

## ALLEGATO B) AL CAPITOLATO TECNICO – Criteri e punteggi

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
1		Metodica SSP-PCR Real Time

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI/SOF TWARE MAX 15 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 55 PUNTI	Punteggio TOTALE
Risoluzione ambiguità. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano il minor numero di ambiguità di interpretazione. La valutazione del grado di ambiguità verrà eseguita anche dall'analisi dell'elenco delle ambiguità presentato dalle ditte	Max 5		5
Risultati comparabili con quelli ottenuti nella ricerca degli anticorpi con "single antigen bead".	Max 10		10
Possibilità di eseguire la PCR su un altro termociclatore e usare lo strumento di real time solo nella fase di acquisizione del dato.		Max 25	25
Tempi di esecuzione della metodica dal campione al risultato: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino la tempistica minore, valutati dal campione di DNA estratto al risultato finale, per singola tipizzazione.		Max 10	10
Semplicità del protocollo: verrà assegnato un punteggio più alto alla metodica che prevedere il minor numero di passaggi manuali e ridotto utilizzo di apparecchiature e strumentazione di supporto.		Max 20	20
	<b>15</b>	<b>55</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
2	2a) e 2b)	Metodica PCR- SSO reverse

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio STRUMENTO MAX 3 PUNTI	Punteggio REATTIVI MAX 15 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 44 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 8 PUNTI	Punteggio TOTALE
Impatto della soluzione progettuale proposta: utilizzo ottimale degli spazi saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino l'ingombro minimo	Max 3				3
Presenza di facilitatori per la identificazione dei kit di loci differenti: saranno valutati con punteggio più elevato i kit che presentino facilitatori per la identificazione dei loci differenti (es. codici colore)		Max 3			3
Tracciabilità dei lotti: saranno valutati con punteggio più elevato i kit che prevedano sistemi tracciabilità dei lotti differenti (es. codici a barre e lettore codici a barre)		Max 3			3
Potere di risoluzione del test: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino il maggior numero di sonde e la possibilità di escludere interferenze provenienti da sonde diverse		Max 9			9
Automazione: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino il maggior grado di automazione nella fase post-PCR, sulla base del numero di passaggi manuali richiesti dalla metodica			Max 20		20
Tempi di esecuzione della metodica dal campione al risultato: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino la tempistica minore, valutati dal campione di DNA estratto al risultato finale, per singola tipizzazione.			Max 12		12
Possibilità di rilettura delle reazioni di ibridazione anche a distanza di tempo			Max 9		9
Quantità di DNA necessaria per una reazione di PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano la minore quantità di DNA per l'allestimento di ogni reazione di PCR			Max 3		3
Il software deve poter riportare tutti gli alleli non definibili dal kit ma inseriti nella versione aggiornata a non più di un anno dell'elenco ufficiale degli alleli, disponibile nel sito specifico ( <a href="http://www.ebi.ac.uk/IMG/HLA">www.ebi.ac.uk/IMG/HLA</a> )				Max 3	3
Possibilità di interpretazione dei risultati anche con sonde che reagiscono in modo subottimale senza modificare il cutt-off				Max 5	5
	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>44</b>	<b>8</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
3	3a) 3b)	Metodica PCR- SSO reverse con tecnologia Luminex

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI MAX 34 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 14 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 18 PUNTI	Punteggio ASSISTENZA MAX 4 PUNTI	Punteggio TOTALE
<b>3a)</b> Ampiezza del pannello di specificità HLA riconosciute in maniera non ambigua ai diversi loci e al grado di risoluzione richiesto, anche in relazione alle frequenze popolazionistiche di riferimento	Max 10				10
<b>3a)</b> Numero di campioni eseguibili per ogni seduta di lavoro (tipizzazione loci HLA-A, B, C, DRB1): saranno valutati con punteggio più elevato i kit più performanti	Max 4				4
<b>3a)</b> Alta risoluzione. Analisi di altri esoni oltre l'esone 2° e 3° per la Classe prima e l'esone 2° per la Classe 2°, possibilità di definire la presenza e le specificità alleli Null: saranno valutati con punteggio più elevato i kit che consentano una maggior risoluzione su altri esoni e identificazione alleli Null	Max 5				5
<b>3a)</b> Tempi di esecuzione della metodica dal campione al risultato: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino la tempistica minore, valutati dal campione di DNA estratto al risultato finale, per singola tipizzazione.		Max 2			2
<b>3a)</b> Capacità di risoluzione delle ambiguità delle combinazioni alleliche con possibile identificazione di fase			Max 8		8
<b>3a)</b> Possibilità di filtrare gli alleli Comuni e CWD: saranno valutati con punteggio più elevato i software che permettano la creazione e l'implementazione di database di frequenze popolazionistiche da parte dell'operatore.			Max 8		8
<b>3*)</b> Possibilità di trasferimento dei dati al software gestionale IBMDR (Registro Nazionale Donatori di Midollo Osseo).			Max 2		2
<b>3b)</b> Ampiezza del pannello delle specificità HLA riconosciute, senza ambiguità. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che riconoscono il maggior numero di specificità HLA, senza ambiguità	Max 9				9
<b>3b)</b> Strategie di risoluzione delle ambiguità per la Classe I e II. Sarà valutata con punteggio più elevato la ditta che proponga delle strategie per la risoluzione delle ambiguità, compresi kit aggiuntivi che consentano di estendere il pannello delle specificità.	Max 6				6
<b>3b)</b> Possibilità di pre-trattare il siero per ridurre il background, che potrebbe impedire il rilevamento di una reazione debolmente positiva.		Max 7			7
<b>3b)</b> Sensibilità della metodica: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano la maggior sensibilità		Max 5			5
<b>Per tutto il lotto:</b> Tipologia, frequenza e tempistica di intervento di assistenza ordinaria e in urgenza				Max 4	4
	<b>34</b>	<b>14</b>	<b>18</b>	<b>4</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
4		Kit di purificazione con utilizzo di sfere magnetiche

