

C.H.U. de Clermont-Ferrand
Direction du Laboratoire
58 rue Montalembert
63000 Clermont-Ferrand

**CAHIER DES CLAUSES TECHNIQUES
PARTICULIERES**

C.C.T.P. N° 24-GHTA-0117 du 01/10/2024

Établi en application du Code de la commande publique relatif à :

**Fourniture de réactifs de séquençage NGS et prestations de bio-informatique
associées pour le laboratoire du C.H.U. de Clermont-Ferrand**

SOMMAIRE

A.	1
SOMMAIRE	2
ARTICLE 1 - OBJET DU MARCHÉ	4
A. OBJET DU MARCHÉ	4
B. ALLOTISSEMENT	4
ARTICLE 2 - DEFINITIONS DU BESOIN, FORMATIONS ET ACCOMPAGNEMENT A L'ACCREDITATION	5
A. LOT 1 : HEMATOLOGIE : FOURNITURE REACTIFS ET SOLUTION D'ANALYSE DES DONNEES POUR LE SEQUENÇAGE NGS APPLIQUE AUX HEMOPATHIES MYELOÏDES ET LYMPHOMES T	5
1) <i>Détail de l'activité</i>	5
2) <i>Contenu de l'offre attendue :</i>	6
3) <i>Caractéristiques générales :</i>	6
4) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	7
5) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	7
B. LOT 2 : CYTOGENETIQUE : FOURNITURE DE REACTIFS ET D'UNE SOLUTION D'ANALYSE BIO-INFORMATIQUE DES FASTQ DU NGS POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS IMPLIQUEES DANS LES HEMOPATHIES LYMPHOÏDES B	8
1) <i>Détail de l'activité</i>	8
2) <i>Contenu de l'offre attendue :</i>	8
3) <i>Caractéristiques générales :</i>	8
4) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	9
5) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	9
C. LOT 3 : CYTOGENETIQUE : ANALYSE BIO-INFORMATIQUE DES FASTQ DU NGS POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS TP53 ET BCR-ABL	9
1) <i>Détail de l'activité</i>	9
2) <i>Caractéristiques générales :</i>	9
3) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	10
4) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	10
D. LOT 4 : ANATOMIE PATHOLOGIQUE : FOURNITURE DE REACTIFS DE PREPARATION DE LIBRAIRIES PAR CAPTURE ET D'UNE PRESTATION BIO-INFORMATIQUE POUR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DE MUTATIONS SOMATIQUES ET LA DETECTION DU STATUT MICRO-SATELLITAIRE (MSI) DANS LES TUMEURS SOLIDES A PARTIR DE PRELEVEMENTS FIXES ET INCLUS EN PARAFFINE PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT.	11
1) <i>Détail de l'activité</i>	11
2) <i>Caractéristiques générales :</i>	11
3) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	12
4) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	12
E. LOT 5 ANATOMIE PATHOLOGIQUE : FOURNITURE DE REACTIFS DE PREPARATION DE LIBRAIRIES PAR CAPTURE ET D'UNE PRESTATION BIO-INFORMATIQUE POUR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DE MUTATIONS SOMATIQUES ET LA DETECTION DU STATUT MICRO-SATELLITAIRE (MSI) SUR PRELEVEMENTS SANGUINS PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT.	12
1) <i>Détail de l'activité</i>	12
2) <i>Caractéristiques générales :</i>	13
3) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	13
4) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	14
F. LOT 6 ANATOMIE PATHOLOGIQUE : FOURNITURE DE REACTIFS DE PREPARATION DE LIBRAIRIES PAR CAPTURE ET D'UNE PRESTATION BIO-INFORMATIQUE POUR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DE MUTATIONS SOMATIQUES DES GENES IMPLIQUES DANS LA RECOMBINAISON HOMOLOGUE DANS LES TUMEURS SOLIDES A PARTIR DE PRELEVEMENTS FIXES ET INCLUS EN PARAFFINE PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT.	14
1) <i>Détail de l'activité</i>	14
2) <i>Contenu de l'offre attendue :</i>	14
3) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	15
4) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	15
G. LOT 7 : ANATOMIE PATHOLOGIQUE : FOURNITURE DE REACTIFS ET D'UNE PRESTATION BIO-INFORMATIQUE POUR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DES REARRANGEMENTS DES GENES DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES LYMPHOPROLIFERATIONS B AINSI QUE DES REARRANGEMENTS DES GENES DU RECEPTEUR T DANS LES LYMPHOPROLIFERATIONS T PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT. DETAIL DE L'ACTIVITE	15
5) <i>Contenu de l'offre attendue et caractéristiques générales :</i>	15
6) <i>Formations utilisateurs et référents</i>	16
7) <i>Accompagnement à l'accréditation</i>	16

H.	LOT 8 GENETIQUE MOLECULAIRE : FOURNITURE DE REACTIFS ET D'UNE PRESTATION BIO-INFORMATIQUE POUR LA PREPARATION DE LIBRAIRIES D'EXOMES HUMAINS ET L'ANALYSE DU SEQUENÇAGE A HAUT-DEBIT DE CES LIBRAIRIES.	16
1)	Détail de l'activité.....	16
2)	Caractéristiques générales	17
3)	Formations utilisateurs et référents	18
4)	Accompagnement à l'accréditation	18
ARTICLE 3 : COMMANDES ET LIVRAISONS POUR TOUS LES LOTS.....		19
A.	COMMANDE DES REACTIFS OU RECHARGE POUR ANALYSES BIO-INFORMATIQUES.	19
B.	DELAI DE LIVRAISON DES REACTIFS	19
C.	LIEU DE LIVRAISON	19
ARTICLE 4 : MAINTENANCE :		19
ARTICLE 5 : NOUVELLE VERSION DES REACTIFS		19
ARTICLE 6 : REACTIFS ET CONSOMMABLES.....		19
A.	CONFORMITE DES REACTIFS ET CONSOMMABLES.....	19
ARTICLE 7 : CONTRAINTES D'ENVIRONNEMENT		21
A.	CONTRAINTES THERMIQUES ET ENVIRONNEMENTALES :	21
B.	CONTRAINTES INFORMATIQUES GENERALES :	21
ARTICLE 8 : HYGIENE, SECURITE ET ASSURANCE		21
A.	HYGIENE SECURITE :.....	21
ARTICLE 9 : INTERLOCUTEURS		22

Article 1 - Objet du marché

A. Objet du marché

Le présent marché a pour objet la fourniture de réactifs de séquençage NGS et prestations de bio-informatique associées pour le laboratoire du C.H.U. de Clermont-Ferrand.

Lieux d'exécution du marché :
CHU CLERMONT-FERRAND

Service	Adresse
Hématologie	1 place Lucie et Raymond Aubrac 63003 Clermont-Ferrand cedex 1
Cytogénétique	1 place Lucie et Raymond Aubrac 63003 Clermont-Ferrand cedex 1
Anatomie pathologique	1 place Lucie et Raymond Aubrac 63003 Clermont-Ferrand cedex 1
Biochimie et génétique moléculaire	Centre de Biologie, 3eme étage, 58 Rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand.

B. Allotissement

Le marché est composé de 8 lots.

