

כ"ז סיון תשע"ט

30/06/2019

ערכה לכימות דנ"א

1. כללי

- 1.1 מעבדת דנ"א וביולוגיה מעוניינת לרכוש ערכות לכימות דנ"א.
- 1.2 הערכות ישמשו לקביעת ריכוז דנ"א מדגימות פורנזיות כולל מדגימות המכילות מעכבי PCR.
- 1.3 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 ממעכבי PCR אם קיימים בדגימה.
- 1.4 רמת הדיוק בקביעת ריכוז הדנ"א בדגימה תאפשר המשך עבודה עם כמות חומר המתאימה להפקת פרופיל גנטי אופטימלי מהדגימה.
- 1.5 הערכות יעמדו בתנאים ובכל הסעיפים המופיעים באפיון זה.

2 מסמכים ישימים

- 2.1 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.
- 2.2 Vernarecci et. Al., (2015) Quantifiler® Trio Kit and Forensic Samples Management: A matter of Degradation. Forensic Science International: Genetics. 16: 77-85.

3 פירוט הערכות ואפיון טכני

- 3.1 הערכה תהיה ערכה לכימות בה נעשה שימוש בטכנולוגיית Real-Time PCR.
- 3.2 תהליך הבדיקה יהיה מבוסס על עליה ברמת פלואורסנציה הנמדדת במהלך הבדיקה.
- 3.3 הערכה תהיה ספציפית לכימות DNA ממקור אנושי.



3.4 הערכה תאפשר קביעת ריכוז DNA כללי ו-DNA ממקור זכרי.

3.5 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:

3.5.1 שימוש בערכה לקביעת כמות דנ"א כללי וזכרי ממקור אנושי

באמצעות המכשיר שצוין לעיל.

3.5.2 קביעה ידנית של הפרמטרים המפעילים את המכשיר (זמן

וטמפרטורות הראקציות, מספרי המחזורים וכדומה).

3.5.3 אפשרות ייבוא תבניות עבודה וייצוא תוצאות באמצעות תוכנת

Microsoft Excel.

3.5.4 ביצוע אנליזה והצגת תוצאות (כולל מדדי איכות של עקומת

הסטנדרטים).

3.5.5 להדגיש כי התוכנה תדרש להתאים לעבודה עם המכשיר

הנמצא בשימוש במעבדה כמפורט בסעיף **3.5 לעיל**.

נמחק: 3.5

3.6 ריאקציית השכפול תבוצע בפלטות 96 באריות.

3.7 זמן ריאקציית השכפול של הערכה לא יעלה על 70 דקות.

3.8 לצורך הרכבת עקומת הסטנדרטים יעשה שימוש בשמונה ריכוזי DNA,

בדופליקט, לכל היותר.

3.9 הראגנטים בערכה יהיו עמידים לעבודה מחוץ למקרר (בטמפרטורת חדר)

לשעה לפחות.

3.10 נפח דוגמת המיצוי הדרוש לריאקציה לא יעלה על 3 מיקרוליטר.

3.11 הערכה תכלול את כל הראגנטים הדרושים לביצוע הבדיקה.

3.12 טווח הרגישות של הערכה יהיה בין 10 pg/ul DNA ל- 50 ng/ul DNA

לכל הפחות.

3.13 הערכה תדע לזהות קיומם של מעכבי שכפול דנ"א העלולים להפריע

בהמשך תהליך הפקת פרופיל הדנ"א.

4 בטיחות

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

5 אספקה

- 5.1 אספקת החומרים תבוצע ע"פ כמויות כמפורט בהזמנה, זמן האספקה לא יעלה על 20 יום מיום קבלת ההזמנה החתומה בפורטל הספקים.
- 5.2 החומרים יסופקו למעבדות מז"פ בירושלים עם תוקף של שישה חודשים לפחות ביום אספקתם. בתנאי אחסון אשר תואמים את הוראות היצרן, לא תהייה כל ירידה בפעילות/פונקציונליות ותכונות הערכות במשך תקופה זו.
- 5.3 לאחר פתיחת הערכה, החומרים בה יהיו עם תוקף של שבוע לפחות בתנאי האחסון בהתאם להוראות היצרן, לא תהייה כל ירידה בפעילות במשך תקופה זו.
- 5.4 הספק יחזיק אצלו במלאי ערכות, בכמות המספיקה ל- 1,200 בדיקות לפחות, על מנת שתתאפשר אספקה מיידית למזמין (תוך 24 שעות מדרישה).

