**Allegato A - Caratteristiche Tecniche**

**Sistema di citofluorimetria con Imaging , per le esigenze del laboratorio di Microbiologia/CRREM dell’IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria di Bologna Policlinico di Sant’Orsola**

Si richiede la fornitura di un Sistema di citofluorimetria con imaging che sia capace di analizzare migliaia di cellule al secondo formando immagini in campo chiaro e campo scuro, utilizzando marcatori fluorescenti ad alta velocità, con la possibilità di acquisire immagini multi spettrali per ogni cellula/particella in flusso.

La fornitura deve includere tutti gli accessori necessari al corretto funzionamento del Sistema offerto.

**Caratteristiche tecniche di minima**

1. Possibilità di caricare campioni con volumi compresi tra 20 e 200 microlitri
2. Rate di analisi fino a 5000 cellule o particelle/secondo
3. 6 canali di imaging con immagini ad alta risoluzione che includono campo chiaro, campo scuro e fluorescenza
4. Possibilità di upgrade a 12 canali ad alta risoluzione che includono campo chiaro, campo scuro e fluorescenza
5. Presenza dei seguenti laser di eccitazione: Blue Excitation Laser (488nm), Violet Excitation Laser (405 nm), Red Excitation Laser (642 nm) e Green Excitation Laser (561 nm)
6. Laser Diffusione laterale (785 nm)
7. Possibilità di regolare la potenza dei laser di eccitazione
8. Possibilità di accendere e spegnere qualunque dei laser di eccitazione
9. Possibilità di generare immagini in campo chiaro illuminando il campione con luce a lunghezza d’onda specifica fra 6 disponibili
10. Sistema di ingrandimento multiplo che prevede obiettivi 20X, 40X e 60X
11. Obiettivo 20X con le seguenti caratteristiche:
    1. Apertura Numerica maggiore o uguale a 0.5
    2. Pixel Size 1.0 x 1.0 micrometri
    3. Fiel of View 120 x 256 micrometri
    4. Imaging Rate di 5000 cellule/secondo
12. Obiettivo 60X con le seguenti caratteristiche:
    1. Apertura numerica di 0.9
    2. Pixel Size di 0.3x0.3 micrometri
    3. Fiel of View di 40 x 170 micrometri
    4. Imaging Rate di 1200 cellule/secondo
13. Obiettivo 40X con le seguenti caratteristiche:
    1. Apertura Numerica di 0.75
    2. Pixel Size di 0.5 x 0.5 micrometri
    3. Field of view di 60 x 128 micrometri
    4. Imaging Rate di 2000 cellule/secondo
14. EDF (profondità di campo estesa) che dovrà avere una combinazione di ottiche specializzate e algoritmi di elaborazione delle immagini, per proiettare tutte le strutture all'interno della cellula in un nitido piano di messa a fuoco.
15. Campionatore automatico per piastre multi pozzetto: caricamento automatico del campione da piastre da 96 pozzetti
16. Efficienza di utilizzo del campione: deve poter esser utilizzato fino al 95% del volume del campione e quello non utilizzato deve poter essere recuperato per ulteriori analisi
17. Kit di calibrazione dello strumento incluso
18. Sistema integrato, costituito da un unico strumento e da un PC, incluso nella fornitura, dotato dei software necessari per il corretto e completo funzionamento
19. Possibilità di visualizzare in tempo reale le popolazioni: ogni popolazione deve poter esser aggiunta a un elenco al momento della definizione del gate. Deve poter essere sufficiente selezionare una popolazione di interesse per visualizzare le cellule corrispondenti durante l’acquisizione dati
20. Durante l’acquisizione le immagini delle cellule di interesse devono poter essere visualizzate in modo da consentire di ispezionare la morfologia, valutare il pattern di colorazione e ottimizzare le impostazioni del laser.
21. Generazione di grafici
22. Compensazione dell’intensità in tempo reale
23. Visualizzazione dello stato operativo dello strumento attraverso indicatori e avvisi di testo
24. Generazione di grafici a punti e istogrammi: i grafici dei dati devono potersi aggiornare in tempo reale, con la possibilità di tracciare parametri morfologici come Area, Larghezza delle cellule, Altezza delle cellule
25. Il software di analisi delle popolazioni deve prevedere una galleria immagini che consenta di visualizzare l’immagine di ogni cellula
26. Possibilità di selezionare il punto di ogni grafico di dispersione per visualizzare le immagini delle cellule e viceversa. Ogni punto di ogni grafico a dispersione deve essere collegato all’immagine della cellula corrispondente.
27. Possibilità di eseguire statistiche complete sulle popolazioni per rilevare le differenze nella morfologia, fenotipo e funzione delle cellule.
28. Possibilità di creare grafici, istogrammi e diagrammi a punti. Per ogni cellula devono poter esser calcolati i seguenti parametri:
    1. Intensità della fluorescenza
    2. Forma della cellula
    3. Consistenza della cellula