

כ"ג סיון תשע"ה

10/6/2015

## ערכה לכימות דנ"א

### א. כללי

1. מעבדת דנ"א וביולוגיה מעוניינת לרכוש ערכות לכימות דנ"א.
2. הערכות ישמשו לקביעת ריכוז דנ"א מדגימות פורנויות כולל מדגימות המכילות מעכבי PCR.
3. הערכות יאפשרו לקבוע את המין של מקור הדנ"א בדוגמא, את היחס בין דנ"א שמקורו בזכר לדנ"א הכללי בתערובות דנ"א ואת רמת העיכוב הנובעת מעכבי PCR שבדגימה.
4. רמת הדיוק בקביעת ריכוז הדנ"א בדגימה תאפשר המשך עבודה עם כמות חומר המתאימה להפקת פרופיל גנטי אופטימלי מהדגימה.
5. אפיון זה מתייחס לאספקת ערכות לכימות דנ"א כמפורט בסעיף ג' להלן.
6. הערכות יעמדו בתנאים ובכל הסעיפים המופיעים באפיון זה.

### ב. מסמכים ישימים

1. Thomas, T. *et al.*, (2013) Qiagen's Investigator™ Quantiplex Kit as a Predictor of STR Amplification Success from Low-Yield DNA Samples. *Journal of Forensic Sciences*. 58 (5): 1306-1309.
2. Vernarecci *et. Al.*, (2015) Quantifiler® Trio Kit and Forensic Samples Management: A matter of Degradation. *Forensic Science International: Genetics*. 16: 77-85.

### ג. פירוט הערכות ואפיון טכני

1. הערכה תהיה ערכה לכימות בה נעשה שימוש בטכנולוגיית Real-Time PCR.
2. תהליך הבדיקה יהיה מבוסס על עליה ברמת פלואורסנציה הנמדדת במהלך הבדיקה.
3. הערכה תהיה ספציפית לכימות DNA ממקור אנושי.
4. הערכה תאפשר קביעת ריכוז DNA כללי ו-DNA ממקור זכרי.

5. הערכה תתאים לעבודה במכשירים המצויים במעבדה :  
7500 Real Time PCR (Applied BioSystems)  
ובאמצעות התוכנה :  
HID real time PCR analysis V1.2 (Life Technologies)  
לחילופין, תסופק עם הערכה תוכנה המאפשרת :
1. שימוש בערכה לקביעת כמות דנ"א כללי וזכרי ממקור אנושי באמצעות המכשיר שצוין לעיל.
  2. קביעה ידנית של הפרמטרים המפעילים את המכשיר (זמן וטמפרטורות הראקציות, מספרי המחזורים וכדומה).
  3. אפשרות ייבוא תבניות עבודה וייצוא תוצאות באמצעות תוכנת Microsoft Excel.
  4. ביצוע אנליזה והצגת תוצאות (כולל מדדי איכות של עקומת הסטנדרטים).
  6. ריאקציית השכפול תבוצע בפלטות 96 באריות.
  7. זמן ריאקציית השכפול של הערכה לא יעלה על 70 דקות.
  8. לצורך הרכבת עקומת הסטנדרטים יעשה שימוש בשמונה ריכוזי DNA, בדופליקט, לכל היותר.
  9. לצורך הכנת הריאקציה, הראגנטים בערכה יהיו עמידים לעבודה מחוץ למקרר (בטמפרטורת חדר) לשעה לפחות.
  10. נפח דוגמת המיצוי הדרוש לריאקציה לא יעלה על 3 מיקרוליטר.
  11. הערכה תכלול את כל הראגנטים הדרושים לביצוע הבדיקה.
  12. טווח הרגישות של הערכה יהיה בין 10 pg/ul DNA ל- 50 ng/ul DNA לכל הפחות.
  13. הערכה תדע לזהות קיומם של מעכבי שכפול דנ"א העשויים להפריע בהמשך תהליך הפקת הפרופיל הדנ"א.

#### ד. בטיחות

1. בכל אספקה יצרף הזוכה הצהרה כי הינו מאחסן ומשנע את החומרים ע"פ הנחיות היצרן ומסמכי הבטיחות (MSDS).
2. החומרים יסופקו באריזות מתאימות כך שיעמדו בתנאי ההובלה והאחסון במעבדה.
3. הערכות יאוחסנו, יועברו ויסופקו בתנאי טמפרטורה כפי שנדרשים על ידי היצרן.
4. בכל משלוח יצרף הזוכה דפי בטיחות –Material Safety Data Sheet-MSDS.



## ה. אספקה

1. הזמנת החומרים תבוצע ע"פ כמויות כמפורט בהזמנה מאושרת בכתב מרמ"ד תקציבים אח"מ וזמן האספקה לא יעלה על 20 יום מיום קבלת ההזמנה החתומה.
2. החומרים יסופקו למעבדות מז"פ בירושלים עם תוקף של שישה חודשים לפחות ביום אספקתם. בתנאי האחסון בהתאם להוראות היצרן, לא תהייה כל ירידה בפעילות במשך תקופה זו.
3. לאחר פתיחת הערכה, החומרים בה יהיו עם תוקף של שבוע לפחות בתנאי האחסון בהתאם להוראות היצרן, לא תהייה כל ירידה בפעילות במשך תקופה זו.
4. הספק יחזיק אצלו במלאי ערכות בכמות המספיקה ל- 1,200 ראקציות לפחות, על מנת שתתאפשר אספקה מיידית למזמין (תוך 24 שעות מדרישה).