6 אחריות

- 6.1 הספק יעסיק בארץ נציג שירות בקיא בהפעלת הערכה, התוכנות והמכשירים שברשות מ"י הנדרשים לצורך שימוש בערכה.
- 6.2 במידה ותתגלה בעיה בשימוש בערכות, נציג השרות ייתן מענה תוך 48 שעות ממועד הקריאה (לא כולל שבתות וחגים). המענה יהיה טלפוני ו/או הגעה למעבדת דנ"א וביולוגיה במטא"ר ירושלים, ע"פ הצורך.

7 אבטחת איכות

- 7.1 ליצרן הערכה מערכת בקרת איכות מתועדת בתהליך היצור. מסמכים המעידים על כך יועברו לידי נציג מ"י ע"פ דרישה.
- 7.2 הערכה תהייה תקפה לעבודה (validated) במעבדות פורנזיות (ולידציה של היצרן).
- 7.3 אישור דגם טרם קביעת זוכה:

- 7.3.1 תוך 21 יום מדרישה תועבר ערכה/ערכות שיספיקו ל- 400 בדיקות לאישור המעבדה לביצוע בחינה כמפורט בנספח א'.
- 7.3.2 הערכה/ערכות לא יוחזרו למציעים בסיום הבחינה.
- 7.4 ביקורת קבלה לאחר קביעת זוכה:
- 7.4.1 באספקה שוטפת תיבדק התאמה לכמות שהוזמנה.
- 7.4.2 עם קבלת הערכות, יבחן מדגם מתוכן, לקביעת התאמה פונקציונלית לדגם שאושר לפני קביעת הזוכה.
- 7.4.3 בשימוש השוטף בערכות תיבדק התאמה לספסיפיקציות היצרן.
- 7.4.4 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.
- 7.4.5 במידה ויתגלו תקלות חוזרות, ידרש הספק לבצע תחקור ולתקן את התקלה.

8 אריזה וסימון

- 8.1 הערכות תסופקנה באריזה וסימון מקוריים של היצרן אשר יופיעו ע"ג הנתונים הבאים:
- 8.1.1 בר קוד
- 8.1.2 שם הערכה ותכולת האריזה.
- 8.1.3 מספר אצווה.
- 8.1.4 תאריך פג תוקף.
- 8.1.5 תנאי אחסון נדרשים.
- 8.1.6 אזהרות בטיחות רלבנטיות.
- 8.1.7 מספר הזמנה
- 8.1.8 מק"ט מ"י
- 8.2 הערכה תסופק באריזה המאפשרת כימות של 200 בדיקות לפחות.



נספח א'

1. ניסוי ובדיקת איכות לערכות- טרם קביעת זוכה

- 1.1 הערכה תיבדק בבדיקות המתוארות בטבלת האיכות (טבלה א').
- 1.2 הבדיקות יבוצעו על ידי צוות מעובדי מעבדת דני"א וביולוגיה.
- 1.3 דגימות ה-DNA שישמשו לבדיקה יוכנו על ידי עובדי המעבדה.
- 1.4 פרוטוקול העבודה שישמש במהלך הבדיקות יהיה ע"פ המלצות היצרן.
- 1.5 באחריות המציע להגיע למעבדה (בהתראה של שבועיים מראש) ולהתקין את התוכנה על גבי המכשירים וכן לבצע את כל הנדרש לביצוע הניסוי.
- 1.6 ערכה/ערכות שיספיקו 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 וזאת ללא תשלום נוסף.

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 (intercept) מתקבלים בתחום המוגדר כתקין על פי הוראות היצרן.	ייבדקו חמש עקומות סטנדרטים.	עומד/לא עומד
2	דיוק	דיוק מקסימלי. ערך r^2 מקסימלי.	יבדקו 3 דגימות במיהולים בטווח ריכוזים של $1 \text{ ng}/\mu\text{l}$ ל- $125 \text{ pg}/\mu\text{l}$. יבדק מדד הקורלציה של קו המגמה.	r^2 של קו המגמה יהייה לפחות 0.85 בכל סמני הערכה
3	False Negative	מינימלי	יבדקו 80 דוגמאות מתיקים בהן דני"א בריכוז של לפחות $0.5 \text{ ng}/\mu\text{l}$ (המכילות דני"א ממקור זיכריל).	לא יותר מ- 8 דוגמאות יתנו תוצאת כימות נמוכה מ- $0.25 \text{ ng}/\mu\text{l}$
4	דוגמאות מתיקים	שונות מינימלית בגובה אללים (RFU)	יבדקו 30 דגימות מתיקים. תשוכפל כמות של 0.5 ng דני"א (ע"פ תוצאת הכימות בערכה הנבדקת).	לפחות 25 מהדגימות יתנו פרופיל בו האללים באתרים הקצרים (האתר הראשון בכל צבע) יתקבלו בתחום של 1000 עד RFU 20,000