

CHIARIMENTI AI QUESITI PERVENUTI IN DATA 23.09.2016 INERENTI LA:

Procedura aperta, in ambito europeo, per la fornitura di una Stazione di *Liquid Handling* robotizzata per colture cellulari, screening di farmaci con incubatore e lettore di micropiastre e di un sistema di High Content Screening - CONTO CAPITALE 2012 - CUP H63G13000090001- Responsabile scientifico dott. A. Budillon C.I.G. 674887757B.

Si riportano i chiarimenti di ordine tecnico acquisiti dal richiedente utilizzatore in ordine al **Capitolato Tecnico**

1) *Il capitolato tecnico a pag.3, nella descrizione della fornitura, indica che la stazione robotica deve essere posta all'interno di una cappa flusso laminare, mentre a pag.4 si indica come segue: " Si specifica che la strumentazione di cui al punto 1 dovrà essere posta all'interno di una cappa a flusso laminare con livello di sicurezza di classe II secondo le disposizioni legislative e regolamentari vigenti in materia". In merito a quanto esposto si chiede di chiarire in maniera esaustiva le reali necessità operative: a. manipolazione di microrganismi di gruppo I-II, esclusi i patogeni. b. manipolazione di microrganismi di gruppo II e di gruppo III.*

Si richiede una cappa di tipo II per la protezione dell'operatore in quanto si tratta di un sistema robotico con parti in movimento ed in quanto si manipoleranno molecole farmacologicamente attive inclusi chemioterapici.

2) *Con riferimento ai vostri chiarimenti del 13.09.2016 sulle considerazioni relative al primo punto: 1) "incubatore automatico per cellule Integrato al sistema di Liquid handling con almeno 200 posizioni e con controllo della CO2 e della temperatura" e la richiesta di una autorizzazione di poter inserire all'interno del sistema integrato un incubatore a 40 posizioni piastre invece di 200; sono parzialmente condivisibili e il sistema è accettabile con un incubatore a 40 posizioni anziché 200 come indicato nel capitolato . Si chiede di dettagliare quanti punti saranno attribuiti per la soluzione 200 posizioni piastra e quanti per la soluzione 40 posizioni piastra.*

Il punteggio attribuito sarà quello previsto dal disciplinare di gara pag 13 "caratteristiche tecniche e funzionali".

3) *Viste le nuove specifiche relative al n° di posizioni piastra dell'incubatore a CO2 (da 200 a 40 posizioni si presuppone che il throughput sia inferiore a quello iniziale) è possibile offrire il carousel per micropiastre e puntali monouso con una capacità pari a 40 micropiastre? Se si, anche in questo caso si chiede di dettagliare come sarà valutato il punteggio in un caso piuttosto che nell'altro.*

Il "carousel per micropiastre e puntali monouso deve essere di 200 posizioni" per il punteggio si rimanda sempre al disciplinare di gara pag 13 "caratteristiche tecniche e funzionali".

4) Si chiede di esplicitare le caratteristiche di shaking speed e dello shaking orbit dello shaker per micropiastre.

shaking speed deve essere di almeno 2500 rpm, **shaking orbit** di almeno 1,8 mm

5) Cosa si intende per “Sistema garantito per il mantenimento in sospensione delle cellule prima della fase di piastramento con controllo della temperatura.”? Si prega di dettagliare.

Durante la fase di piastramento la sospensione cellulare non deve depositarsi e soprattutto le cellule non devono subire shock termici. Per questo motivo si richiede un sistema che mantenga le cellule in sospensione (come se si “spipettassero”) e con controllo della temperatura.

6) Il sistema HCS deve essere dotato di controllo della concentrazione CO₂. Il controllo della CO₂ è necessario che sia attivo solo durante esperimenti di time-lapse o anche durante le normali operazioni di lettura di piastre multiple tramite l'utilizzo della robotica?

Il controllo della CO₂ deve essere attivo sia in esperimenti di time-lapse che nelle normali letture di piastre multiple mediante l'utilizzo della robotica indipendentemente dalla tecnica utilizzata (luminescenza, fluorescenza, bright field). L'operatore deve poter utilizzare il controllo della CO₂ in maniera semplice e controllata.

7) Cosa si intende esattamente con: “Acquisizione time-lapse, anche con possibilità di riporre la piastra in un incubatore esterno e di continuare l'acquisizione dopo ore, continuando l'esperimento sospeso. Il sistema deve includere funzioni di tracking per poter monitorare e identificare generazioni cellulari successive.”? Si prega di dettagliare sulla modalità di salvataggio e analisi dei file.

