



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA  
Policlinico "Gaetano Martino" di Messina

Profilo del committente : [www.polime.it](http://www.polime.it)

**Procedura aperta sopra soglia, suddivisa in n. 6 lotti, per la fornitura in service quinquennale di apparecchiature diagnostiche di laboratorio e del relativo materiale di consumo in regime di somministrazione. N. GARA 7442559.**

#### CHIARIMENTI (4)

##### 1) **Quesito**

Con riferimento al lotto n. 3, si evidenzia che le specifiche indicate nel modulo "offerta economica" risultano così stringenti da non garantire la più ampia partecipazione.

Si chiede, pertanto, l'eliminazione del seguente requisito:

"B) Provetta coattate con antigeni tubercolari per la stimolazione dei linfociti CD8+".

##### **Risposta**

Di seguito si precisano le motivazioni tecniche e scientifiche che sono alla base delle indicazioni delle caratteristiche tecniche del lotto n. 3 da parte della U.O.C. di Microbiologia della AOU "G. Martino", soprattutto per quanto riguarda il requisito *B) Provetta coattata con antigeni tubercolari per la stimolazione dei linfociti CD8+* che viene contestato in quanto ritenuto "non indispensabile" per la prestazione diagnostica per la quale viene richiesto ed addirittura idoneo ad identificare un "Unico Operatore Economico" in contrasto con i principi di concorrenza, buon andamento dell'amministrazione, ragionevolezza e proporzionalità, sanciti dall'art. 30 del codice degli appalti.

Da circa 3 anni il test su sangue intero per la formulazione della diagnosi di Infezione Tubercolare Latente (LTBI) ha subito un aggiornamento con l'inserimento di una ulteriore provetta di raccolta del sangue intero; il precedente test diagnostico era composto da 3 tubi di raccolta di cui due rappresentavano il controllo negativo e positivo, mentre il terzo era quello dedicato alla stimolazione della produzione di IFN-gamma da parte dei linfociti T CD4+ grazie alla presenza nel tubo di raccolta del sangue intero di tre lunghi peptidi tubercolari denominati ESAT-6, CFP-10 e TB7.7 (quest'ultimo non fa più parte dello stesso tubo di raccolta che viene fornito adesso nel nuovo test aggiornato ma il cui ruolo è attualmente oggetto di studio).

La nuova formulazione diagnostica prevede appunto l'utilizzo di un quarto tubo di raccolta composto da un cocktail di corti peptidi di ESAT-6 e CFP-10 (non definibili "parziali" come citato dalla Ditta) che, proprio grazie a questo tipo di formulazione, sono in grado di determinare la produzione di IFN-gamma da parte dei linfociti T CD8+ citotossici (e non pertanto di dare luogo a falsi negativi) che sono emersi, in studi recenti, come una componente importante nella risposta immune dell'ospite per il controllo dell'infezione da *M. tuberculosis* in soggetti con esame microscopico positivo e infezione tubercolare attiva.

L'utilizzo di questa ulteriore provetta, grazie alla sua capacità ad indurre una risposta da

parte dei linfociti T CD8+, può essere molto importante in condizioni di immunodepressione derivante da un impoverimento dei linfociti T CD4+.

In linea con quanto affermato, uno studio di recente pubblicazione ha dimostrato che l'infezione da virus HIV, che come è ormai noto determina una severa compromissione immunitaria dell'ospite con un'accentuata diminuzione dei linfociti CD4+, non riduce la sensibilità di questo test di quarta generazione nella rilevazione della risposta nei confronti di una infezione tubercolare attiva o latente consentendo quindi una valida effettuazione della prestazione diagnostica altrimenti non attuabile vista la deplezione linfocitaria della componente cellulare CD4+ causata da questa malattia; inoltre il paragone fra questo test e quello di terza generazione (basato sulla presenza di 3 tubi invece di 4) in soggetti HIV in associazione con la presenza di infezione tubercolare ne dimostra una più elevata sensibilità.

La specificità degli antigeni tubercolari contenuti in questo quarto tubo di raccolta nei confronti dei linfociti T CD8+ è stata confermata da uno studio di citometria, che ha dimostrato che questi corti frammenti peptidici erano in grado di legarsi ed indurre la stimolazione di IFN-gamma sia in presenza di tubercolosi attiva (44%) che di LTBI (11%). Circa il 25% della popolazione globale presenta una LTBI e di questa percentuale circa il 10% si può trasformare in uno stato di tubercolosi attiva in presenza di fattori di rischio come l'HIV, terapie immunosoppressive, emodialisi, trapianti d'organo, diabete ed alcolismo. Inoltre è stato visto che i linfociti T CD8+, oltre a rivestire un ruolo importante per il controllo della carica micobatterica, sono in grado di proliferare in presenza di micobatteri in attiva replicazione per poi ridursi nel corso della terapia antitubercolare; pertanto lo studio diagnostico della risposta CD8+, oltre quella dei linfociti T CD4+, potrebbe rappresentare un utile strumento per monitorare l'efficacia della terapia antitubercolare.

Un altro impiego importante riguarda lo screening della LTBI nei pazienti affetti da malattie intestinali e reumatiche su base immunitaria che sono candidati potenziali per l'impiego di nuove terapie con farmaci cosiddetti "biologici". Anche in questo caso l'indagine diagnostica su linfociti T CD8+ è importante per chiarire i risultati ottenuti con il test basato su sole 3 provette che ricadono frequentemente nella zona cosiddetta "grigia" del test con valori compresi intorno al limite inferiore del saggio diagnostico.

Un'ulteriore motivazione che ha portato l'U.O.C. di Microbiologia a scegliere il test basato su quattro tubi di raccolta riguarda la sua elevata sensibilità in pazienti pediatrici colpiti da tubercolosi polmonare; in questi soggetti, anche se la maggior parte dei risultati positivi sono stati identificati grazie all'impiego di entrambi i tubi di raccolta, una significativa percentuale di positività è stata trovata grazie all'impiego del quarto tubo di raccolta.

Infine, mentre il test con quattro provette permette la raccolta del sangue intero in un tubo contenente litio/eparina per poi essere smistato nei quattro tubi (cosa che può pertanto essere fatta anche nel laboratorio qualora venga fatta pervenire la sola provetta eparinata) questa pratica non è prevista nel test con 3 sole provette.

Per le motivazioni tecnico-scientifiche specificate dal Direttore dell'U.O.C. di Microbiologia si conferma pertanto quanto previsto nel capitolato tecnico e nell'offerta economica ed, in particolare, l'inserimento del tubo di raccolta di sangue intero contenente antigeni peptidici in grado di stimolare la produzione di IFN-gamma da parte dei linfociti T CD8+.

Il Responsabile del procedimento

*f.to Dott.ssa Veronica Nicosia*