ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»
ΤΜΗΜΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ-ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ
ΔΙΕΘΥΝΤΗΣ Μ. ΛΙΑΤΣΗΣ
EFI Πιστοποίηση No:08-GR-005.995 20 Ιανουαρίου 2022

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ HLA ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ NGS

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Πλήρες κιτ αντιδραστηρίων μοριακής τυποποίησης HLA με τη μέθοδο Αλληλούχησης Νέας Γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS) για την κάλυψη τυποποίησης τουλάχιστον 15 γενετικών τόπων του Μείζονος Συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας HLA-A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1, HLA-E, F, G[(1)] και MICA[(2)], προκειμένου να επιτυγχάνεται ο έλεγχος όσο το δυνατόν περισσότερων γονιδίων (κλασσικών και μη HLA γονιδίων) του συμπλέγματος MHC και ως εκ τούτου, ο βέλτιστος προσδιορισμός Ιστοσυμβατότητας χωρίς να χάνεται πολύτιμη πληροφορία για την πορεία της μεταμόσχευσης.

2. Να επιτυγχάνεται τυποποίηση υψηλής ανάλυσης που να περιλαμβάνει ολόκληρα τα γονίδια HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G (εξόνια και εσόνια) καθώς και τα γονιδία HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, -DPB1 και MICA (εξόνια και όπου είναι δυνατόν και εσόνια).

3. Το κιτ αντιδραστηρίων να βασίζεται στη μεθοδολογία HybridCapture[(3)] με χρήση ειδικών ανιχνευτών μεγάλου μεγέθους, για την ενίσχυση των περιοχών – στόχων που πρόκειται να αλληλουχηθούν, ώστε να εξασφαλίζεται η βέλτιστη κάλυψη των MHC γονιδίων και κατά συνέπεια η πλέον αξιόπιστη γενετική αντιστοιχία. Η εναλλακτική τεχνολογία "Long-range PCR" δεν προτιμάται λόγω κινδύνων απώλειας διαγνωστικής πληροφορίας (allele dropouts[(3,4)]) ή δημιουργίας ανασυνδυασμένων αλληλουχιών κατά τη διάρκεια της αντιγραφής[(3)].

4. Να υπάρχει δυνατότητα ελέγχου δειγμάτων με μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων γενωμικού DNA - ιδιαίτερα για τα δείγματα των παιδιατρικών ογκολογικών ασθενών (10 ng/μl)- και να μην κρίνεται απαραίτητη η ποσοτικοποίηση του αρχικού υλικού.

5. Το κιτ αντιδραστηρίων να είναι κατάλληλο για In vitro διαγνωστική χρήση (CE-IVD).

6. Να συνοδεύεται από λογισμικό για την αυτοματοποιημένη ανάλυση των δεδομένων, του ίδιου κατασκευαστικού οίκου, το οποίο να είναι κατάλληλο για in vitro διαγνωστική χρήση (CE-IVD) και να δύναται να ολοκληρώνει την ανάλυση 24 δειγμάτων σε λιγότερο από 30 (τριάντα) λεπτά.Το προσφερόμενο λογισμικό να είναι απλό και φιλικό προς τον χρήστη, να παράγει συνεχόμενες αλληλουχίες ανά γενετικό τόπο για κάθε δείγμα, να συγκρίνει τις αναγνωσμένες αλληλουχίες με αλληλουχίες αναφοράς, και να επιτρέπει τη διαδραστική απεικόνιση των αλληλουχιών (αλληλουχία αναφοράς, αλληλουχία δείγματος, βάσεις που έχουν αναγνωστεί, βάθος αλληλούχισης, ποιότητα αναγνώσεων βάσεων και εναλλακτικές αναγνώσεις αλληλουχιών).

7. Το προσφερόμενο κιτ αντιδραστηρίων, καθώς και το λογισμικό ανάλυσης που το συνοδεύει να συμμορφώνονται με τα πρότυπα EFI (European Federation for Immunogenetics) και ASHI (American Society for Histocompatibility and Immunogenetics) και για την τυποποίηση HLA.

8. Ο προμηθευτής να διαθέτει επιστημονικά εκπαιδευμένο και επίσημα πιστοποιημένο προσωπικό από τον κατασκευαστικό οίκο για την επιστημονική υποστήριξη του προσφερόμενου κιτ.