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio STRUMENTAZIONE MAX 30 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 25 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 15 PUNTI	Punteggio TOTALE
Effettiva automazione del sistema nella esecuzione dei protocolli di purificazione delle PCR o rimozione terminatori marcati: saranno valutati con punteggio più elevato i sistemi che presentino il maggior grado di automazione sulla base del numero di passaggi manuali richiesti dalla metodica, dopo il caricamento dei reattivi sulla piattaforma		Max 10		10
Il software di gestione dello strumento deve essere semplice ed intuitivo: possibilità di creare nuovi protocolli di lavoro da parte degli operatori del Laboratorio			Max 15	15
Tempi di esecuzione della purificazione delle PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i protocolli che richiedano i tempi più brevi di purificazione di una piastra da 96 campioni		Max 7,5		7,5
Tempi di esecuzione della purificazione da terminatori marcati. Saranno valutati con punteggio più elevato i protocolli che richiedano i tempi più brevi di purificazione di una piastra da 96 campioni.		Max 7,5		7,5
Possibilità di utilizzare tutte le tipologie di puntali, provette e piastre presenti nel laboratorio	Max 10			10
Flessibilità del sistema di dispensazione: saranno valutati con punteggio più elevato le apparecchiature che dispensano volumi di liquidi con un range più ampio, dal più piccolo al più grande. (Es da 1µl a 1 ml)	Max 10			10
Sicurezza dell'operatore: facile accesso al piano di lavoro del sistema per la sua pulizia, dispositivi di smaltimento dei rifiuti liquidi o eliminazione dei puntali usati durante le sessioni di lavoro. Sistemi di sicurezza che proteggano l'operatore quando la stazione robotica è in funzione.	Max 5			5
Ingombro e dimensioni: saranno valutati con punteggio più elevato le apparecchiature di minori dimensioni e ingombro	Max 5			5
	<b>30</b>	<b>25</b>	<b>15</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
5	5a) 5b) 5c)	Metodica PCR- SSP

