**ALLEGATO B**

Fascicolo ID 1801/2021 all. 52/2

 Milano, 14/02/2022

**OGGETTO: METODICA DI DECONTAMINAZIONE DEI BACILLI ALCOL ACIDO RESISTENTI SU CAMPIONE DIRETTO E UNA METODICA DI GENOTIPIZZAZIONE DELLE DIVERSE SPECIE DI MICOBATTERI COMPRENSIVO DI STRUMENTAZIONE.**

**Oggetto della fornitura:**

Si intende acquisire per la Struttura Complessa Microbiologia Clinica Ospedale Metropolitano Niguarda una metodica di decontaminazione dei bacilli alcol acido resistenti su campione diretto e una metodica di genotipizzazione delle diverse specie di micobatteri comprensivo di strumentazione.

L’obiettivo è quello di sondare il mercato al fine di individuare le ditte in grado di fornire un prodotto con tali caratteristiche.

**Caratteristiche minime dei reagenti per la decontaminazione**

* prodotto per la fluidificazione e decontaminazione a base di N-acetil-L-cisteina ad una concentrazione del 3%, con indicatore di PH integrato, per rendere visibile la reazione di neutralizzazione;
* tampone per la neutralizzazione, adatto sia per indagini colturali che molecolari, che possa garantire la sopravvivenza dei micobatteri;
* buffer di risospensione, che possa garantire un PH neutro;
* prodotto aggiuntivo con acido ossalico al 5% per i campioni contaminati da Pseudomonas spp.;

**Caratteristiche minime dei reagenti e degli strumenti per la genotipizzazione**

* Sistema termostato in completa automazione per metodiche di ibridazione inversa su strip
* Marcatura CE-IVD di tutti gli assays con tecnica di amplificazione genica e ibridazione inversa su strip e reagenti di estrazione
* Tutti i diversi assays di genotipizzazione devono essere completi di mix ed enzimi pronti all’uso
* Reagenti di estrazione rapidi di DNA batterico validati per tutti gli assays della fornitura
* Il protocollo di ibridazione inversa su strip deve essere comune a tutti gli assay per essere eseguito in contemporanea
* Tutte le strip devo essere dotate di controllo della presenza di dispensazione del coniugato
* Assays per la valutazione delle resistenze di *M. tuberculosis complex*:
	+ Identificazione da colture batteriche e da campione clinico respiratorio con microscopia positiva o negativa
	+ Primo livello: mutazioni resistenza rifampicina (gene rpoB) e isoniazide (geni KatG e InhA)
	+ Secondo livello: mutazioni resistenza a fluorochinoloni (gene gyrA) e aminoglicosidi (geni rrs e eis)
* Assay per la differenziazione di specie di *M. tuberculosis complex:*
	+ Identificazione da coltura batterica di *M. tuberculosis, M. africanum, M. bovis subsp. bovis, M. bovis subsp. BCG, M. bovis subsp. caprae*
* Assay per identificazione e resistenze *M. avium complex* (MAC) e *M. abscessus complex* (MABC):
	+ Identificazione da coltura batterica di *M. avium, M. chimarea* e *M. intracellulare* con resistenze a macrolidi e aminoglicosidi
	+ Identificazione da coltura batterica di *M. abscessus subsp. abscessus, M. abscessus subsp. bollettii e M. abscessus subsp. massiliense* e resistenze a macrolidi (compresa quella inducibile data dal gene erm) e aminoglicosidi.
	+ Controllo interno incluso in fase di estrazione
* Assays per identificazione di *M. tuberculosis complex* e altri micobatteri non tubercolari (NTM):
	+ Identificazione da coltura batterica di *M. tuberculosis complex* e di almeno altre 30 specie di NTM tra cui: *M.avium ssp., M. chelone, M. abscessus ssp., M. fortuitum, M. gordonae, M. intracellulare, M. scrofulaceum, M. interjectum, M. kansasii, M. malmoense, M. haemophilum, M. marinum, M. ulcerans, M. peregrinum, M. xenopi, M. simiae, M. mucogenicum, M. celatum, M. lentiflavum, M. szulgai/M. intemedium, M. phlei.*
	+ Controllo interno incluso in fase di estrazione
* Assay per identificazione di *M. tuberculosis complex* e altri micobatteri non tubercolari (NTM) da campione respiratorio:
	+ Identificazione di M. tuberculosis complex e di almeno altre 13 specie di NTM tra cui: *M.avium ssp., M. chelone, M. abscessus ssp., M. fortuitum, M. gordonae, M. intracellulare, M. kansasii, M. malmoense, , M. xenopi*
	+ Controllo interno incluso in fase di estrazione

**Previsione di consumo annuo**

* Reagenti di decontaminazione: 6500 campioni anno
* Resistenze primo livello *M. tuberculosis complex* : 288 campioni anno
* Resistenze secondo livello *M. tuberculosis complex* : 15 campioni anno
* Identificazione di specie del *M. tuberculosis complex*: 24 campioni anno
* Identificazione e resistenze MAC e MABC: 144 campioni anno
* Identificazione NTM frequenti da colonia: 450 campioni anno
* Identificazione NTM rari da colonia: 24 campioni anno
* Identificazione NTM da campione respiratorio: 12 campioni anno