9. Τα αντιδραστήρια να συνοδεύονται από γενετικό αναλυτή Νέας Γενιάς (Next Generation Sequencer - NGS) για την πραγματοποίηση των αναλύσεων.

ΑΝΑΛΥΤΗΣ NGS

10. Το σύστημα NGS να είναι αυτοματοποιημένο και να απαιτείται η όσο το δυνατό λιγότερη παρέμβαση του χρήστη.

11. Να μπορεί να ολοκληρώνει τη διαδικασία από το δείγμα στην άμεση αναφορά των αποτελεσμάτων σε όσο το δυνατό λιγότερο χρόνο.

12. Να ολοκληρώνεται η διαδικασία της ενίσχυσης του δείγματος και της αλληλούχησης, καθώς και η ανάλυση των αποτελεσμάτων στο ίδιο όργανο χωρίς να απαιτείται συμπληρωματικός εξοπλισμός.

13. Να επιτρέπει την αλληλούχηση δύο κατευθύνσεων (αρχική και συμπληρωματική αλυσίδα) στο ίδιο όργανο στην ίδια εκτέλεση (run), ώστε να εξασφαλίζεται η μικρότερη δυνατή ανθρώπινη παρέμβαση.

14. Να είναι δυνατή η επιλογή του μήκους αλληλούχησης και κατ' επέκταση της τελικής απόδοσης του συστήματος ανάλογα με την επιθυμία του χρήστη.

15. Να εξασφαλίζει αποτελέσματα υψηλής ποιότητας και ακρίβειας. Η πιθανότητα ορθής ανάγνωσης μίας βάσης (base calling accuracy) να είναι τουλάχιστον 99,9% για τουλάχιστον το 80% των βάσεων των προς ανάγνωση αλληλουχιών, ώστε να είναι εφικτή η μέγιστη δυνατή διασφάλιση ποιότητας των αποτελεσμάτων και να αποφεύγονται λανθασμένα αποτελέσματα και επαναλήψεις.

16. Κατά την αλληλούχηση να χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα και τα τέσσερα νουκλεοτίδια (τέσσερις βάσεις) για την αποφυγή λαθών από ομοπολυμερή (homopolymer errors).

17. Να προσφέρει τη δυνατότητα ελέγχου των αντιδραστηρίων με RFID.

18. Να διαθέτει λογισμικό ικανό να υπολογίζει και να ενημερώνει το χρήστη για την ποιότητα των αποτελεσμάτων για την πορεία της εκτέλεσης (run) με email.

19. Να υπάρχει δυνατότητα να παρακολουθείται το σύστημα κατά της διάρκεια της εκτέλεσης από εξωτερικό υπολογιστή.

20. Ο αλληλουχητής Νέας Γενιάς να υποστηρίζει ποικιλία εφαρμογών όπως: η αλληλούχηση διάφορων μικρών γονιδίων σχετιζόμενων με διάφορα νοσήματα καθώς και συγκεκριμένων μικρών panel στόχων, για τη διάγνωση πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών.

ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΜΗΧΑΝΗΜΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ DNA

21. Να συνοδεύεται από πλήρως αυτοματοποιημένο αναλυτή για απομόνωση νουκλεϊκών οξέων (DNA) από ποικιλία δειγμάτων, π.χ. ολικό αίμα (νωπό ή συντηρημένο σε ψύξη ή κατάψυξη), κύτταρα αίματος κ.α., με τεχνολογία μαγνητικών σφαιριδίων.

22. Η διαδικασία απομόνωσης από την λύση των δειγμάτων έως και το τελικό έκλουσμα να πραγματοποιείται αυτόματα, χωρίς να απαιτείται παρέμβαση του χειριστή.

23. Να δύναται να διαχειριστεί δείγματα τουλάχιστον 300 μl και να υπάρχει επιλογή του τελικού εκλουόμενου όγκου: 50, 100, ή 200 μl, για να μπορεί να αυξηθεί η συγκέντρωση του εκλούματος ενός δείγματος με ελάχιστα λευκά αιμοσφαίρια.

24. Το απομονωμένο DNA να είναι υψηλής συγκέντρωσης (τουλάχιστον 40ng/μl) και μέγιστης δυνατής καθαρότητας (A260/A280 ≥1.8 τουλάχιστον), κατάλληλο προς χρήση σε μοριακές τεχνικές.