Lot(s)	Désignation
1	Hématologie: Fourniture réactifs et solution d'analyse des données pour le séquençage NGS appliqué aux hémopathies myéloïdes et Lymphomes T
2	Cytogénétique : Fourniture des réactifs et d'une solution d'Analyse bio-informatique des FASTQ du NGS pour la recherche de mutations impliquées dans les hémopathies lymphoïdes B
3	Cytogénétique : Analyse bio-informatique des FASTQ du NGS pour la recherche de mutations TP53 et BCR-ABL
4	Anatomie pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de bibliothèques par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés et inclus en paraffine par séquençage haut débit
5	Anatomie pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de bibliothèques par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) sur prélèvements sanguins par séquençage haut débit.
6	Anatomie pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de bibliothèques par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques des gènes impliqués dans la recombinaison homologe dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés et inclus en paraffine par séquençage haut débit.
7	Anatomie pathologique : Fourniture de réactifs et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification des réarrangements des gènes des immunoglobulines dans les lymphoproliférations B ainsi que des réarrangements des gènes du récepteur T dans les lymphoproliférations T par séquençage haut débit.
8	Génétique moléculaire : Fourniture de réactifs et d'une prestation bio-informatique pour la préparation de bibliothèques d'exomes humains et l'analyse du séquençage à haut-débit de ces bibliothèques.

Article 2 - Définitions du besoin, Formations et Accompagnement à l'accréditation

A. Lot 1 : Hématologie : fourniture réactifs et solution d'analyse des données pour le séquençage NGS appliqué aux hémopathies myéloïdes et Lymphomes T

1) Détail de l'activité

La prise en charge des pathologies myéloïdes a été bouleversée par les avancées dans les techniques de biologie moléculaire, qui ont permis une caractérisation moléculaire précise des hémopathies. Aujourd'hui, la prise en charge des patients atteints d'hémopathies myéloïdes nécessite de plus en plus souvent le recours à une évaluation NGS, qui permet, selon les cas :

- D'identifier des anomalies génétiques permettant de confirmer le diagnostic, par exemple chez les patients avec suspicion de syndromes myéloprolifératifs (SMP) non porteurs des mutations drivers classiques ou des cytopénies idiopathiques. Aussi, dans certaines maladies plus rares comme la mastocytose, la leucémie chronique à neutrophile (LCN), la leucémie chronique myéloïde atypique (LMCa) ou encore les aplasies médullaires, le NGS permet de préciser le diagnostic par la mise en évidence de mutations spécifiques de pathologies (par exemple SETBP1 ou/et ETNK1 pour les LMCa).
- De classer la pathologie, comme par exemple la présence d'une mutation SF3B1 associée aux SMD avec sidéoblastes en couronnes selon la classification de l'OMS 2022.
- D'identifier des cibles de thérapie ciblée (ex : inhibiteurs d'IDH1/2)
- D'apporter des éléments pronostiques et ainsi adapter la stratégie thérapeutique. Par exemple la prise en charge des Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) et le choix de la réalisation d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques s'appuient aujourd'hui sur le statut mutationnel de nombreux gènes. Dans ces pathologies des mutations au sein des gènes NPM1, FLT3, CEBPA, ASXL1, TP53, RUNX1, BCOR EZH2, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 ou ZRSR2 sont associés à un pronostic défavorable.

Les gènes d'intérêt sont relativement distincts entre les hémopathies myéloïdes et lymphoïdes, mais certaines lymphopathies comme les lymphomes T présentent des mutations communes avec les hémopathies myéloïdes. Ainsi, nous avons choisi de développer un panel commun hémopathies myéloïdes / lymphomes T.

Ce panel devra comprendre les cibles suivantes :

Modifications épigénétiques	Gène	ASXL1	ASXL2	DNMT3a	EZH2	IDH1	IDH2	TET2			
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_015338 ; 9, 11, 12, 14	NM_018263 ; 11 & 12	NM_022552 ; Full	NM_004456 ; Full	NM_005896 ; 4	NM_002168 ; 4	NM_017628 ; Full			
Spliceosome / Epissage	Nom du gène	SF3B1	SRSF2	U2AF1	ZRSR2						
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_012433 ; 10-16	NM_003016 ; 1	NM_006758 ; 2 & 6	NM_005089 ; Full						
Signaux d'activation	Nom du gène	CSF3R	FLT3	JAK2	KIT	MPL					
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_000760 ; Full	NM_004119 ; 13-15 & 20	NM_004972 ; Full	NM_000222 ; 2, 8-11, 13, 17-18	NM_005373 ; 10					
Voies de signalisation	Nom du gène	ABL	BRAF	HRAS	KRAS	NRAS	PTPN11	ETNK1	PPM1D		
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_005157 ; 4-9	NM_004333 ; 15	NM_005343 ; 2 & 3	NM_004985 ; 2 & 3	NM_002524 ; 2 & 3	NM_002834 ; 3, 7-13	NM_018638 ; 3	NM_003620 ; 6		
Facteurs de transcription	Nom du gène	CEBPa	ETV6	RUNX1	SETBP1	WT1	GATA2	BCOR	BCORL1	IKZF1	STAT3
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_004364 ; Full	NM_001987 ; Full	NM_001754 ; Full	NM_015559 ; 4	NM_024426 ; 6-10	NM_032638 ; Full + intron 4	NM_001123385 ; Full	NM_021946 ; Full	NM_006060 ; Full	NM_139276 ; 20 & 21
Complexe de la cohesin	Nom du gène	STAG2	SMC3	SMC1A							
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_001042750 ; Full	NM_005445.4 ; Full	NM_006306 ; Full							
Autres	Nom du gène	CALR	CBL	NPM1	TP53	PHF6	RHOA	UBA1	SH2B3	DDX41	
	Numéros NM ; Exons analysés	NM_004343 ; 9	NM_005188 ; 8 & 9	NM_002520 ; 10 & 11	NM_000546 ; 2-11	NM_001015877 ; Full	NM_001664 ; Full	NM_003334 ; 3	NM_005475 ; Full	NM_016222 ; Full	

2) Contenu de l'offre attendue :

Fourniture d'une solution permettant l'analyse NGS par capture d'échantillons d'ADN extraits à partir de sang périphérique, moelle osseuse ou biopsie (ganglionnaire et cutanée principalement) pour le panel commun hémopathies myéloïdes / lymphomes T défini dans le paragraphe précédent (fourniture des réactifs et de la solution bio-informatique).

3) Caractéristiques générales :

- La solution proposée doit être compatible avec la chimie Illumina.
- Le système doit être adapté à une utilisation en routine, avec un workflow de 2 jours maximum pour 24 échantillons.
- La quantité de matériel (ADN) nécessaire pour une analyse devra être <250ng.
- La solution devra permettre d'inclure si besoin la recherche de transcrits de fusion à partir d'une quantité d'ARN <500ng.
- La solution doit comprendre les réactifs nécessaires pour la préparation des librairies et des captures, ainsi que la recherche des transcrits de fusion si nécessaire.
- L'offre doit inclure la possibilité d'évolution du panel (ajout de nouvelles cibles selon l'évolution des connaissances).
- Dans le cas d'un panel « custom », le design et la pré-validation du panel (vérification de la couverture de toutes les régions ciblées) par la société devront être inclus dans l'offre, y compris en cas d'évolution du panel.
- Une profondeur d'au moins 1000X est attendue pour toutes les cibles, ainsi qu'une sensibilité de 1% pour la détection des variants.
- La solution doit permettre de détecter des insertions/délétions (indel) de 100pb ou plus.
- L'offre devra être compatible avec la mise en place des protocoles sur des robots d'automatisation dans le cas où l'activité le nécessiterait, ainsi qu'un accompagnement pour la qualification des robots. Une documentation retraçant la validation de la solution automatisée devra être fournie, contenant à minima la comparaison des résultats avec ceux obtenus en méthode manuelle.
- La solution proposée doit obligatoirement intégrer l'analyse bio-informatique des données sur une plateforme adaptée, avec une connexion sécurisée et des comptes utilisateurs individuels.
- Les réactifs et consommables proposés doivent être compatibles avec la volumétrie annoncée par le CHU de Clermont Ferrand et détaillés dans le descriptif du lot

