

PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARA LA CONTRATACIÓN DE SUMINISTRO DE MATERIAL PARA EXTRACCIÓN DE ADN/ARN (CANTABRIA) A ADJUDICAR POR PROCEDIMIENTO ABIERTO.**REF.: TEC0005026****1. Objeto y alcance del Pliego**

Este contrato tiene como objeto el **suministro de ensayos de extracción de ADN y ARN sobre muestras de sangre, tejido, pelo y epitelio bucal de bovinos y equinos con objeto de realizar análisis de Identificación genética y de filiación y detección de Salmonella y Listeria en muestras de piensos destinados a alimentación animal y en muestras de alimentos (Cantabria)**

2. Especificaciones técnicas de las partidas de contrato

La extracción de ARN se realizara sobre muestras de sangre entera para detección de lengua azul y sobre muestras de heces y tráquea para detección de influenza aviar y enfermedad de Newcastle.

También se incluye el suministro de ensayos empleados para la extracción de ADN y ARN mediante uso de técnica de PCR en muestras procedentes de productos destinados a la alimentación de los animales de explotaciones ganaderas de la Comunidad Autónoma de Cantabria.

Además, está incluido el material necesario para la aplicación de técnica de PCR de múltiples productos en un solo paso utilizado para análisis de filogenias / paternidades en muestras animales.

El material suministrado se entregará en el Servicio de Laboratorio y Control (Dirección General de Ganadería, Consejería de Medio Rural, Pesca y Alimentación) ubicado en Santander (Cantabria).

CARACTERISTICAS GENERALES QUE DEBE CUMPLIR EL MATERIAL DEL CONCURSO

El material ofertado debe ajustarse necesariamente a las técnicas analíticas y protocolos de trabajo establecidos actualmente en el laboratorio de destino, tanto para los equipos en que va a ser utilizado como para el personal del laboratorio que realice estos trabajos.

Los ensayos objeto de esta contratación deben ser los que figuran tanto en los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) en vigor, como aquellos incluidos en el marco del alcance de Acreditación según norma UNE-EN ISO-IEC 17025 (extracción de ARN de lengua azul y de Influenza aviar y la extracción de ADN de sangre, pelo, tejido, epitelio bucal y sangre seca).

En el caso de los ensayos de extracción-purificación de ADN deberán ser compatibles con los ensayos de extracción de ADN utilizados actualmente en el laboratorio de destino (*BioSprint 96 DNA Blood kit (384). Ref. 940057 de Qiagen*) de modo que los reactivos de los kits que se usan en la actualidad puedan ser utilizados con las columnas de silica gel.

Además, todos los productos objeto de este contrato deben ser compatibles con los equipos robotizados *BioSprint 96® Workstation (Quiagen)* y *BioSprint 15® Workstation (Quiagen)* existentes en el laboratorio de destino.

REQUISITOS QUE TIENE QUE CUMPLIR EL MATERIAL SOLICITADO

Lote 1

1) Enzima de digestión Proteinasa K:

- Se requiere enzima proteinasa que deberá ser una proteasa aislada del hongo saprofito *Tritirachium album*.
 - Se precisa que presente un actividad >600 mAU/ml (mAU: unidad de liberación de aminoácidos y péptidos folín-positivos correspondientes a $1\ \mu\text{mol}$ de tirosina por minuto usando hemoglobina como sustrato y a 37°C)
 - Se adecuará para tiempos de digestión cortos y posea una alta actividad específica que se debe mantener estable en amplio rango de temperaturas y pH con aumento de la actividad a mayor temperatura.
 - Su modo de acción deberá realizarse en los enlaces peptídicos, actuando sobre el grupo carboxilo de los aminoácidos aromáticos hidrofóbicos alifáticos N-sustituidos.
 - Se precisa que sea libre de RNasa y DNasa.
 - No deberá inactivarse en presencia de EDTA y urea.
 - Se presentará con forma de polvo liofilizado en viales de 10 ml, listos para su uso.
- **Modelo orientativo: Proteinase K de QIAGEN, ref. 50919133 ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

2) Buffer para lisis de muestras:

- Se precisa tampón de reacción para mantener el pH adecuado para el funcionamiento de la ADN polimerasa en los procesos de lisis de tejidos.
-
- Deberá presentar:
 - o Densidad a 20°C : $1,017\ \text{g/cm}^3$.
 - o pH a 20°C : 8,3
- Se presentará en envase de 200 ml. para 1000 preparaciones.
- **Modelo orientativo: Buffer ATL de QIAGEN, ref. 50919076 ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

3) Tubos de plástico con protectores de imanes:

- Se precisan tiras de tubos de plástico con protectores de imanes compatibles y específicos para uso en equipo Biosprint 15.
- Los tubos serán transparentes, de fondo cónico, numerados y con capacidad de 1 ml.
- Se suministrará preferiblemente en caja de 240 tubos distribuidos en tiras de 5 tubos, permitiendo un número de tubos por caja diferente, siempre y cuando las tiras sean de 5 tubos cada una.

