



**Politecnico
di Torino**

CAPITOLATO SPECIALE D'ONERI

Fornitura di un separatore e un dissociatore di tessuti

Progetto D³ 4 Health - cod. PNC0000001

AVVISO 931/2022 - Spoke 4

CUP B53C22005980001

II RUP

Ing. MARCO PELLOCHIU'



Sommario

1. PREMESSA/AMBITO SPECIFICO DELL' AFFIDAMENTO	3
2. OGGETTO DELL' AFFIDAMENTO, IMPORTO E DURATA.....	3
2.1. TEMPI E MODALITÀ DI CONSEGNA	4
3. CARATTERISTICHE TECNICHE MINIME.....	4
4. REQUISITI PER IL RISPETTO DEL PRINCIPIO "DNSH" (DO NO SIGNIFICANT HARM).....	10

1. PREMESSA/AMBITO SPECIFICO DELL’AFFIDAMENTO

- con Decreto Direttoriale del Ministero dell’Università e della Ricerca (MUR) n. 1986 del 9 dicembre 2022 è stata ammessa al finanziamento la proposta progettuale “Digital Driven Diagnostics, prognostics and therapeutics for sustainable Health care” - in breve D³ 4 Health, codice identificativo PNC0000001, CUP B53C22005980001, presentata in risposta all’Avviso pubblico n. 931 del 06/06/2022 del MUR per la presentazione di proposte progettuali per la concessione di finanziamenti destinati ad iniziative di ricerca per tecnologie e percorsi innovativi in ambito sanitario ed assistenziale, con l’obiettivo di mettere a sistema in chiave innovativa il potenziamento della ricerca sulle tecnologie abilitanti in ambito sanitario, al fine di migliorare la diagnosi, il monitoraggio e le cure, incluse quelle riabilitative, da finanziare nell’ambito del Piano nazionale per gli investimenti complementari al Piano nazionale di ripresa e resilienza (PNC);
- la proposta progettuale, di durata pari a 48 mesi, è stata presentata da Sapienza Università di Roma, in qualità di Soggetto proponente, e il Politecnico di Torino, come gli altri soggetti proponenti, ha sottoscritto la proposta, impegnandosi alla realizzazione delle attività di competenza dello Spoke 4, di cui è leader, e dello Spoke 3, a cui partecipa in qualità di affiliato;
- l’obiettivo dell’Iniziativa D³ 4 Health è quello di sviluppare digital and biological twins al fine di migliorare, attraverso un approccio di data mining, la cura delle patologie di riferimento: tumore del colon metastatico, tumore del fegato e delle vie biliari, cancro del sistema nervoso centrale, diabete di tipo I e sclerosi multipla;
- D³ 4 Health ha come ambizioso obiettivo quello di trasformare e superare le attuali metodologie di diagnosi, monitoraggio e terapia di alcune patologie a grande impatto sociale (patologie di riferimento dell’Iniziativa) per aumentare il benessere di cittadini e pazienti. L’iniziativa vuole favorire l’utilizzo di approcci di medicina di precisione, attraverso lo sviluppo di biological e digital twins. D³ 4 Health punta a migliorare ed impiegare tecnologie e soluzioni innovative non invasive, sfruttando l’analisi di dati sanitari digitali e digitalizzati.;

Nello specifico, il Politecnico di Torino è impegnato, in qualità di leader dello Spoke 4, nello sviluppo di “Biological and bioengineered in vitro models for care through Digital Twin approaches” e, in qualità di affiliato allo Spoke 3, nella realizzazione di “Wearable technologies, sensors and biomarkers for care through Digital Twin approaches” (il cui Spoke Leader è l’Università degli Studi di Roma “La Sapienza”).

2. OGGETTO DELL’AFFIDAMENTO, IMPORTO E DURATA

La trattativa, di cui alla presente lettera di invito, ha per oggetto l’affidamento di una fornitura di un separatore e un dissociatore di tessuti, le cui specifiche tecniche sono riportate nel successivo paragrafo 3.