Le caratteristiche di riposizionamento del tavolo ottico in termini di precisione e accuratezza e le funzioni software devono consentire al sistema di ritrovare con massima certezza le stesse cellule, anche se la micropiastra è stata rimossa posizionata ed incubata in un dispositivo esterno, e successivamente riportata al lettore. Il software deve essere in grado di monitorare il movimento delle cellule individuandole con precisione e calcolando i parametri di spostamento (velocità e direzione) ed individuando fenomeni di duplicazione cellulare. L'esperimento dopo l'incubazione esterna, deve poter riprendere in modo completamente automatico, mediante l'identificazione univoca della micropiastra con lettura automatica, interna allo strumento, di etichetta barcode.

8) Nelle valutazioni qualitative si chiede di esplicitare le caratteristiche tecniche richieste per i seguenti punti:

a) “Strumentazione per colture cellulari comprendenti: Cappa a flusso laminare, incubatore a CO₂, centrifuga da banco refrigerata, microscopio invertito, bagnetto termostatico, conta cellule automatico, dispensatore digitale per la titolazione di farmaci”.

b) “Librerie di farmaci FDA approved di 3360 composti per testare in vitro quanto efficacemente essi inibiscono o uccidono le cellule in coltura, nonché per individuare le possibili interazioni farmacologiche”; Requisito incompleto si prega voler indicare l'elenco dei 3360 composti!

c) Lo “Starter Kit reagenti e consumabili per la rilevazione in luminescenza della vitalità cellulare sia per colture in 2D che in 3D per 36000 test” è da utilizzarsi con il sistema HCS o con il lettore multifunzione?

a) la strumentazione richiesta è quella base per un laboratorio di biologia cellulare:

-cappa a flusso laminare di sicurezza contro rischi biologici (biohazard) in classe II A, per la protezione dell'operatore, del prodotto e dell'ambiente; con zona di lavoro protetta da flusso laminare verticale. La protezione operatore-prodotto-ambiente dovrà essere ottenuta mediante filtrazione assoluta su filtri HEPA di tutta l'aria ricircolante ed espulsa dalla cabina. filtri assoluti HEPA H14 con efficienza 99,999 % con particelle di 0,3 micron.

-incubatore a CO₂, con sistema di regolazioni e allarmi a microprocessore con ampi display per una migliore visualizzazione all'interno del laboratorio. Riscaldamento a camicia d'aria o ad acqua, con campo di regolazione da +3° temperatura ambiente a +55°. Umidità costante 95% . Camera interna completamente in acciaio inossidabile, con angoli arrotondati per una più facile pulizia interna. Ripiani interni regolabili in altezza. Sistema di sterilizzazione.

-centrifuga da banco refrigerata, Motore ad induzione senza spazzole esente da manutenzione; velocità regolabile da 300 a 15.000 rpm, rampe di acc/dec programmabili. Preraffreddamento automatico, range di temperatura da -11 a +40. Adattatori per tubi falcon da 15 ml e da 50 ml.

-microscopio invertito, per luce trasmessa con illuminazione HAL 6V 25W; condensatore 0.4 oppure 0.2; con meccanismo coassiale micro e macrometrico in cui la messa a fuoco avviene con il revolver portaobiettivi; tubo binoculare impostabile su due altezze con oculare fisso ed uno regolabile; revolver portaobiettivi 5x; con tavolino portaoggetti predisposto per applicazione del guida oggetti con possibilità di impiegare diversi supporti di tenuta; con cursore per contrasto di fase.

-bagnetto termostatico, Dimensioni vasca interna 50x30x20 cm (\pm 5cm); temperatura da ambiente a 150°C; provvisto di rubinetto per scarico; coperchio piramidale inox; allarme di temperatura.

-conta cellule automatico, da banco progettato per misurare la conta cellulare e la vitalità con accuratezza e precisione. Compatible con una vasta gamma di dimensioni delle cellule e tipologie - conta linee di cellule, cellule primarie (dal tessuto o sangue), e cellule staminali capace di rilevare il numero di cellule vitali se colorate con Trypan blue; capace di archiviare e analizzare.

-dispensatore digitale per la titolazione di farmaci, per gli studi di dose-risposta, per la calibrazione degli standard, per saggi qPCR miniaturizzati, e altre applicazioni a basso volume di reagente; compatibile con piastre da 6 a 1536 pozzetti gestito da software in grado di formulare pattern di dispensazione di varie soluzioni con grande flessibilità. Tecnologie differenti saranno prese in considerazione e valutate.

b) per quanto riguarda la libreria di farmaci sono quelli approvati dall'FDA (Food and Drug Administration) e che sono normalmente commerciabili.

c) lo starter kit reagenti e consumabili è da intendersi per il lettore di micropiastre.

9) Per quanto concerne le considerazioni circa i locali ove è prevista l'installazione si rimanda al punto 3.1. del capitolato tecnico di gara