- **Modelo orientativo: KF BioSprint 15 Tubes and Covers de QUIAGEN, ref. 50997002141 ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

4) Protectores de imanes:

- Se precisan dispositivos protectores de imanes para uso en equipo robotizado *BioSprint 96® Workstation (Quiagen)*.
- Presentación preferiblemente en caja de 16 unidades.
- Modelo orientativo: **Large 96-rod covers de QUIAGEN, ref. 5091031668 ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

LOTE 2

1. Ensayo PCR Multiple en un único paso:

- El ensayo deberá estar diseñado específicamente para la realización de la técnica de PCR múltiple para obtención de múltiples productos de PCR en un solo paso e independientemente del molde de ADN empleado. Realizará la amplificación de múltiples dianas específicas mediante la técnica de PCR convencional.
- Presentará una doble concentración que evite la competencia entre la amplificación de múltiples fragmentos.
- Deberá presentarse listo para su uso, conteniendo concentraciones pre-optimizadas de sus componentes. No precisará adición de otros componentes externos a excepción de los primers ó cebadores.
- Deberá permitir la reacción de PCR de varios microsatélites de equino ó bovino en un solo tubo.
- Contará con una estabilidad mínima de un año a -20°C y permitirá su almacenamiento a 4°C hasta 6 meses, dependiendo de la fecha de caducidad.
- El ensayo deberá contener:
 - Mix con Taq DNA Polimerasa recombinante y activable por calor a 95°C (modificación específica para prevenir la formación de dímeros de primers ó de productos inespecíficos), Hot Start, Cloruro de Magnesio 3nM, una mezcla de desoxirribonucleótidos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP y hTTP) y tampón-buffer con sales y aditivos (factor MP) de forma que aseguren la máxima y similar eficiencia para todos los cebadores en el anillamiento y en la extensión (2x).
 - Solución Q: solución mejorante de la reacción, para facilitar la amplificación de zonas ricas en Guanina-Citosina ó con estructuras secundarias (5x).
 - Agua libre de RNasas.
- La presentación permitirá al menos 1000 reacciones múltiples de 50 µl ó 2000 reacciones de 25 µl.

- **Modelo orientativo: Multiplex PCR Kit (1000) de QIAGEN, ref. 509206145 ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

2. Ensayo de extracción de ADN y ARN utilizando la técnica de partículas magnéticas:

- Se requiere ensayo preparado listo para su uso, conteniendo todos los reactivos y fungibles, que permita la extracción de ADN y ARN de forma automatizada, a partir de distintos tipos de muestras: sangre, tejidos, pelo, tarjeta FTA, epitelio bucal y cultivos celulares, utilizando la técnica de partículas magnéticas.
- El método mediante el cual se realice la extracción deberá basarse en:
 - Lisis de las células con reactivos e incubaciones diferentes en función de la muestra con el fin de extraer el ADN
 - Unión del ADN a bolas magnéticas, lavado y elución común del ADN a todas las extracciones.
- El método de extracción deberá ser capaz de obtener el ácido nucleico no degradado y libre de inhibidores de la PCR.
- El tiempo total de ejecución del ensayo no será superior a 45 minutos.
- Deberá permitir que la cantidad de muestra de sangre entera a analizar se encuentre en el rango 100-250 µl.
- El kit permitirá el análisis de 384 preparaciones y deberá contener:
 - Buffer AL: 3 viales de 33 ml aprox. Con sal de guanidina y ser estable por más de un año a temperatura ambiente (15-25°C).
 - Proteasa: 2 viales
 - Disolvente de proteasa. 2 viales de 4,4 ml aprox.
 - Suspensión de partículas magnéticas: vial de 13 ml aprox.
 - Buffer AW1 concentrado: 2 viales de 98 ml aprox.
 - Buffer AW2 concentrado: 2 viales de 81 ml aprox.
 - RNase-free water: 2 frascos de 250 ml.
 - Buffer AE.: bote de 128 ml aprox.
 - Microplacas de 96 pocillos: 8 uds.
 - Placas de alta capacidad de 96 pocillos: 24 uds.
 - Protectores de imanes: 4 uds.
- Todos los componentes del ensayo podrán ser almacenados al menos durante un año a temperatura ambiente.
- Los rendimientos de ADN extraídos a partir de las distintas muestras deberán encontrarse entre los rangos indicados a continuación:
 - 200µl sangre de bovino: 4,4-7,0 µg
 - 200µl sangre de equino: 4,00-4,9 µg
- **Modelo: BioSprint 96 DNA Blood kit (384). Ref. 509940057 de Qiagen ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