L’importo massimo spendibile posto a base dell’affidamento è pari a euro 59.000,00 IVA esclusa.

Non sono previsti oneri per la sicurezza non soggetti a ribasso.

L’Affidatario dovrà eseguire la fornitura nel rispetto delle modalità e dei tempi descritti nel presente CSO, nel suo complesso, che dovranno essere in ogni caso garantiti nonché accettati incondizionatamente dall’operatore in fase di presentazione dell’offerta.



Nell'appalto si intendono compresi la consegna al piano, l'installazione, il collaudo, il training base, le prestazioni di manodopera, la fornitura dei materiali, l'uso dei macchinari ed ogni altro onere non specificatamente elencato, ma necessario per l'esecuzione a regola d'arte della fornitura oggetto dell'appalto.

2.1. TEMPI E MODALITÀ DI CONSEGNA

La consegna della fornitura dovrà essere completata entro 30 giorni lavorativi dalla stipula contrattuale.

L'installazione, il collaudo e il training base dovranno essere completati entro 10 giorni dalla data in cui si sono concluse le operazioni di consegna.

Per la consegna dovrà essere previsto un imballaggio idoneo allo scarico della merce, alla relativa movimentazione e atto a salvaguardare l'integrità dei prodotti a seconda della loro tipologia, quantità e volume di ingombro.

LA CONSEGNA, qualora ingombrante, deve essere effettuata su EUROPALLET 80X120 h max 18.

Consegna AL PIANO presso: PolitoBiomedLab - Corso Castelfidardo 30, 10129 Torino.

Riferimento per la consegna, da contattare almeno 2 giorni prima della consegna:

Prof.ssa Francesca Frascella, +393478533156, francesca.frascella@polito.it

Dott.ssa Giulia Mesiano +39 0110905363, giulia.mesiano@polito.it

3. CARATTERISTICHE TECNICHE MINIME

Le seguenti caratteristiche tecniche costituiscono requisiti tecnici minimi necessari e richiesti a pena di esclusione.

Per il separatore di cellule automatizzato da banco, nel seguito anche strumento per brevità, sono richieste le seguenti caratteristiche tecniche minime:

- nr. 1 strumento autoMACS NEO Separator
- nr. 1 MiniSampler S
- nr. 1 MACS Reagent Rack 8
- nr. 1 per tipologia: Chill 5, 15, 50 Rack Set
- Software di sistema
- Barcode reader interno
- nr. 1 confezione da 5x2 autoMACS Columns (colonne di separazione)
- 2x2 column substitutes (colonne di sostituzione, prive di matrice ferromagnetica)
- autoMACS NEO Buffer Combination: 3 x 1,5 L autoMACS® Washing Solution e 3x 1,5 L autoMACS® Running Buffer) nr. 1 Manuale d'Uso e istruzioni all'uso (User manual and short instructions)
- Garanzia per 12 mesi, manutenzione preventiva esclusa (One-year warranty)
- sistema di controllo degli accessi tramite username e password (user management system) e privilegi customizzabili;



- capacità di autolabeling per una svariata tipologia di reagenti;
- capacità di programmare e automatizzare i processi di manutenzione;
- capacità del software di calendarizzare l'utilizzo della macchina, pianificare e riservando slot temporali;

Lo strumento deve:

- intendersi ad esclusivo uso ricerca (RUO) che consente la marcatura e la selezione magnetica di un'ampia gamma di popolazioni cellulari
- permette di processare, per ogni singolo caricamento in colonna, fino a 10×10^6 cellule per secondo e selezionare da 10^5 a 2×10^8 cellule target
- possedere una funzione automatizzata di caricamento sequenziale in colonna, che consenta di manipolare fino a 28 mL di sangue intero o buffy coat, 42 mL di cellule mononucleate del sangue periferico (peripheral blood mononucleare cell, PBMC)
- al momento dell'installazione deve essere fornito di tutti i componenti ed accessori necessari al suo immediato funzionamento, con garanzia minima di 12 mesi
- utilizzare una tecnologia basata su immunoselezione magnetica che permetta l'isolamento di specifiche popolazioni cellulari attraverso un principio di separazione immunomagnetico e sulla base delle caratteristiche antigeniche delle popolazioni cellulari di interesse
- possedere le seguenti strategie di selezione: selezione positiva (Enrichment); deplezione; selezione multiparametrica da applicare anche in sequenza per sottopopolazioni cellulari
- poter separare sospensioni cellulari in modo completamente automatico processando fino a 6 campioni simultaneamente in una singola sessione, sia per arricchimento che per deplezione, a partire da diverse fonti di materiale biologico quali:
 - sangue periferico in toto "whole blood", senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - buffy coat (strato leucocitario-piastrinico) senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - aspirato midollare, detto anche "sangue midollare", senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - cellule mononucleate ottenute dal sangue periferico ("PBMC");
 - sangue cordonale o altri liquidi biologici;
 - sospensioni cellulari ottenute da tessuti tumorali o sani, freschi o congelati o da co-culture cellulari.



- permettere di ottenere la selezione della popolazione cellulare desiderata, consentendo il recupero sia della frazione positiva sia di quella negativa, indipendentemente dal campione di partenza.
- offrire programmi ottimizzati, specifici per ogni reagente ed applicazioni che possono essere focalizzati per aumentare la purezza o il recupero della popolazione di interesse. In alternativa deve essere possibile scegliere con flessibilità il programma di separazione, selezionando autonomamente il numero di passaggi in colonna (1 o 2 passaggi) e la velocità del flusso (0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 mL/minuto).
- offrire, al termine della separazione, una popolazione cellulare separata e compatibile con svariate applicazioni successive, quali:
 - l'uso immediato delle cellule separate e vitali per applicazioni a valle quali allestimenti di colture cellulari, saggi funzionali, analisi del chimerismo e citometria a flusso
 - la lisi delle cellule separate e l'utilizzo del materiale genetico, DNA e RNA, per incrementare sensibilità e specificità delle metodiche di biologia molecolare, quali l'analisi citogenetica con tecnica di FISH.
- garantire l'integrità del campione grazie al mantenimento in temperatura controllata durante la separazione cellulare, assicurando dunque un'eccellente integrità del campione, delle cellule separate e del loro contenuto nucleare, sia genomico che proteico

Lo strumento deve essere in grado di:

- processare più campioni (fino a 6) in serie simultanea a partire dal volume di campione
- isolare 2×10^8 cellule target a partire da un massimo di 4×10^9 per ciclo di isolamento, capacità che viene aumentata grazie alla funzione integrata di caricamento porzionato del campione, che viene gestita in maniera autonoma dallo strumento;
- processare il campione partendo da diverse fonti di materiale biologico;
- effettuare delle separazioni con marcatura positiva con successiva rimozione del reagente.
- effettuare le fasi di marcatura a temperatura controllata tra $+2^\circ\text{C}$ e $+8^\circ\text{C}$ e dotazione di porta provette;
- programmare protocolli di selezione immunomagnetica per selezione sia in positivo che in negativo per qualunque antigene, con la possibilità di recuperare tutte le frazioni cellulari, sia positiva che negativa;
- monitorare il corretto funzionamento dello strumento grazie alla presenza di sensori con allerta luminosa;