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI MAX 37 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 28 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 5 PUNTI	Punteggio TOTALE
<b>5a) 5b)</b> Risoluzione ambiguità. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano il minor numero di ambiguità di interpretazione. La valutazione del grado di ambiguità verrà eseguita anche dall'analisi dell'elenco delle ambiguità presentato dalle ditte stesse.	Max 10			10
<b>5a) 5b)</b> Aggiornamento alleli. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano il maggior aggiornamento degli alleli. La valutazione dell'aggiornamento degli alleli verrà eseguita dall'analisi del range degli alleli identificabili presentato dalle ditte.	Max 10			10
<b>5a) 5b)</b> Modalità di conservazione dei KIT. In base alla maggior disponibilità (numerica, di spazio) nel laboratorio, di determinate apparecchiature di stoccaggio dei reattivi a temperatura controllata (Frigo +4°C, o freezer -20°C), saranno valutati con punteggio più elevato i kit che possono essere conservati, secondo le dichiarazioni della ditta, con le caratteristiche delle apparecchiature maggiormente disponibili.	Max 7			7
<b>5a) 5b)</b> Quantità di DNA necessaria per una reazione di PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano la minore quantità di DNA per l'allestimento di ogni reazione di PCR		Max 7		7
<b>5a) 5b)</b> Modalità e tempi di conservazione dei prodotti di amplificazione. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che consentano il maggior tempo di conservazione dei prodotti di amplificazione prima del caricamento, secondo le modalità dichiarate dalla ditta		Max 3		3
<b>5a) 5b)</b> Tempi di esecuzione della PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di amplificazione		Max 7		7
<b>5a) 5b)</b> Modalità e tempi di elettroforesi per i prodotti di amplificazione. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di elettroforesi e modalità compatibili con le camere elettroforetiche in uso		Max 3		3
<b>5a) 5b)</b> Il software deve riportare tutti gli alleli non definibili dal kit ma inseriti nella versione aggiornata a non più di un anno dell'elenco ufficiale degli alleli, disponibile nel sito specifico ( <a href="http://www.ebi.ac.uk/IMGT/HLA">www.ebi.ac.uk/IMGT/HLA</a> ): Saranno valutati con punteggio più elevato i software che prevedono un aggiornamento per ogni nuova versione della nomenclatura, valutando anche la tempistica prevista per gli aggiornamenti.			Max 5	5
<b>5c)</b> Sensibilità: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano la maggior sensibilità	Max 5			5
<b>5c)</b> Specificità: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che abbiano la maggior specificità, intesa come percentuale di riconoscimento di sequenze alleliche relative ai loci HLA di I e II Classe	Max 5			5
<b>5c)</b> Tempi di esecuzione della PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di amplificazione		Max 2		2
<b>5c)</b> Modalità e tempi di elettroforesi per i prodotti di amplificazione. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di elettroforesi e modalità compatibili con le camere elettroforetiche in uso.		Max 2		2
<b>5c)</b> Semplicità d'uso e di interpretazione		Max 4		4
	<b>37</b>	<b>28</b>	<b>5</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
6		metodica SBT (sequencing based typing) - Loci HLA-A, B, C, DRB1

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI MAX 12 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 33 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 20 PUNTI	Punteggio ASSISTENZA MAX 5 PUNTI	Punteggio TOTALE
Metodica già adottata dal laboratorio: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che sono già stati utilizzati dal laboratorio, pertanto già standardizzati sulla strumentazione in uso e per i quali sono già presenti le procedure di validazione e le procedure operative della Federazione Europea di Immunogenetica (EFI)		Max 9			9
Protocollo e semplicità di esecuzione: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che prevedano il minor numero di passaggi (diluizioni, amplificazioni ecc)		Max 7			7
Protocollo e tempistica: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che prevedano la tempistica inferiore		Max 7			7
Tempi di esecuzione della PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di amplificazione		Max 5			5
Tempi di esecuzione della reazione di sequenza. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di reazione di sequenza		Max 5			5
Composizione del kit: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che presentano reattivi aggiuntivi come: controllo positivo, reattivi per purificazione delle reazioni di sequenza o altro.	Max 5				5
Possibilità di analizzare altri esoni oltre quelli richiesti e presenza di ulteriori primers inclusi nel kit per la risoluzione delle ambiguità	Max 7				7
Software di lettura e interpretazione dati. Saranno valutati con punteggio più elevato software che rispondano alle seguenti caratteristiche: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Semplicità di utilizzo del Software</li> <li>• Trasferimento automatico dei file di sequenza da analizzare dalla cartella di collegamento alla pagina di lavoro (senza doverli richiamare).</li> <li>• Archiviazione automatica del campione dopo la refertazione e facilità nel recupero del campione analizzato in caso di necessità.</li> <li>• Chiaro suggerimento e facilità di correzioni delle basi in caso di ambiguità nel basecalling.</li> <li>• Interfaccia utente semplice e immediato</li> <li>• Possibilità di leggere campioni sequenziati con kit differenti.</li> <li>• Alleli comuni e ben documentati: devono essere chiaramente indicati nel referto e distinguibili da quelli rari.</li> </ul>			Max 20		20
Possibilità di formazione e aggiornamento degli utilizzatori, con rilascio di attestazione di partecipazione				Max 5	5
	<b>12</b>	<b>33</b>	<b>20</b>	<b>5</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
7		metodica SBT (sequencing based typing) - Loci DQB1 – DPB1