3. Ensayo de extracción –purificación de ADN utilizando la técnica de unión de ADN a una membrana de purificación de silica-gel:

- Se requiere ensayo preparado listo para su uso, conteniendo todos los reactivos y fungibles, que permita la extracción-purificación de ADN de forma automatizada, a partir de distintos tipos de muestras: sangre, tejidos, pelo, tarjeta FTA, epitelio bucal y cultivos celulares, utilizando la técnica de unión de ADN a una membrana de silica-gel.
- El método mediante el cual se realice la extracción debe basarse en:
 - o Lisis de las células con reactivos e incubaciones diferentes en función de la muestra con el fin de extraer el ADN.
 - o Unión del ADN a una membrana de silica-gel, lavado y elución común del ADN a todas las extracciones.
- El método de extracción deberá ser capaz de obtener el ácido nucleico no degradado y libre de inhibidores de la PCR.
- El tiempo total de ejecución del ensayo no será superior a 45 minutos.
- Deberá permitir que la cantidad de muestra de sangre entera a analizar se encuentre en el rango 100-250 µl.
- El ensayo permitirá el análisis de 250 preparaciones y deberá contener:
 - o Buffer AL: 2 viales de 33 ml aprox. Con sal de guanidina y ser estable por más de un año a temperatura ambiente (15-25°C).
 - o Proteinasa K: 1 vial
 - o Buffer ATL: 1 vial de 50 ml aprox.
 - o Buffer AW1 concentrado: 1 vial de 95 ml concentrado aprox.
 - o Buffer AW2 concentrado: 1 vial de 66 ml concentrado aprox.
 - o RNase-free water: 2 frascos de 250 ml.
 - o Buffer AE.: 1 vial de 1280 ml aprox.
 - o Columnas de gel silica: 250 uds.
 - o Tubos de 2ml: 750 uds.
- Todos los componentes podrán ser almacenados al menos durante un año a temperatura ambiente.
- Los rendimientos de ADN extraídos a partir de las distintas muestras deberán encontrarse entre los rangos indicados a continuación:
 - o 200µl sangre de bovino: 4,4-12 µg
 - o 200µl sangre de equino: 4,00-4,9 µg
- **Modelo: QIAamp DNA Mini kit (250). Ref. 50951306 de Qiagen ó equivalente.** En caso de ofertar productos distintos a los de referencia, se justificará adecuadamente su absoluta equivalencia a éstos, indicando las características del modelo solicitado y su correspondencia con el ofertado. En caso de no cumplirse plenamente dicha equivalencia, la oferta será desechada.

SOLICITUD DE MUESTRAS PARA LA EVALUACION DEL PRODUCTO

Una vez realizada la apertura de ofertas y durante el periodo de evaluación técnica de los productos ofertados, en aquellos casos que se considere necesario, se podrán solicitar muestras (sin cargos) para proceder a ensayos destructivos, siendo este un requisito imprescindible para poder valorar la calidad del producto.

LUGAR DE ENTREGA DEL SUMINISTRO

El suministro del material incluirá los portes y embalajes hasta el laboratorio de destino, así como el medio específico de conservación en el transporte (refrigeración ú otros) si este fuera necesario.

Los pedidos se realizarán periódicamente mediante correo electrónico enviado al suministrador. El plazo de entrega una vez recibido el aviso de pedido no será superior a diez días naturales.

Los ensayos recibidos, tras solicitud mediante los citados pedidos, deberán ser del mismo lote si así se requiriera, en cuyo caso se haría constar en el documento de pedido enviado al suministrador, debiendo notificarse, por parte de la empresa adjudicataria y con antelación al envío de los productos, sobre cualquier incidencia a este respecto. Además deberán tener una fecha de caducidad nunca inferior a 12 meses contados desde la fecha de envío del documento de pedido.

La empresa adjudicataria deberá entregar los pedidos en el Servicio de laboratorio y Control, calle Peña Bejo, s/n; 39011 Santander. La entrega deberá efectuarse en días laborables establecidos según calendario laboral vigente de la ciudad de Santander, de lunes a viernes en horario de 9.00 a 14.00 horas.

CONTROL DE CALIDAD

Tragsa podrá realizar los ensayos necesarios, con un laboratorio acreditado, para verificar el cumplimiento de las especificaciones técnicas de este pliego. En caso de no conformidad el adjudicatario estará obligado a la restitución de las unidades que compongan el lote de fabricación ensayado.