificanti, nel promotore (5'UTR), nei siti di splicing e nelle regioni non codificanti presenti negli esoni 1 e 2.
- Kit validato da DNA estratto da sangue periferico, tessuti paraffinati, freschi o congelati.
- Kit validato sulla piattaforma NGS illumina MiSeq presente in laboratorio a partire da DNA
- Coverage compreso tra 500X e 1000X
- Certificazione CE-IVD
- Software di analisi certificato CE-IVD

LOTTO 2: FORNITURA DI REAGENTI IN NGS PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA CLONALITA' B (ATTRAVERSO LO STUDIO DEI RIARRANGIAMENTI IgH, Igk e Igl)

OBIETTIVO DELLA FORNITURA:

La fornitura deve garantire al laboratorio la valutazione in NGS della Malattia Minima Residua (MRD) nei pazienti con Mieloma Multiplo, garantendo la possibilità di raggiungere la sensibilità di 1 cellula neoplastica su un 100,000 cellule normali (10^{-5}), come previsto dalle linee guida internazionali.

CARATTERISTICHE DELLA FORNITURA

Kit che deve permettere la rilevazione della clonalità delle cellule B in base all'analisi dei loci IgH (VDJ), IgH (DJ) Igk e Igl e la rilevazione della clonalità e dello stato ipermutazionale (SHM) del gene IGHV.

ULTERIORI DETTAGLI DELLA FORNITURA

La fornitura deve comprendere tutti i reagenti necessari per l'esecuzione dell'intero processo di sequenziamento, ovvero:

- Kit per la pre-amplificazione e per l'amplificazione delle librerie validato sull'intero processo
- Esonucleasi validata sull'intero processo
- DNA controllo positivo validato sull'intero processo
- Biglie per la selezione dei frammenti di DNA validate sull'intero processo
- Kit per la quantificazione delle librerie validato sull'intero processo

- Iscrizione al programma di Certificazione di Qualità UK Neqas
- validati nel flusso CE-IVD

validati sulla piattaforma NGS illumina NextSeq500 presente in laboratorio.

CARATTERISTICHE MINIME DEI REAGENTI PER LO STUDIO DI CLONALITA' IN NGS

- Kit per lo studio di clonalità B validati sulla piattaforma NGS Illumina NextSeq500 presente in laboratorio a partire da DNA
- Software di gestione dei dati di sequenziamento e dei risultati di clonalità e misura della MRD
- I kit devono poter individuare e restituire la sequenza del clone emergente per permettere studi di valutazione di malattia minima residua successivi
- I kit devono includere primer che amplificano specifiche regioni genomiche diploidi per permettere la determinazione del numero totale di cellule nucleate
- I kit devono essere completi di controlli negativi
- I kit devono essere certificati CE-IVD per l'intero processo di determinazione della clonalità e misura della MRD
- I kit devono garantire una quantificazione della MRD fino a una sensibilità di 1 cellula tumorale su 100,000 cellule non tumorali (10^{-5}).