

Príloha č. 1A Opis predmetu zákazky

Predmetom zákazky je dodávka diagnostík, reagensií a spotrebného materiálu pre genetickú diagnostiku leukémií, lymfómov, hereditárnych nádorových syndrómov a somatických mutácií solídnych nádorov metódami masívneho paralelného sekvenovania (NGS) na 4 roky prostredníctvom objednávok (na základe uzatvorenej rámcovej dohody).

Všeobecné požiadavky na dodávku diagnostického a spotrebného materiálu vrátane nájmu prístroja:

- Počet vyšetrení: 2500/rok,
- Diagnostické sety musia zahŕňať kity pre samostatnú NGS analýzu somatických vzoriek; t.j. leukémií, lymfómov a solídnych nádorov a germinálnych vzoriek t.j. hereditárnych nádorových syndrómov, podľa potrieb objednávateľa/zadávatelia;
- Diagnostické kity pre leukémiu, lymfómy a hereditárne nádorové syndrómy musia umožňovať DNA detekciu jednonukleotidových variantov (*single nucleotide variants* = SNVs), variantov pre inzercie a delécie (InDels) a varianty počtu kópií (*copy number variants* = CNVs) v somatických i germinálnych vzorkách;
- Diagnostický kit/kity pre solídne nádory musí/musia umožňovať DNA detekciu jednonukleotidových variantov (*single nucleotide variants* = SNVs), variantov pre inzercie a delécie (InDels) a varianty počtu kópií (*copy number variants* = CNVs), RNA detekciu mutácií a génových fúzií v somatických vzorkách;
- Príprava NGS knižníc panelov pre leukémiu a solídne nádory musí využívať špecifické a univerzálne primery na presnú, komplexnú a úplnú detekciu variantov;
- Na prípravu NGS knižníc leukémií a solídnych nádorov a následnom vyhodnotení dát musia byť štandardne používané molekulárne barkódy (Molecular barcodes - MBCs)
- Kity na vyšetrenie DNA variantov pre leukémiu a solídne nádory musia byť kompatibilné s DNA a RNA izolovanou z tekutých biopsií ako aj tkanív solídnych nádorov v natívnej a fixovanej forme (FFPE) a musí spĺňať požiadavku rozsahu vstupného množstva DNA 10 – 250 ng na reakciu;
- Génové fúzie solídnych nádorov musia byť detegované na úrovni RNA;
- Kity na detekciu génových fúzií musia byť schopné detegovať a identifikovať fúzie so známym aj neznámym fúznym partnerom;
- Príprava NGS knižníc panelov hereditárnych nádorov a lymfómov musí využívať cielené špecifické próby, musí byť flexibilná s možnosťou využívania rôznych adaptérov a indexov, kompatibilných s rôznymi NGS analyzátormi;
- Kity pre hereditárne nádory a lymfómy musia byť dodávané kompletne, príprava knižnice, adaptéry, indexy, PCR amplifikačný mix, target špecifické próby, reagensie na čistenie knižníc po hybridizácii, post hybridizačný amplifikačný mix;
- Kity pre všetky uvedené skupiny vyšetrení musia obsahovať panely s možnosťou úprav podľa potreby klinickej praxe (napríklad pomocou tzv spike-in);
- Všetky ponúkané kity musia byť vzájomne kombinovateľné v jednom sekvenačnom behu;
- Výhľadovo je možné napojenie diagnostických esejí na automatizovanú prípravu vzoriek;

Súčasťou dodávky je aj prenájom nového nepoužitého stolového analyzátorov pre masívne paralelné sekvenovanie, jeho inštalácia na pracovisku, zaškolenie personálu, údržba a servis. K prístroju požadujeme doložiť technickú špecifikáciu a certifikát. Prístroj musí byť dodaný kompletný, schopný prevádzky. Dodávateľ zabezpečuje plnú kompatibilitu sekvenátora, sekvenačných reagensií a diagnostických kitov.