## ו. אחריות

1. הספק יעסיק בארץ נציג שירות בקיא בהפעלת הערכה, התוכנות והמכשירים הנדרשים לצורך שימוש בערכה.
2. במידה ותתגלה בעיה בשימוש בערכות, נציג השרות ייתן מענה תוך 48 שעות ממועד הקריאה. המענה יהיה טלפוני ו/או הגעה למעבדת דנ"א וביולוגיה במטא"ר ירושלים, ע"פ הצורך.

## ז. אבטחת איכות

1. ליצרן הערכה מערכת בקרת איכות מתועדת בתהליך היצור. מסמכים המעידים על כך יועברו לידי נציג מ"י ע"פ דרישה.
2. הערכה תהייה תקפה לעבודה (validated) במעבדות פורנזיות (ולידציה של היצרן).
3. אישור דגם טרם קביעת זוכה:
  - 3.1 תוך 21 יום מדרישה תועבר ערכה/ערכות שיספיקו ל- 400 בדיקות לאישור המעבדה לביצוע בחינה כמפורט בנספח א'.
  - 3.2 הערכה/ערכות לא תוחזר למציעים בסיום הבחינה.
  4. ביקורת קבלה לאחר קביעת זוכה:
    - 4.1 באספקה שוטפת תיבדק התאמה לכמות שהוזמנה.
    - 4.2 בשימוש השוטף בערכות תיבדק התאמה לספסיפיקציות היצרן.
    - 4.3 במידה והערכות שהתקבלו תגענה במצב שאינו מאפשר בדיקה, או לא יעמדו בספסיפיקציות היצרן, יוחזרו הערכות לספק והמזמין יקבל אחרות תמורתן, ללא תוספת מחיר, תוך 7 ימים.

**ח. אריזה וסימון**

1. החומרים יסופקו באריזה וסימון מקוריות של היצרן ואשר תכיל את הנתונים הבאים:
  - 1.1 שם הערכה ותכולת האריזה.
  - 1.2 מספר אצווה.
  - 1.3 תאריך פג תוקף.
  - 1.4 תנאי אחסון נדרשים.
  - 1.5 אזהרות בטיחות רלבנטיות.
2. הערכה תסופק באריזה המאפשרת כימות של 200 בדיקות לפחות.

**נספח א'**

**ניסוי ובדיקת איכות לערכות- טרם קביעת זוכה**

1. הערכה תיבדק בבדיקות המתוארות בטבלת האיכות (טבלה א').
2. הבדיקות יבוצעו על ידי צוות מעובדי מעבדת דני"א וביולוגיה.
3. דגימות ה-DNA שישמשו לבדיקה יוכנו על ידי עובדי המעבדה.
4. פרוטוקול העבודה שישמש במהלך הבדיקות יהיה ע"פ המלצות היצרן ו/או נציגו בארץ.
5. באחריות המציע להגיע למעבדה (בהתראה של שבועיים מראש) ולהתקין את המכשירים והתוכנות הדרושים לביצוע הניסוי.
6. ערכה/ערכות שישפיקו ל- 400 בדיקות לביצוע הניסוי ולהכנת המכשירים לבדיקה יסופקו על ידי המציע ועל חשבונו (עלות הערכות לבדיקה לא תוחזר למציעים). במידה ותידרשנה דגימות נוספות המציע יספק חומר נוסף להשלמת הבדיקות.

**טבלה א' – מדדי הבחינה**

מס"ד	נושא	ערך רצוי	אופן הבדיקה	דרישה
1	איכות עקומת סטנדרטים	מדדי עקומת הסטנדרטים (שיפוע עקומת הסטנדרטים (Slope), מדד קורלציה ו- Y	ייבדקו חמש עקומות סטנדרטים.	עומד/לא עומד

		מתקבלים בתחום המוגדר כתקין על פי הוראות היצרן. ( intercept		
$r^2$ של קו המגמה יהייה לפחות 0.85 בכל סמני הערכה	יבדקו 3 דגימות במיהולים בטווח ריכוזים של $1 \text{ ng}/\mu\text{l}$ ל- $0.125 \text{ pg}/\mu\text{l}$ . יבדק מדד הקורלציה של קו המגמה.	דיוק מקסימלי. ערך $r^2$ מקסימלי.	דיוק	2
לא יותר מ- 5 דוגמאות יתנו תוצאת כימות נמוכה מ- $0.25 \text{ ng}/\mu\text{l}$	יבדקו 80 דוגמאות מתיקים בהן דני"א בריכוז של לפחות $0.5 \text{ ng}/\mu\text{l}$ (המכילות דני"א ממקור זיכרון).	מינימלי	False Negative	3
לפחות 25 מהדגימות יתנו פרופיל בו האללים באתרים D3S1358, D16S539 ו-D16S539 יתקבלו בתחום של 1000 עד $20,000 \text{ RFU}$	יבדקו 30 דגימות מתיקים. תשוכפל כמות של $0.5 \text{ ng}$ דני"א (ע"פ תוצאת הכימות בערכה הנבדקת).	שוונות מינימלית בגובה אללים (RFU)	דוגמאות מתיקים	4

מפרט מס': 70/2015

[www.777.com](http://www.777.com)