A propos de la plateforme d'analyse des données :

- Elle doit offrir la possibilité d'une connexion à distance avec accès à la dernière version du « logiciel ».
- Le temps de chargement des données (fichiers Fastq) devra être <1h, et le temps d'analyse des données (détection, annotation et pré-classification des variants) <12h.
- Elle doit permettre d'assurer une traçabilité des numéros de lots des réactifs utilisés pour la préparation des librairies et des captures.
- Elle doit permettre de générer un rapport de qualité des données contenant pour chaque échantillon le Phred-score, le nombre de lectures, le nombre de régions faiblement couvertes, la liste des régions peu couvertes...
- Elle doit permettre de générer un rapport de résultats pour chaque échantillon ainsi qu'un export des résultats sous différents formats (.pdf, .csv...). La possibilité de personnaliser ce rapport sera appréciée (ajout de logo(s), sélection de certains types de variants, interprétation de l'analyse...).
- La plateforme doit faciliter la visualisation et l'interprétation des données, en intégrant les algorithmes nécessaires pour détecter et annoter tous les types de variants (SNV, indel, CNV).
- La plateforme doit fournir une pré-classification des variants et l'accès à une « communauté » d'utilisateurs sera particulièrement apprécié, permettant un partage des données (classification et fréquence des variants) de façon anonyme et sécurisée.
- Les versions des bases de données utilisées pour l'annotation et la pré-classification des variants doivent être disponibles sur la plateforme. Un lien direct permettant l'accès aux principales bases (COSMIC, ClinVar, gnomAD, OMIM...) sera apprécié.
- La mise à jour des algorithmes permettant la détection, l'annotation et la pré-classification des variants devra se faire de façon automatique, de préférence en dehors des heures d'ouverture des laboratoires.
- La plateforme doit inclure un moyen de visualisation des données sur l'outil IGV.
- Un lien vers une application permettant de prédire les effets d'une variation génétique présente sur un site d'épissage (type Alamut) sera apprécié.
- La possibilité de détecter dans un même temps (à partir d'un même run) les mutations de l'ADN et d'éventuels transcrits de fusion sera appréciée.

- La possibilité d'une connexion de la plateforme d'analyse au SIL du laboratoire (GLIMS – MIPS) est obligatoire
 - o Le candidat précise donc la compatibilité de sa solution avec GLIMS dès maintenant et inclut les montants associés aux connexions dans son offre si nécessaire.
- La possibilité de mettre en place un import automatique des données depuis l'automate de séquençage ou un serveur contenant les fichiers Fastq sera apprécié.

D'une manière générale, l'offre doit inclure :

- Un accès à un service support (tant pour la partie technique que pour l'utilisation de la plateforme d'analyse des données), permettant le lien avec des personnes expertes du/des domaines concernés par les éventuels problèmes rencontrés. Le support devra être joignable par téléphone, email ou via la plateforme d'analyse.
- Le stockage de l'ensemble des données générées (données brutes, fichiers intermédiaires, annotés et rapport qualité) pour un minimum de 5 ans. Ce stockage doit être réalisé sur au moins 2 serveurs agréés hébergeurs de données de santé (HDS), hébergés en France.
- La formation du personnel sur site ou à distance en fonction des besoins et/ou du contexte sanitaire avec la remise d'attestations de formation (partie technique et utilisation de la plateforme d'analyse) et/ou la remise à niveau des pratiques si nécessaire
- Un accompagnement pendant la phase de validation du panel, y compris en cas d'évolution du panel (analyse détaillée des données obtenues lors des runs de validation par un bioinformaticien, rédaction d'un rapport des performances analytiques).
- La fourniture des documents utiles pour l'accréditation (instructions techniques, procédure de mise à jour des algorithmes, certificats HDS...). En cas de mise à jour importante des algorithmes, un rapport des performances analytiques et un rapport de non régression devront être fournis afin de prouver que les performances analytiques sont au moins équivalentes à celles d'avant.

4) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intégrera :

- Une formation des utilisateurs :
 - o 3 Biologistes
 - o 6 Techniciens

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service. Une formation sera assurée en cas de nouveaux utilisateurs et/ou évolution de la plateforme.

Le fournisseur précise le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

La société chiffrera les coûts de formation, utilisateurs et référents, complémentaires en cas de retour de formation tout au long de la durée de vie du matériel.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française.

5) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- Mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- Prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- **fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie** et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire.

B. Lot 2 : Cytogénétique : Fourniture de réactifs et d'une solution d'analyse bio-informatique des FASTQ du NGS pour la recherche de mutations impliquées dans les hémopathies lymphoïdes B

1) Détail de l'activité

Le laboratoire de cytogénétique propose un panel de séquençage par NGS pour la recherche de mutations impliquées dans les hémopathies lymphoïdes B. Après un enrichissement en PBMC, l'ADN génomique est extrait et une librairie est obtenue par capture SureSelect sur le panel de gènes suivant : (*transcrits séquencés en totalité).

Gènes	ARID1A*	ATM*	B2M	BCL2*	BIRC3	BRAF	BTk	CARD11	CCND1
Exons	exons 1 à 20	exons 1 à 63	exons 1 à 2	exons 1 à 3	exons 7 à 10	exon 15	exons 14 à 16	exons 4 à 9	exon 1
Gènes	CD79A	CD79B	CREBBP*	CXCR4*	EP300	EZH2	FBXW7	FOXO1	ID3*
Exons	exons 4 à 5	exons 5 à 6	exons 1 à 31	exons 1 à 2	exons 1 à 31	exons 15 à 18	exons 9 à 11	exon 1	exons 1 à 3
Gènes	KLF2*	KMT2D*	MEF2B	MYC*	MYD88	NFKBIE*	NOTCH1	NOTCH2	PLCG2
Exons	exons 1 à 3	exons 1 à 54	exons 2 à 3	exons 1 à 3	exons 3 à 5	exons 1 à 6	exon 34	exons 26 à 28 + 34	exons 17 à 24
Gènes	POT1*	PTPRD*	SF3B1	STAT6	TCF3*	TNFAIP3*	TP53*	TRAF2*	XPO
Exons	exons 1 à 19	exons 1 à 45	exons 14 à 18	exons 12 à 18	exons 1 à 19	exons 1 à 9	exons 1 à 11	exons 1 à 11	exons 12 à 18

Le séquençage est ensuite effectué sur séquenceur MiSeq Illumina.

L'activité évolue en augmentant avec une hausse de 9% entre 2022 et 2023 (213 demandes). Cette tendance se confirme avec une augmentation de 50% du nombre de demandes au premier trimestre 2024 par rapport au premier trimestre 2023. De ce fait, le laboratoire envisage d'effectuer le séquençage sur des séquenceurs de type NextSeq 500.