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI MAX 12 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 33 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 20 PUNTI	Punteggio ASSISTENZA MAX 5 PUNTI	Punteggio TOTALE
Metodica già adottata dal laboratorio: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che sono già stati utilizzati dal laboratorio, pertanto già standardizzati sulla strumentazione in uso e per i quali sono già presenti le procedure di validazione e le procedure operative della Federazione Europea di Immunogenetica (EFI)		Max 9			9
Protocollo e semplicità di esecuzione: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che prevedano il minor numero di passaggi (diluizioni, amplificazioni ecc)		Max 7			7
Protocollo e tempistica: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che prevedano la tempistica inferiore		Max 7			7
Tempi di esecuzione della PCR. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di amplificazione		Max 5			5
Tempi di esecuzione della reazione di sequenza. Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che richiedano i tempi più brevi di reazione di sequenza		Max 5			5
Composizione del kit: Saranno valutati con punteggio più elevato i kit che presentano reattivi aggiuntivi come: controllo positivo, reattivi per purificazione delle reazioni di sequenza o altro.	Max 5				5
Possibilità di analizzare altri esoni oltre quelli richiesti e presenza di ulteriori primers inclusi nel kit per la risoluzione delle ambiguità	Max 7				7
Software di lettura e interpretazione dati. Saranno valutati con punteggio più elevato software che rispondano alle seguenti caratteristiche: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Semplicità di utilizzo del Software</li> <li>• Trasferimento automatico dei file di sequenza da analizzare dalla cartella di collegamento alla pagina di lavoro (senza doverli richiamare).</li> <li>• Archiviazione automatica del campione dopo la refertazione e facilità nel recupero del campione analizzato in caso di necessità.</li> <li>• Chiaro suggerimento e facilità di correzioni delle basi in caso di ambiguità nel basecalling.</li> <li>• Interfaccia utente semplice e immediato</li> <li>• Possibilità di leggere campioni sequenziati con kit differenti.</li> <li>• Alleli comuni e ben documentati: devono essere chiaramente indicati nel referto e distinguibili da quelli rari.</li> </ul>			Max 20		20
Possibilità di formazione e aggiornamento degli utilizzatori, con rilascio di attestazione di partecipazione				Max 5	5
	<b>12</b>	<b>33</b>	<b>20</b>	<b>5</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
8		metodica NGS (Next Generation Sequencing)

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri	Punteggio REATTIVI MAX 12 PUNTI	Punteggio METODICA MAX 15 PUNTI	Punteggio SOFTWARE MAX 43 PUNTI	Punteggio TOTALE
Formulazione di kit con loci addizionali	Max 2			2
Ampiezza delle regioni amplificate: verrà assegnato un punteggio più alto ai kit che consentono di amplificare le regioni di interesse con la maggior estensione, relativamente a regioni codificanti e non codificanti.	Max 10			10
Semplicità del protocollo: verrà assegnato un punteggio più alto alla metodica che prevede il minor numero di passaggi e ridotto utilizzo di apparecchiature e strumentazione di supporto.		Max 10		10
Tempi di produzione delle Library: verrà assegnato un punteggio più alto alla metodica che prevede tempi di produzione inferiori a 5 giorni lavorativi così come dichiarato nel protocollo d'uso		Max 5		5
Possibilità di ottenere un risultato a 4 campi, dal confronto di più algoritmi indipendenti di genotipizzazione.			Max 15	15
Possibilità di valutare e modificare il numero di reads ammesse all'analisi			Max 10	10
Possibilità di confronto dei risultati con dati di linkage disequilibrium			Max 10	10
Semplicità d'uso del software: metodo di valutazione rapido e intuitivo dei filtri di qualità			Max 8	8
	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>43</b>	<b>70</b>

Lotto	Sub	Descrizione della fornitura
9		Noleggio apparecchiature

Il punteggio di qualità (max 70 punti) sarà attribuito sulla base dei seguenti criteri:

Criteri Termociclatore	Punteggio TOTALE
Velocità riscaldamento/raffreddamento (4 pt)	Max 4
Accuratezza/uniformità della T blocco (4 pt)	Max 4
Display, interfacce e grado di interoperabilità (4 pt)	Max 4
	<b>12</b>

Criteri Estrattore DNA	Punteggio TOTALE
Compattezza ergonomia (2 pt)	Max 2
Alto grado di automazione (7 pt)	Max 7
Ridotti tempi di lavorazione (7 pt)	Max 7
Display, interfacce e grado di interoperabilità (2 pt)	Max 2
	<b>18</b>

Criteri Camera Elettroforetica	Punteggio TOTALE
Posizionamento pipette	Max 3
	<b>3</b>

Criteri Sistema fotodocumentazione digitale gels	Punteggio TOTALE
Alta risoluzione fotocamera (2 pt)	Max 2
Campo visivo (2 pt)	Max 2
Sistema sicurezza per emissioni UV (3 pt)	Max 3
	<b>7</b>

Criteri Assistenza	Punteggio TOTALE
Grado full risk (10 pt)	Max 10
Aggiornamento tecnologico (10 pt)	Max 10
Ridotti tempi fermo macchina (5 pt)	Max 5
Attrezzature in sostituzione (5 pt)	Max 5
	<b>30</b>