- scegliere tra diversi programmi di separazione in base al grado di espressione degli antigeni sulla superficie delle popolazioni cellulari da selezionare;
- effettuare una pulizia del sistema tra un campione ed il successivo e disinfezione a fine uso giornaliero dello strumento grazie a programmi automatici dedicati;
- effettuare separazioni in condizioni di sterilità installando lo strumento sotto cappe biologiche a flusso laminare in dotazione al laboratorio;
- eseguire automaticamente tutti i passaggi di selezione cellulare, ovvero: marcatura, separazione (utilizzando l'anticorpo coniugato alle microbiglie posizionato sul supporto per i reagenti) e lavaggi successivi alla selezione immunomagnetica per evitare rischi di cross-contaminazione
- leggere barcode relativi agli anticorpi coniugati alle microbeads;
- esportare un report di processo;
- utilizzare reagenti che non richiedono miscelazione o diluizione, poiché pronti all'uso;
- possibilità di usare lo stesso anticorpo coniugato a micro-biglie (ovvero con stesso nome commerciale e stesso codice) sia in automatico che in manuale nel caso di blocco del sistema automatico. In tal modo si garantisce la procedura di back-up manuale con prestazioni in termini di recupero e purezza cellulare paragonabili a quelle ottenute con procedura automatica (il reagente è identico);

Lo strumento deve poter essere applicato per:

- separazione ottimale di cellule bersaglio da campioni diagnostici;
- l'isolamento automatizzato di cellule B direttamente da campioni di sangue intero anticoagulato anche in pazienti con leucemia, linfoma o altre malattie ematologiche e con resistenza/recidiva dopo trattamento terapeutico (es. malattia minima residua). L'arricchimento delle cellule bersaglio fa una differenza significativa nella sensibilità del rilevamento di cellule maligne per saggi a valle, come il sequenziamento di nuova generazione o la citometria a flusso;
- arricchimento di cellule CD138 positive a partire da campioni di aspirato midollare e periferico di pazienti con mieloma multiplo, per incrementare la sensibilità e la specificità dell'analisi FISH successiva;
- Isolamento di cellule CD3, CD4, CD8, CD14, CD56, CD15, CD66b, CD19, CD34 CD33 direttamente da campioni di sangue intero e/o midollo di pazienti per incrementare la sensibilità necessaria alle analisi di chimerismo post-trapianto.
- isolamento di tutte le principali popolazioni immunologiche umane
- isolamento di linfociti T CD4+ e CD8+ e loro sottopopolazioni, monociti CD14+, linfociti B CD19+ e sottopopolazioni, cellule NK CD56+ , cellule dendritiche) da sangue intero e da PBMC da campioni sani



e patologici al fine di aumentare la sensibilità e specificità delle tecniche diagnostiche citogenetiche e molecolari;

- isolamento di leucociti infiltranti il tumore (cellule "TIL") da tumori umani e da tumori xenotrapiantati con un sistema immunitario umanizzato;
- isolamento di cellule staminali ematopoietiche CD34+ a partire da sangue intero e/o PBMC ottenute da sangue periferico, midollare e cordonale, da campioni sani e patologici;
- isolamento di cellule tumorali circolanti mediante deplezione di cellule CD45 e Glicoforina positive;
- isolamento di cancer stem cells da tessuti tumorali, utilizzando diverse tipologie di MACS Microbeads coniugate a specifici anticorpi, quali ad esempio CD133, CD44, CD24, LGR5;

Per la dissociazione di tessuti e l'omogeneizzazione sia di tessuti che di cellule lo strumento deve:

- offrire un flusso di lavoro completamente automatizzato e standardizzato adatto per la dissociazione in automatico di diversi tessuti e per la omogeneizzazione sia di tessuti che di cellule. La dissociazione/omogeneizzazione deve avvenire in un sistema chiuso e sterile che preservi la vitalità cellulare e gli epitopi di superficie;
- essere basato su una strategia standardizzata e riproducibile;
- essere da banco e permettere la dissociazione o l'omogeneizzazione completamente automatizzata e standardizzata di un massimo di otto campioni per la massima praticità, flessibilità ed efficienza;
- possedere tubi esclusivi per il processamento del campione, caratterizzati da peculiari rotor e stator che garantiscano al tempo stesso efficienza e delicatezza nei processi di dissociazione e omogeneizzazione grazie ad un sistema di chiusura del tubo sterilizzato che direziona correttamente il flusso del campione verso questi elementi. La dissociazione tramite questi tubi deve portare ad ottenere delle sospensioni di singole cellule con elevati livelli di recupero a partire da tessuti. Inoltre, deve essere possibile una volta terminata l'omogeneizzazione di tessuti o di cellule, isolare successivamente biomolecole, quali RNA o proteine e organelli sub-cellulari;
- permettere di processare da 1 campione fino ad un massimo di 8 campioni in maniera indipendente l'uno dall'altro.
- permettere completa automatizzazione nella preparazione di sospensioni cellulari da svariati tessuti per successive applicazioni quali separazione cellulare immunomagnetica, analisi citofluorimetriche, culture cellulari;