2) Contenu de l'offre attendue :

Le laboratoire recherche une solution d'analyse des FASTQ générés par le séquençage NGS

3) Caractéristiques générales :

Le fournisseur s'engage à fournir obligatoirement :

- Un Bundle comprenant les réactifs et les analyses bio informatiques associées.
Les kits de réactifs fournis dans le Bundle seront des réactifs SureSelect (Agilent) avec le panel personnalisé (kit pour 96 échantillons) décrit ci-dessus
- Possibilité d'évolution du panel (selon recommandations)
- Délai maximal de 2 jours de workflow pour obtention des librairies à partir des échantillons
- Quantité d'ADN pour la manipulation d'environ 200 ng
- Sensibilité de 1% pour une couverture de 1000X
- Compatibilité avec les chimies Illumina et les FASTQ issue de l'appareil
- La détection des variants et événements rares (SNV, séquences Alu, CNVs, fusions, splices...);
- L'aide à l'analyse des résultats comme la classe de pathogénicité de chaque variant provenant de plusieurs sources, l'impact sur la protéine, les effets sur le transcrit, la charge allélique en pourcentage, données qualité, etc.;
- L'accès à tous les fichiers d'analyses intermédiaires;
- L'accès à la liste complète des variants détectés
- La mise à jour régulière de la base de données et communication des changements de classification (biologique ou thérapeutique);
- L'édition d'un rapport personnalisable (format PDF) pour chaque échantillon comprenant au minimum les informations clef comme l'ID de l'échantillon, les programmes utilisés, la qualité des métriques et les variants retenus par le biologiste;
- Une traçabilité des différents outils bio-informatiques utilisés et des paramètres pour chaque analyse;

- L'aide à la validation de méthode et vérifications des analyses bio-informatiques dans le cadre de développement de nouveau projet ;
 - La fourniture d'un certificat de non régression à chaque mise à jour des logiciels d'analyses utilisées
 - Les certificats de marquage CE-IVD lorsqu'ils sont applicables ;
 - Un support Client réactif en cas d'erreur d'analyse
 - Stockage de 2 To minimum
 - Accès de la plateforme par internet et hébergeur de données de Santé
 - Sécurité des données (Cryptage ; RGDP), traçabilité de l'activité des utilisateurs
- Ergonomie (facilités d'utilisation, filtres personnalisables, etc.)

4) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changements majeurs sur la plateforme.

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

La société chiffrera les coûts de formation, utilisateurs et référents, complémentaires en cas de retour de formation tout au long de la durée de vie du matériel.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française.

5) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

C. Lot 3 : Cytogénétique : Analyse bio-informatique des FASTQ du NGS pour la recherche de mutations TP53 et BCR-ABL

1) Détail de l'activité

En 2024, le laboratoire souhaite établir un transfert de technologie pour le séquençage de TP53 actuellement réalisé par Séquençage Sanger. Le laboratoire souhaite réaliser cette analyse par séquençage NGS. Cette activité représente 91 demandes en 2023. À moyen terme, le laboratoire souhaite faire de même pour la recherche de mutations du domaine kinase du transcrit BCR-ABL (ARN) qui représente une vingtaine d'analyses en 2023.

2) Caractéristiques générales :

- Pour la mutation TP53 :
 - o Quantité d'ADN nécessaire <200 ng
 - o Région d'intérêt : Exon 2 à 11 + épissage (+/- 50-100 pb autour de la zone d'épissage)
 - o Possibilité de passer des ADNs dégradés (FFPE, etc.)
- Pour la mutation BCR-ABL :
 - o ADNc issu d'un rétro transcription en RP
 - o Région d'intérêt : exon 2 à 11

- Compatibilité avec les analyses réalisées sur Séquenceur Illumina
- Possibilité d'évolution du panel (selon recommandations)
- Délai maximal de 2 jours de workflow pour obtention des librairies à partir des échantillons
- Quantité d'ADN pour la manipulation d'environ 200 ng et d'une sensibilité de 1% pour une couverture de 1000X
- Détection des variants et événements rares (SNV, séquences Alu, CNVs, fusions, splices...)
- Aide à l'analyse des résultats comme la classe de pathogénicité de chaque variant provenant de plusieurs sources, l'impact sur la protéine, les effets sur le transcrit, la charge allélique en pourcentage, données qualité, etc. ;
- Accès à tous les fichiers d'analyses intermédiaires
- Accès à la liste complète des variants détectés
- Mise à jour régulière de la base de données et communication des changements de classification (biologique ou thérapeutique) ;
- L'édition d'un rapport personnalisable (format PDF) pour chaque échantillon comprenant au minimum les informations clef comme l'ID de l'échantillon, les programmes utilisés, la qualité des métriques et les variants retenus par le biologiste ;
- Une traçabilité des différents outils bio-informatiques utilisés et des paramètres pour chaque analyse ;
- Participer à la validation de méthode et vérifications des analyses bio-informatique dans le cadre de développement de nouveau projet ;
- La Fourniture d'un certificat de non régression à chaque mise à jour des logiciels d'analyses utilisées
- Les certificats de marquage CE-IVD;
- Un support Client réactif en cas d'erreur d'analyse
- Stockage >1To
- Accès de la plateforme par internet et hébergeur de données de Santé
- Sécurité des données (Cryptage ; RGDP), traçabilité de l'activité des utilisateurs
- Ergonomie (facilités d'utilisation, filtres personnalisables, etc.)
- En option, le fournisseur pourra proposer en plus, des réactifs nécessaires à la préparation des séquençages par NGS.

3) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changements majeurs sur la plateforme.

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

La société chiffrera les coûts de formation, utilisateurs et référents, complémentaires en cas de retour de formation tout au long de la durée de vie du matériel.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française.

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

La société chiffrera les coûts de formation, utilisateurs et référents, complémentaires en cas de retour de formation tout au long de la durée de vie du matériel.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française.

4) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :

- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.

- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

D. Lot 4 : Anatomie Pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de librairies par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés et inclus en paraffine par séquençage haut débit.

1) Détail de l'activité

La connaissance du profil génétique des tumeurs solides fait partie intégrante du diagnostic anatomopathologique, ainsi que des recommandations de prise en charge thérapeutique dans divers types de cancers.

La connaissance du statut moléculaire tumoral permet d'optimiser le traitement de chaque patient (thérapie ciblée) et ainsi de lui éviter des prescriptions inefficaces et coûteuses. Certaines anomalies moléculaires tumorales peuvent également permettre d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique.

2) Caractéristiques générales :

Le volume annuel d'analyses à réaliser par séquençage haut débit est évalué à 350.

La solution proposée doit répondre à l'ensemble des éléments suivants:

- La solution proposée doit fournir les réactifs nécessaires à la préparation de librairies par capture pour la recherche de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) par séquençage haut débit (NGS). La possibilité de réaliser des librairies à partir de prélèvements tissulaires frais non fixés constituera une valeur ajoutée.

- Les librairies produites doivent être identifiées par un double indexage, de préférence avec indexes uniques.