25. Η συμβατότητα-καταλληλότητα της μεθόδου καθώς και των κιτ απομόνωσης σε εφαρμογές PCR τυποποίησης αντιγόνων ιστοσυμβατότητας είναι απαραίτητη. Τόσο το προσφερόμενο αυτόματο σύστημα όσο και τα κιτ απομόνωσης DNA να είναι εγκεκριμένα για in vitro διαγνωστική χρήση (CE-IVD).

26. Το σύστημα να χρησιμοποιεί έτοιμα προς χρήση αντιδραστήρια, τα οποία να αποσφραγίζονται αυτόματα για αποφυγή επιμολύνσεων.

27. Να διαθέτει σύστημα ανάγνωσης και αναγνώρισης γραμμωτού κώδικα (Bar code) για τα αντιδραστήρια και τα δείγματα.

28. Να έχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης επεξεργασίας τουλάχιστον 12 δειγμάτων σε διάστημα μικρότερο των 30 λεπτών. Το σύστημα να δύναται να επεξεργαστεί κατ'επιθυμία του χρήστη και λιγότερα δείγματα ανά run (ακόμη και ένα μεμονωμένο δείγμα) χωρίς επιπρόσθετη κατανάλωση αντιδραστηρίων.

29. Να είναι εφοδιασμένο με λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV lamp), που να αποστειρώνει την τράπεζα εργασίας μετά από κάθε run.

30. Το σύστημα να παράγει αναφορά της εκάστοτε διαδικασίας (run report), συμβατή με σύστημα LIMS.

31. Να είναι αυτόνομο στην λειτουργία του χωρίς να απαιτείται ηλεκτρονικός υπολογιστής.

32. Ο προμηθευτής να διαθέτει επιστημονικά εκπαιδευμένο και επίσημα πιστοποιημένο προσωπικό από τον κατασκευαστικό οίκο για την επιστημονική υποστήριξη του προσφερόμενου κιτ.

Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ NGS (ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΗΣ) ΜΕ ΤΟ ΜΗΧΑΝΗΜΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ DNA ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΗ ΚΑΙ ΑΠΡΟΣΚΟΠΤΗ ΡΟΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΠΡΟΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΔΙΟΤΙ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΟΛΑ ΤΑ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΣΤΑΔΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ!

Η προβλεπόμενη ποσότητα για 2 (δύο) έτη είναι:

ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ HLA ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ NGS ΜΕ ΣΥΝΟΔΟ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟ (ΑΝΑΛΥΤΗ NGS ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΗΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΟΥ DNA ΤΩΝ ΠΡΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ)					
ΕΙΔΟΣ	**ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ**	**ΕΚΤΙΜΟΥΜΕΝΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ 2(ΔΥΟ) ΧΡΟΝΙΑ**	**ΕΚΤΙΜΟΥ-ΜΕΝΗ ΤΙΜΗ ΑΝΑ ΤΕΣΤ**	**ΠΡΟΫΠΟΛΟ-ΓΙΣΘΕΙΣΑ ΔΑΠΑΝΗ ΠΛΕΟΝ ΦΠΑ**	**ΠΡΟΫΠΟΛΟΓΙΣΘΕΙΣΑ ΔΑΠΑΝΗ ΣΥΜΠ. ΦΠΑ**
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ HLA ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ NGS	ΚΙΤ	1200,00	432,00	518400,00	549504,00
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ (EXTRACTION) ΤΟΥ DNA ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ HLA	ΚΙΤ	1200,00			

ΥΠΟΣΤΗΡΙΚΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Extended loci Histocompatibility matching in HSCT-Going beyond classical HLA, Int J Immunogenet. 2021;001-18.
2. High-Throughput MICA/B Genotyping of Over Two Million Samples: Workflow and Allele Frequencies. Frontiers in Immunology, February 2020, vol.11, Article 314
3. Reduced PCR-generated errors from a hybrid capture-based NGS assay for HLA typing. J.humimm.2021.02.010
4. Concurrent typing of over 4000 samples by long-range PCR amplicon-based NGS and rSSO revealed the need to verify NGS typing for HLA allelic dropouts. J.humimm.2021.04.008