- permettere la possibilità di ottenere sospensioni cellulari vitali tramite dissociazione meccanica o enzimatica, incluse le incubazioni a 37°C. Il riscaldamento gestito dalle unità "Heaters" e deve poter essere attivato o inattivato, per ogni singola unità riscaldante, a seconda delle esigenze sperimentali
- garantire la possibilità di dissociazione ed omogeneizzazione a bassa temperatura grazie ad un dispositivo di raffreddamento passivo, progettato per mantenere basse le temperature dei campioni durante la dissociazione a freddo o l'omogeneizzazione, per tutti i laboratori che si concentrano sull'isolamento dei nuclei o sull'omogeneizzazione di campioni di tessuto per l'RNA totale, mRNA e proteine
- possedere almeno 40 programmi predefiniti e sviluppati specificatamente per omogeneizzazione o dissociazione dei diversi tessuti
- permettere all'utente di creare programmi di omogeneizzazione o dissociazione con facilità, partendo da suggerimenti o in completa autonomia
- dare la possibilità di effettuare una scelta più ampia fra le differenti velocità di rotazione utilizzate durante i processi di dissociazione/omogeneizzazione, ovvero tra una velocità di 20 rpm e 4000 rpm; in questo modo è possibile ottimizzare i risultati ottenuti da cellule più sensibili agli stress meccanici o fragili (es. campioni congelati o tessuti da dedicare all'analisi dell'RNA)
- permettere di preservare gli epitopi necessari ad analisi citofluorimetriche a valle e tabelle di compatibilità kit/epitopi sono disponibili;
- permettere di ottenere sospensioni cellulari anche da tessuti paraffinati per aumentare la sensibilità delle analisi molecolari a valle.
- permettere anche perfusione ex vivo di tessuti in maniera automatizzata con l'uso di enzimi per generare successivamente sospensioni di cellule singole vitali. Questo approccio può essere utilizzato per estrarre epatociti vitali dal fegato di roditore in modo conveniente, facile da usare e automatizzato per ottenere risultati riproducibili.
- permettere di utilizzare programmi definiti dall'utente per creare flussi di lavoro completamente automatizzati per tutti gli altri tipi di tessuto.

Lo strumento deve essere comprensivo di:

- kit per tessuti murini (Tumor, Neonatal o Adult brain, Neurospheres, Lamina propria (Colon), Lung, Spleen, Neonatal heart, Liver, Skeletal muscle, Epidermis, Adipose tissue, Prostate, Embryoid bodies);
- kit per tessuti umani (Tumor, Whole skin, Epidermis, Umbilical cord, Embryoid bodies, Kidney).



4. REQUISITI PER IL RISPETTO DEL PRINCIPIO “DNSH” (DO NO SIGNIFICANT HARM)

Le apparecchiature fornite dovranno garantire il rispetto del principio di non arrecare un danno significativo all’ambiente, “Do No Significant Harm” (DNSH) richiesto dalla Tassonomia ambientale del Reg. UE/852/2020.

Il Fornitore deve dimostrare che le apparecchiature siano conformi a quanto riportato nella Scheda n. 3 “Acquisto, Leasing e Noleggio di computer e apparecchiature elettriche ed elettroniche”, della Circolare MEF-RGS n. 33 del 13.10.2022 allegata al presente documento di cui è parte integrante.