- La solution proposée doit permettre le séquençage a minima des gènes ou des exons listés dans le tableau suivant (les exons requis obligatoires sont mentionnés. Dans certains cas seuls les hotspots symbolisés par * peuvent être recherchés) :

Gène	n° exons	Seq référence	Gène	n° exons	Seq référence	Gène	n° exons	Seq référence
AKT1	3	NM_005163	FGFR2	7,12,14	NM_000141	KRAS	2 à 4	NM_004985
ALK	21 à 25	NM_004304	FGFR3	7,9,14,16	NM_000142	MAP2K1	2,3	NM_002755
BRAF	11,15	NM_004333	GNA11	4,5	NM_002067	MET	2,14 à 20	NM_001127500
CDK4	2	NM_000075	GNAQ	4,5	NM_002072	NRAS	2 à 4	NM_002524
CDKN2A	1*,2,3	NM_000077	GNAS	8	NM_000516	PDGFRA	12,14,18	NM_006206
CTNNB1	3	NM_001904	H3F3B	2*	NM_005324	PIK3CA	3,8,10,21	NM_006218
EGFR	18 à 21	NM_005228	HIST1H3B	1	NM_003537	RET	11,13,15,16	NM_020975
ERBB2	8,17,20	NM_004448	HRAS	2 à 4	NM_005343	ROS1	38*,41*	NM_002944
ERBB4	10,12	NM_005235	IDH1	4	NM_005896	SMAD4	8 à 12	NM_005359
FBXW7	7 à 11	NM_033632	IDH2	4	NM_002168	TERT	promoteur*	NM_198253
FGFR1	12,14	NM_015850	KIT	9,11,13,17,18	NM_000222	TP53	tous exons	NM_000546

Le séquençage additionnel des exons 9, 13 et 14 du gène POLE d'une part, et/ou de l'exon 17 du gène PDGFRA d'autre part constituera une valeur ajoutée.

Gène	n° exons	Seq référence
PDGFRA	17	NM_006206
POLE	9,13,14	NM_006231

- La solution proposée doit permettre la détection du statut microsatellitaire (MSI) par l'analyse d'au moins 5 marqueurs. La liste de ces marqueurs doit être précisée.

- Les librairies produites doivent être compatibles avec le séquençage haut débit sur séquenceur Illumina, a minima sur séquenceur MiSeq, en V2 et en V3.

- La solution proposée doit fournir une prestation d'analyse bio-informatique permettant l'identification de variants somatiques (SNV, ins/del) annotés selon la nomenclature internationale HGVS et la détection du statut microsatellitaire, avec visualiseur de données, filtreur.

- La solution proposée doit permettre l'identification de variants à une fréquence allélique minimum de 2%.
- La durée d'analyse des données brutes sur la plateforme d'analyse bio-informatique doit être précisée.
- La solution proposée doit fournir un support technique et/ou un accompagnement au moment de la mise en place et de la validation in situ, ainsi que dans son utilisation quotidienne le cas échéant.
- La solution proposée doit fournir une solution de stockage des données bio-informatiques sur serveur(s) localisé(s) en France. Une sauvegarde sur plusieurs serveurs localisés sur des sites différents et/ou une labellisation en tant qu'Hébergeur de Données de Santé constituera une valeur ajoutée.
- La solution proposée doit pouvoir être évolutive en permettant l'ajout de gènes supplémentaires au panel initial. Le coût de ce type d'évolution doit être précisé.
- Les délais moyens de péremption des réactifs et de livraison doivent être précisés.

3) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intègrera :

- Une formation des utilisateurs :
 - 1 Ingénieur
 - 4 Techniciens

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française serait un plus.

4) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

E. Lot 5 Anatomie Pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de librairies par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) sur prélèvements sanguins par séquençage haut débit.

1) Détail de l'activité

La connaissance du profil génétique des tumeurs solides fait partie intégrante du diagnostic anatomopathologique, ainsi que des recommandations de prise en charge thérapeutique dans divers types de cancers.

La connaissance du statut moléculaire tumoral permet d'optimiser le traitement de chaque patient (thérapie ciblée) et ainsi de lui éviter des prescriptions inefficaces et coûteuses. Certaines anomalies moléculaires tumorales peuvent également permettre d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique.

2) Caractéristiques générales :

La solution proposée doit répondre à l'ensemble des éléments suivants :

- La solution proposée doit fournir les réactifs nécessaires à la préparation de bibliothèques par capture pour la recherche de mutations somatiques et la détection du statut micro-satellitaire (MSI) dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) par séquençage haut débit (NGS). La possibilité de réaliser des bibliothèques à partir de prélèvements tissulaires frais non fixés constituera une valeur ajoutée.
- Les bibliothèques produites doivent être identifiées par un double indexage, de préférence avec indexes uniques.
- La solution proposée doit permettre le séquençage a minima des gènes ou des exons listés dans le tableau suivant (les exons requis obligatoires sont mentionnés. Dans certains cas seuls les hotspots symbolisés par * peuvent être recherchés) :

Gène	n° exons	Seq référence	Gène	n° exons	Seq référence	Gène	n° exons	Seq référence
AKT1	3	NM_005163	FGFR2	7,12,14	NM_000141	KRAS	2 à 4	NM_004985
ALK	21 à 25	NM_004304	FGFR3	7,9,14,16	NM_000142	MAP2K1	2,3	NM_002755
BRAF	11,15	NM_004333	GNA11	4,5	NM_002067	MET	2,14 à 20	NM_001127500
CDK4	2	NM_000075	GNAQ	4,5	NM_002072	NRAS	2 à 4	NM_002524
CDKN2A	1*,2,3	NM_000077	GNAS	8	NM_000516	PDGFRA	12,14,18	NM_006206
CTNNB1	3	NM_001904	H3F3B	2*	NM_005324	PIK3CA	3,8,10,21	NM_006218
EGFR	18 à 21	NM_005228	HIST1H3B	1	NM_003537	RET	11,13,15,16	NM_020975
ERBB2	8,17,20	NM_004448	HRAS	2 à 4	NM_005343	ROS1	38*,41*	NM_002944
ERBB4	10,12	NM_005235	IDH1	4	NM_005896	SMAD4	8 à 12	NM_005359
FBXW7	7 à 11	NM_033632	IDH2	4	NM_002168	TERT	promoteur*	NM_198253
FGFR1	12,14	NM_015850	KIT	9,11,13,17,18	NM_000222	TP53	tous exons	NM_000546

Le séquençage additionnel des exons 9, 13 et 14 du gène POLE d'une part, de l'exon 17 du gène PDGFRA d'autre part constituera une valeur ajoutée.

Gène	n° exons	Seq référence
PDGFRA	17	NM_006206
POLE	9,13,14	NM_006231

- La solution proposée doit permettre la détection du statut microsatellitaire (MSI) par l'analyse d'au moins 5 marqueurs. La liste de ces marqueurs doit être précisée.
- Les bibliothèques produites doivent être compatibles avec le séquençage haut débit sur séquenceur Illumina, a minima sur séquenceur MiSeq, en V2 et en V3.
- La solution proposée doit fournir une prestation d'analyse bio-informatique permettant l'identification de variants somatiques (SNV, ins/del) annotés selon la nomenclature internationale HGVS et la détection du statut microsatellitaire, avec visualiseur de données, filtreur.
- La solution proposée doit permettre l'identification de variants à une fréquence allélique minimum de 2%.
- La durée d'analyse des données brutes sur la plateforme d'analyse bio-informatique doit être précisée.
- La solution proposée doit fournir un support technique et/ou un accompagnement au moment de la mise en place et de la validation in situ, ainsi que dans son utilisation quotidienne le cas échéant.
- La solution proposée doit fournir une solution de stockage des données bio-informatiques sur serveur(s) localisé(s) en France. Une sauvegarde sur plusieurs serveurs localisés sur des sites différents et/ou une labellisation en tant qu'Hébergeur de Données de Santé constituera une valeur ajoutée.
- La solution proposée doit pouvoir être évolutive en permettant l'ajout de gènes supplémentaires au panel initial. Le coût de ce type d'évolution doit être précisé.
- Les délais moyens de préemption des réactifs et de livraison doivent être précisés.

3) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intègrera :

- Une formation des utilisateurs :
 - 1 Ingénieur
 - 4 Techniciens

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés. A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française serait un plus.

4) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

F. Lot 6 Anatomie Pathologique : Fourniture de réactifs de préparation de librairies par capture et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification de mutations somatiques des gènes impliqués dans la recombinaison homologue dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés et inclus en paraffine par séquençage haut débit.

1) Détail de l'activité

La connaissance du profil génétique des tumeurs solides fait partie intégrante du diagnostic anatomopathologique, ainsi que des recommandations de prise en charge thérapeutique dans divers types de cancers.

La connaissance du statut moléculaire tumoral permet d'optimiser le traitement de chaque patient (thérapie ciblée) et ainsi de lui éviter des prescriptions inefficaces et coûteuses. Certaines anomalies moléculaires tumorales peuvent également permettre d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique.

2) Contenu de l'offre attendue :

Le volume annuel d'analyses à réaliser par séquençage haut débit est évalué à 200.

La solution proposée devra répondre à l'ensemble des éléments suivants :

- La solution proposée doit fournir les réactifs nécessaires à la préparation de librairies par capture pour la recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides à partir de prélèvements fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) par séquençage haut débit. La possibilité de réaliser des librairies à partir de prélèvements tissulaires frais non fixés constituera une valeur ajoutée.
- Les librairies produites doivent être identifiées par un double indexage, de préférence avec indexes uniques.
- La solution proposée doit permettre le séquençage a minima des gènes suivants : ATM, BARD1, BRCA1/2, BRIP1, CDK12, CHEK1/2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B/C/D, RAD54L, P53.
- Les librairies produites doivent être compatibles avec le séquençage haut débit sur séquenceur Illumina, sur séquenceur MiSeq, en V2 et en V3, ou sur NextSeq 500.
- La solution proposée doit fournir une prestation d'analyse bio-informatique permettant l'identification de variants somatiques (SNV, ins/del) avec visualiseur de données, filtreur.
- La solution proposée doit permettre l'identification de variants à une fréquence allélique minimum de 2%.
- La durée d'analyse des données brutes sur la plateforme d'analyse bio-informatique doit être précisée.
- La solution proposée doit fournir un support technique et/ou un accompagnement au moment de la mise en place et de la validation in situ, ainsi que dans son utilisation quotidienne le cas échéant.
- La solution proposée doit fournir une solution de stockage des données bio-informatiques sur serveur(s) localisé(s) en France. Une sauvegarde sur plusieurs serveurs localisés sur des sites différents et/ou une labellisation en tant qu'Hébergeur de Données de Santé constitueront une valeur ajoutée.

- La solution proposée doit pouvoir être évolutive en permettant l'ajout de gènes supplémentaires au panel initial. Le coût de ce type d'évolution doit être précisé.
- Les délais moyens de péremption des réactifs et de livraison doivent être précisés

3) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intègrera :

- Une formation des utilisateurs :
 - 1 Ingénieur
 - 4 Techniciens

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française serait un plus.

4) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

G. Lot 7 : Anatomie Pathologique : Fourniture de réactifs et d'une prestation bio-informatique pour la recherche et l'identification des réarrangements des gènes des immunoglobulines dans les lymphoproliférations B ainsi que des réarrangements des gènes du récepteur T dans les lymphoproliférations T par séquençage haut débit.Détail de l'activité

La connaissance du profil génétique des tumeurs solides fait partie intégrante du diagnostic anatomopathologique, ainsi que des recommandations de prise en charge thérapeutique dans divers types de cancers.

La détection d'un réarrangement clonal des gènes codant pour les immunoglobulines ou les récepteurs des cellules T permet de confirmer le diagnostic de malignité du processus lymphomateux initialement réalisé par un examen morphologique standard associé à un large panel d'anticorps monoclonaux.

5) Contenu de l'offre attendue et caractéristiques générales :

Le volume annuel d'analyses à réaliser par séquençage haut débit est évalué à 400.

La solution proposée devra répondre à l'ensemble des éléments suivants :

- La solution proposée doit fournir les réactifs nécessaires à la préparation de librairies pour la recherche de tous les réarrangements des gènes des immunoglobulines (chaines lourdes IgH et chaines légères IgK/L) ainsi que de tous les réarrangements des gènes des récepteurs T (TCR G/B/D) à partir de prélèvements fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE), à partir de prélèvements tissulaires frais non fixés, et à partir de prélèvements sanguins par séquençage haut débit (NGS).
- Les librairies produites doivent être identifiées par un double indexage, de préférence avec indexes uniques.
- Les librairies produites doivent être compatibles avec le séquençage haut débit sur séquenceurs Illumina MiSeq et NextSeq 500.

- La solution proposée doit fournir une prestation d'analyse bio-informatique permettant l'identification des réarrangements avec visualiseur de données, filtreur.
- La durée d'analyse des données brutes sur la plateforme d'analyse bio-informatique doit être précisée.
- La solution proposée doit fournir un support technique et/ou un accompagnement au moment de la mise en place et de la validation in situ, ainsi que dans son utilisation quotidienne le cas échéant.
- La solution proposée doit fournir une solution de stockage des données bio-informatiques sur serveur(s) localisé(s) en France. Une sauvegarde sur plusieurs serveurs localisés sur des sites différents et/ou une labellisation en tant qu'Hébergeur de Données de Santé constitueront une valeur ajoutée.
- Les délais moyens de péremption des réactifs et de livraison doivent être précisés.
- Le soumissionnaire peut répondre avec un ou plusieurs kits permettant de couvrir l'ensemble des besoins. Une solution complète avec un seul kit sera appréciée.

6) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intègrera :

- Une formation des utilisateurs :
 - 1 Ingénieur
 - 4 Techniciens

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

La société chiffrera les coûts de formation, utilisateurs et référents, complémentaires en cas de retour de formation tout au long de la durée de vie du matériel.

A l'issue des formations, le fournisseur met à disposition une notice d'utilisation au format papier et en version numérique, en langue française.

7) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché :
- prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.
- à fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire. »

La formation se fera uniquement sur les nouveaux arrivants ou en cas de changement majeur de la plateforme.

H. Lot 8 Génétique moléculaire : Fourniture de réactifs et d'une prestation bio-informatique pour la préparation de librairies d'exomes humains et l'analyse du séquençage à haut-débit de ces librairies.

1) Détail de l'activité

L'UF de Génétique Moléculaire, rattachée au service de Biochimie et Génétique moléculaire assure le diagnostic génétique, en pré-natal et post-natal, de différentes pathologies monogéniques de l'enfant et de l'adulte, en particulier dans le champ des anomalies rares du développement (malformations congénitales et déficience intellectuelle). L'unité est accréditée (ISO 15189:2022) pour les examens réalisés.

Depuis septembre 2020, l'unité réalise le séquençage d'exomes complets humains sur le séquenceur NextSeq500. Le nombre d'exomes réalisés atteint 350 à 400 réactions par an. Selon l'indication et la disponibilité des échantillons, ces analyses sont réalisées uniquement sur le cas index (solo) ou en trio (parents-enfant) pour déterminer le mode de transmission de la pathologie.