Základné požiadavky prístroja:

- Otvorená platforma s flexibilnými možnosťami výberu DNA/RNA knižníc a multiparalelného sekvenovania DNA, alebo cDNA knižníc;
- široká škála aplikácií vrátane možnosti sekvenovania celého exómu (WES) a transkriptomiky (RNA-Seq);
- možnosť paralelného spustenia dvoch nezávislých behov s odlišnými parametrami, s rôznym časom zahájenia, alebo spustenia druhého behu pri už prebiehajúcej sekvenácii;
- možnosť upgrade dodaného sekvenátora na verziu s vyššou sekvenačnou kapacitou;
- výhodou je možnosť upgrade sekvenátora na verziu umožňujúcu vykonávať multicytoprofilovanie;
- Súčasťou systému musí byť integrovaná operačná riadiaca jednotka s SW zaisťujúcim chod prístroja a spracovanie primárnych dát;
- súčasťou sekvenátora je garantovaná zabezpečená cloudová výpočtová platforma so servermi na území EÚ s okamžitým prístupom poskytovateľa cloudu k diagnostike riešenia prípadných problémov (interné kyberbezpečnostné pravidlá a pravidlá ukladania a zálohy dát), ako aj ich prepojenie so softvéromi pre bioinformatickú analýzu.
- Cloud musí obsahovať nasledujúce bioinformatické nástroje: bezpečné a šifrované zdieľanie NGS behov, demultiplexing, automatické trimovanie adaptérov na konci sekvenácie, automatické generovanie FASTQ súborov bezprostredne po dokončení sekvenačného behu, vytvorenie sekvenačného experimentu, grafické rozhranie na generovanie QC reportov vo formáte HTML, umožňujúci prehľadnú kontrolu kvality dát pracovníkom laboratória bez nutnosti zásahu bioinformatika

Bioinformatická analýza získaných dát musí byť zahrnutá v cene dodávaných kitov spolu s cloudovým úložiskom dát, dátové súbory musia byť do softvérov načítané vo forme fastq súborov, spracovanie dát musí byť umožnené viacerými užívateľmi (aspoň 5 užívateľov).

Základné požiadavky na Software pre bioinformatickú analýzu leukémií a vzoriek solidných nádorov:

- Bioinformatická analýza na somatické vzorky musí byť vyvinutá vzájomne jedným výrobcom;
- musí pokrývať primárne kroky terciárnej analýzy (napr. anotácia z Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) a ClinVar);
- Software musí umožňovať zobrazenie štatistiky čítaní všetkých, ale aj unikátnych fragmentov – počet fragmentov, počet mapovaných fragmentov, percento fragmentov, prejdejších alignment filtrom, percento on-target fragmentov a ďalej štatistiky DNA a RNA readov;
- Software musí zobrazovať deduplikačný pomer a priemerné dĺžky DNA resp. RNA fragmentov každej vzorky;
- Software musí umožňovať detekciu fúzií, identifikáciu exon skipping udalosti a ďalších štrukturálnych prestavieb, identifikáciu mutácií typu jednonukleotidových polymorfizmov (SNP), inzercií/delecií (indels) až do dĺžky ~30 bp, stanovenie relatívnej úrovne expresie a ich imbalancií, identifikácie relatívneho nárastu/straty počtu kópií (CNV) a identifikáciu mikrosatelitnej nestability (MSI) v cieľových oblastiach a celkovej mutačnej nálože (TMB);
- Software musí umožňovať vizualizáciu čítaní podporujúcich breakpoint a nájdenú fúziu na overenie presnosti detekcie nájdených fúzií

Základné požiadavky na Software pre bioinformatickú analýzu hereditárnych nádorov a lymfómov:

- Bioinformatická analýza musí zahŕňať sekundárnu aj terciárnu analýzu;
- Software musí umožňovať aj analýzu dát cielených panelov, exómov, genómov aCGH arrays s poskytujúcou podporou diagnózy a terapeutických rozhodnutí;

- Software musí umožňovať možnosť automatického nahratia dát zo sekvenátora, automatizácia spustenia analýzy, prepojenie s LIMS systémom;
- musí umožňovať nastavenie filtrov a reportov podľa potrieb laboratória a vytváranie vlastnej súkromnej databázy variantov pre účely sledovania predošlých hodnotení;
- umožňuje automatickú klasifikáciu variantov založenú na ACMG/ClinGen;
- umožňuje anotáciu pomocou zdrojov ClinVar, gnomAD V4, OMIM;
- využíva na integráciu skórovania REVEL, CI-SpliceAI;
- SW musí zabezpečiť presnú detekciu variantov podľa ľudského referenčného genómu Hg19/Hg38;
- SW musí zabezpečiť update zdrojových databáz na mesačnej báze a má funkciu upozornenia (GenomeAlert), ktorý v prípade zmien v hodnotení variantov zabezpečí reanalýzu prípadov na základe posledných udpatov ClinVar;
- Software musí byť otvorený na analýzu rôznych kitov, podporujúci analýzy dát z rôznych NGS sekvenátorov (Illumina, MGI, Element, ONT, atď.) a musí umožniť analýzu dát aj somatických vzoriek na DNA, RNA, a ctDNA