Dans ce contexte, l'UF de génétique moléculaire souhaite conclure un marché pour la fourniture :

- des réactifs nécessaires à la préparation des librairies d'exomes complets humains et
- d'une prestation bio-informatique d'analyse des données issues du séquençage de ces librairies sur séquenceur Illumina.

2) Caractéristiques générales

Sous-lot 1 : Fourniture des réactifs permettant la préparation de librairies pour l'analyse par séquençage nouvelle génération d'exomes complets humains.

La préparation de librairies doit remplir les critères suivants :

- Préparation des librairies sur 2 jours maximum
- Fragmentation enzymatique
- Enrichissement par capture
- Hybridation des sondes sur la nuit
- Double indexage unique des échantillons
- Pooling pré-capture (au minimum 8 échantillons couverture 98% à 30X)
- Compatible avec la technologie Illumina
- ADN extraits de tissus, sang, liquide amniotique
- Quantité initiale d'ADN $\leq 50\text{ng}$
- Cible diagnostique doit combiner au minimum les bases de données Refseq, CCDS et GENCODE
- Possibilité d'ajouter des cibles supplémentaires au panel
- Disponibilité d'un protocole validé **sans utilisation** d'un concentrateur type SpeedVac
- Préparation manuelle des librairies par série de 8 ou 16 échantillons

Le fournisseur doit également préciser :

- Si le protocole est automatisable et sur quel(s) automate(s)
- La disponibilité d'un protocole rapide (notamment pour l'étape d'hybridation)
- La possibilité d'utilisation de codes-barres moléculaires (UMI)
- Les différents conditionnements disponibles
- La compatibilité de la solution avec d'autres fournisseurs de technologie de séquençage

Sous-lot 2 : Fourniture de prestations d'analyses bio-informatiques des données de séquençage d'exomes complets humains.

La solution à fournir doit couvrir l'ensemble des étapes d'analyse bio-informatique du fichier brut de séquençage (fastq) aux listes de variations (alignement des séquences, appel des variants, annotation des variants). Elle doit également permettre de visualiser de manière simple et intuitive les variations obtenues et de les filtrer afin de sélectionner les plus pertinentes.

La solution proposée devra remplir les critères suivants :

- Détection et visualisation des variations ponctuelles (SNP et indels) et des variations du nombre de copies (CNV)
- Application optimisée pour la recherche de variations constitutionnelles sur échantillon unique
- Application optimisée pour la recherche de variations constitutionnelles sur trio d'échantillons
- Filtration et tri des variations selon des critères sélectionnés par l'utilisateur
- Filtration des variations en fonction de cibles diagnostiques restreintes paramétrables par l'utilisateur (panel « in silico »)
- Module de classification semi-automatique selon les recommandations ACMG
- Module de classification et annotation manuelle des variations (base de données interne)
- Possibilité d'ajouter des données phénotypiques (ontologie HPO) pour le tri des variations
- Outil permettant de visualiser la couverture des régions d'intérêt
- Outil permettant de visualiser et de naviguer sur les alignements de séquence (BAM)
- Accès à un ensemble de métriques qualités permettant le suivi de la qualité du séquençage et de l'analyse des variations (couverture, profondeur, pourcentage de duplication, spécificité...)
- Accès aux fichiers d'analyses intermédiaires
- Présence de liens vers des bases de données publiques (telles que ClinVar, gnomAD, OMIM...)

- Interopérabilité avec les principaux fournisseurs de réactifs de préparation de bibliothèques
- Possibilité de générer des fichiers d'export des variations filtrées (type fichier Excel)
- Plate-forme avec une connexion sécurisée et des comptes utilisateurs individuels
- Traçabilité des actions réalisées par les différents utilisateurs
- Traçabilité des versions de logiciels et bases de données utilisés
- Mises à jour régulières des bases de données publiques utilisées
- Transfert sécurisé des données
- Solution bio-informatique certifiée ISO et marquée CE-IVD
- Hébergement des données sur des serveurs certifiés HDS (hébergeur des données de santé)
- Accompagnement à la mise en place de l'accréditation COFRAC et fourniture des documents utiles pour l'accréditation (certificats, documentations techniques...)
- Fourniture de rapports de non-régression en cas de mise à jour importante des pipelines
- Reprise des antériorités des exomes analysés précédemment dans le secteur
- Possibilité de développer un modèle local pour l'analyse des CNV
-

Le fournisseur doit également préciser :

- Les versions du génome de référence disponibles
- La liste des bases de données et outils de prédiction utilisés pour l'annotation des variations
- Un lien vers une application permettant de prédire les effets d'une variation génétique, notamment sur l'épissage (type Mobidetails) serait apprécié
- La taille du stockage ainsi que le temps de conservation des données compris dans l'offre
- Le temps de transfert des fichiers fastq selon leur taille
- Le temps moyen d'analyse des exomes solo et trio
- Les prérequis au niveau du matériel informatique de l'utilisateur
- Les modalités du support aux utilisateurs
- Les modalités de suivi des modifications apportées aux solutions (notes de version, certificats de non-régression, actualités...)
- Les autres pipelines disponibles (ex. : RNA-seq, Methyl-seq...) ou en cours de développement
- La compatibilité des fichiers d'export pour un import vers les SGLs (GLIMS en particulier)
- La périodicité des mises à jour des bases de données

3) Formations utilisateurs et référents

Le titulaire décrit l'organisation, le calendrier et le contenu de la formation qu'il assurera en formation initiale à l'ensemble des utilisateurs du système analytique et de l'informatique associée.

La formation obligatoirement dispensée en français intégrera une formation au système analytique pour les techniciens et ingénieur concernés et une formation à l'application bio-informatique pour l'ensemble des utilisateurs du service (techniciens, ingénieur et biologistes) :

- 1 ingénieur
- 6 techniciens
- 4 biologistes

La programmation de cette formation se fera en accord avec le service.

Le fournisseur précisera le lieu. Si la formation n'est pas sur site la société prendra en charge l'ensemble des frais engagés.

4) Accompagnement à l'accréditation

Dans le cadre de la démarche d'accréditation, le fournisseur doit :

- Mettre les moyens et compétences adéquates pour l'accompagnement à la validation, vérification des méthodes sur la base de la liste des analyses fournie lors du marché ainsi qu'en cas de modifications de la liste et /ou des méthodes au cours du marché.
- Prendre à sa charge les coûts associés à ces validations de méthodes (temps d'ingénieur d'application, frais de déplacement, réactifs et consommables...), si nécessaire.

- À fournir des outils d'aide à l'accréditation : méthodologie, logiciels, bibliographie et d'aide à la rédaction des documents en vue de l'accréditation COFRAC selon la norme 15189.

Ces moyens seront mis à disposition à la demande du laboratoire au regard du calendrier d'accréditation du laboratoire.

Article 3 : Commandes et livraisons pour tous les lots

A. Commande des réactifs ou recharge pour analyses bio-informatiques.

A l'issue de la notification du présent marché, des bons de commande seront émis au(x) fournisseur(s) retenu(s) en fonction des besoins.

B. Délai de livraison des réactifs

La livraison du matériel devra intervenir dans un délai que le fournisseur indiquera dans son cadre de réponse technique. Aussi le fournisseur prend pleinement connaissance de cette exigence lorsqu'il répond au marché.

Ce délai commence à courir à la date de réception par le fournisseur du bon de commande.

C. Lieu de livraison

Le lieu de livraison sera stipulé sur le bon de commande.

Toute modification à apporter ou tout ajustement à réaliser est à la charge du fournisseur.

Article 4 : MAINTENANCE :

SANS OBJET

Article 5 : NOUVELLE VERSION DES REACTIFS

Le fournisseur est tenu de présenter toute évolution et nouvelle version de réactifs qui seraient commercialisées pendant la durée d'exécution du marché.

Pour tous les lots, le soumissionnaire indiquera quelle est la procédure pour faire évoluer les panels demandés. Ces évolutions devront faire l'objet d'un chiffrage dans l'offre remise par le soumissionnaire.

Article 6 : REACTIFS ET CONSOMMABLES

A. Conformité des réactifs et consommables

- Les réactifs et consommables proposés devront être conformes aux normes en vigueur :
 - Normes ISO 15189
 - Marquage en adéquation avec la nature des consommables CE-IVD ou CE-IVDR) serait un plus :
 - Dans la positive, les candidats joindront le(les) certificats(s) de marquage CE des DMDIV et attestation(s) de conformité et annexe(s) se rapportant au dispositif proposé.

➤ La documentation jointe :

- La notice d'utilisation de chaque produit devra être fournie en français (sous format informatique serait un plus) ;
 - Pour les pièces : nature, type de matériaux avec pureté ;
 - Pour les solutions de calibrage : certificat associé indiquant les concentrations maximales d'impuretés et la traçabilité à partir de l'étalon international (quand il existe).
- Chaque produit devra être accompagné d'une fiche de données de sécurité (sous format informatique obligatoirement), d'une fiche technique et d'une fiche de stress;
- Le fournisseur pourra joindre à sa proposition des publications concernant l'évaluation des produits.

➤ Délai de livraison :

- Le délai de livraison est fixé à 10 jours ouvrés maximum (soit 2 semaines calendaires) à la date d'envoi du bon de commande par le CHU sauf cas contraire indiqué sur le bon de commande ;
- Le fournisseur pourra s'engager sur un délai de livraison plus court.

➤ Conditionnement :

- Le fournisseur proposera un conditionnement principal correspondant au volume annuel et journalier des différents services concernés du laboratoire et à l'organisation de travail ;
- Dans sa proposition de prix, le fournisseur proposera et chiffrera l'ensemble des conditionnements disponibles ce qui permettra au service d'adapter ses commandes en fonction des fluctuations de son activité au cours de l'année ;
- Pour les réactifs et consommables devant être stockés à +4°C et à -20°C, les contenants des consommables et réactifs devront être adaptés à un stockage à +4°C et -20°C (hygiène et sécurité).

➤ Lot :

- Un suivi de lot devra être réalisé sur au moins une durée de 12 mois minimum. Dans le cas où la période précisée ci-dessus ne peut être honorée, le fournisseur devra préciser la durée qu'il peut assurer ;
- Dans le cas d'une rupture de lot dans le conditionnement principal retenu en deçà de la période définie dans la consultation, le fournisseur proposera un autre conditionnement sans surcoût par rapport à celui retenu ;

➤ Certificat de conformité :

- Le fournisseur s'engagera à fournir les certificats de conformité à chaque changement de lot ;
- Si les certificats ne sont pas fournis à chaque livraison, la procédure pour les obtenir devra être décrite de façon précise.

➤ Condition de livraison :

- Le fournisseur indiquera clairement les conditions de livraison des différents réactifs. Pour les réactifs devant être stockés à une température précise mais pouvant être transportés à température ambiante, il fournira les fiches de stress correspondantes.
- Le fournisseur fournira au CHU les preuves lors de la livraison du respect des conditions de transport (température) pour les produits ou consommables le nécessitant. En cas de non-fourniture des preuves ou de non-respect des écarts maximums tolérés (EMT), le CHU se réserve le droit de retourner aux frais du fournisseur le produit ou consommable concerné. Le fournisseur devra alors renvoyer sans surcoût et dans les conditions de transport adéquates les produits ou consommables concernés.

➤ **Certificat de métrologie :**

- Les certificats de métrologie ne seront demandés que pour certains lots. Cette demande sera alors précisée dans les descriptions techniques des lots concernés ;
- Le fournisseur s'engagera alors à fournir les constats de vérification métrologique avec les preuves de raccordements métrologique COFRAC ou d'un organisme disposant d'une reconnaissance mutuelle des accréditations entre organismes signataires des accords EA, et IAF et ILAC sur les marchés extra-européens ;
- Si les certificats ne sont pas fournis à chaque livraison, la procédure pour les obtenir devra être décrite de façon précise.

➤ **Rupture des stocks : voir article 9 du CCAP 24-GHTA-0116.**

➤ **Péréemption :**

- Le candidat devra pour chaque réactif, consommables, préciser la durée de validité du produit à la réception dans le service ou le magasin ;

Cette durée devra être supérieure ou égale à 12 mois.

Dans le cas où la période précisée ci-dessus ne peut être honorée, le fournisseur devra préciser la durée qu'il peut assurer.

➤ **Politique de développement durable :**

- Le fournisseur doit décrire de manière précise la politique de développement durable mise en place au sein de son entreprise (réduction des émissions de CO2..., gestion des ressources, gestion des déchets...);
- Si le fournisseur fait appel à un prestataire de services pour les livraisons de ses produits, il doit décrire de façon précise la politique de développement durable de son prestataire externe ;
- Le fournisseur précise si les contenants utilisés pour le stockage et le transport des réactifs et consommables sont recyclables ;

➤ **Accès et formation :**

- Le fournisseur laissera libre accès et/ou produira toutes les informations techniques concernant les réactifs et consommables (documents, références à des banques de données...) il s'engage aussi à former le laboratoire à l'utilisation des réactifs et consommables.

Le fournisseur fournira un certificat d'exclusivité de distribution pour tous les réactifs et consommables listés.

Article 7 : CONTRAINTES D'ENVIRONNEMENT

A. Contraintes thermiques et environnementales :

SANS OBJET

B. Contraintes informatiques générales :

Le fournisseur prend connaissance de l'annexe au présent document « **Eléments DSI** » précisant les contraintes liées à l'informatique.

Article 8 : HYGIENE, SECURITE et ASSURANCE

A. Hygiène sécurité :

L'Etablissement s'engage à assurer les conditions de sécurité d'usage des personnels du Titulaire pendant leurs interventions de maintenance, et à garantir l'accès au matériel sous réserve du respect des consignes d'hygiène et de sécurité applicables aux services concernés.

Article 9 : INTERLOCUTEURS

- Service Hématologie :

Dr BOURGNE Céline,

cbourgne@chu-clermontferrand.fr

Tel : 04 73 75 06 96

- Ingénieur au sein du service de Cytogénétique

Mr SION Jean-Melaine,

jmsion@chu-clermontferrand.fr

Tel : 04 73 75 05 95

- Ingénieur au sein du service d'Anatomie et cytologie pathologiques

Mme JARROUSSE Anne-Sophie,

asjarrousse@chu-clermontferrand.fr

Tel : 04 73 75 05 17

- Ingénieur au sein du service de Génétique moléculaire

Mme LANGLAIS Sarah,

slanglais@chu-clermontferrand.fr

Tel : 04 73 76 38 68

- Cellule achat du laboratoire

Nathalie Mitais et Sébastien Pireyre

celluleachatlabo@chu-clermontferrand.fr

Tel : 04 73 751 558 ou 04 73 751 504