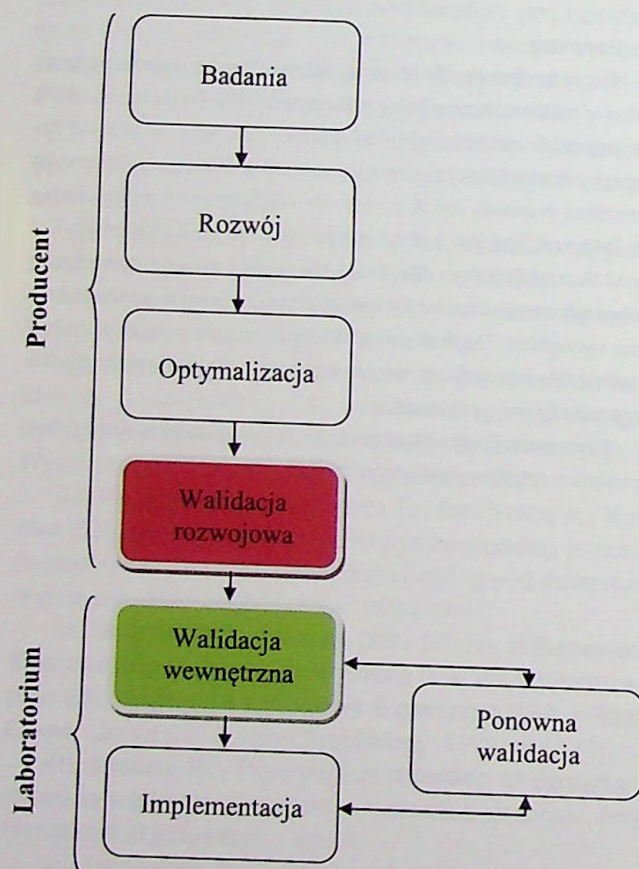


Anna Brągoszewska
Renata Zbieć-Piekarska

Wskazówki do walidacji wewnętrznej multipleksowych zestawów STR

Wstęp

Wdrożenie do badań nowej metody jest procesem wieloetapowym, a jego integralną częścią jest proces walidacji (ryc. 1) [1]. Walidacja to proces sprawdzenia przydatności metody przez zbadanie i przedstawienie obiektywnego dowodu, że walidowana metoda spełnia wszystkie wymagania oraz umożliwia niezawodnie i w sposób odtwarzalny realizację czynności, jakie ma na celu [2].



Ryc. 1. Proces wdrażania nowej metody
Fig. 1. Process of implementation of new method
Źródło (ryc. 1–4): autorki

Walidacja rozwojowa powinna zostać przeprowadzona przez producenta zgodnie ze wytycznymi SWGDAM, a jej wyniki opublikowane w branżowej literaturze.

Celem walidacji wewnętrznej jest zweryfikowanie uzyskanych w laboratorium wyników z deklaracjami producenta zestawu odczynnikowego [3]. Obowiązek przeprowadzenia walidacji wewnętrznej przez laboratorium, które wdraża nową metodę został nałożony przez Międzynarodową Organizację Normalizacyjną (International Standards Organization – ISO) w Normie PN-EN ISO 17025:2005. Norma ta jednak nie określa sposobu, w jaki walidacja powinna zostać przeprowadzona, a wskazuje tylko działania i narzędzia mogące jej służyć. Sposób i zasady jej przeprowadzania w laboratoriach kryminalistycznych wykonujących badania DNA zostały sformułowane w postaci wytycznych i wskazówek organizacji zajmujących się tą tematyką, tj. Naukowej Grupy Roboczej ds. Analizy DNA (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods – SWGDAM) czy Grupy Roboczej ds. DNA Europejskiej Sieci Laboratoriów Nauk Sądowych (DNA Working Group of the European Network of Forensic Science Institutes – DNA WG ENFSI) [4, 5, 6, 7]. W ramach walidacji wewnętrznej nowa metoda zostaje poddana wszechstronnej ocenie efektywności, niezawodności i wiarygodności.

Tematem tego opracowania jest przedstawienie minimalnych zaleceń walidacyjnych, którymi laboratorium genetyczne może się kierować, opracowując własny plan walidacji dla nowych zestawów multipleksowych STR.

Przebieg procesu walidacji wewnętrznej

Badania wewnętrzne muszą być należycie udokumentowane i prowadzić do ustalenia parametrów zapewniających jakość uzyskiwanych wyników oraz wytyczne do ich interpretacji. Walidacja jest procesem wieloetapowym i nie powinno się jej ograniczać jedynie do wykonania doświadczeń.

Główne etapy walidacji wewnętrznej to:

- określenie przeznaczenia metody i jej zakresu,
- zdefiniowanie testowanych parametrów analitycznych oraz kryteriów ich oceny (kryteria akceptacji),
- opracowanie planu doświadczeń walidacyjnych,
- sprecyzowanie charakterystyki sprzętu,
- przeprowadzenie doświadczeń,
- obliczenia, interpretacja wyników,

- określenie czy metoda spełnia stawiane jej wymagania,
- opracowanie standardowej procedury dla badanej metody,
- sporządzenie raportu.

Każde laboratorium powinno poddać ocenie parametry, które są istotne z punktu widzenia prowadzonych w nim rutynowo badań biologicznych. Należy pamiętać o tym, że walidowanie innych metod badawczych lub urządzeń badawczo-pomiarowych wiąże się z oceną innych parametrów.

Podstawowe parametry analityczne badane podczas walidacji wewnętrznej zestawów multipleksowych są następujące [4]:

- próg analizy,
- liniowość,
- zakres metody,
- czułość,
- balans heterozygotyczny,
- oznaczenie składników mieszaniny DNA,
- powtarzalność,
- odtwarzalność,
- ocena jakości profili DNA,
- ocena zgodności profili DNA (w przypadku porównania z innym systemem).

Podczas walidacji badaniom mogą zostać poddane również inne parametry, takie jak czułość metody na inhibitory czy czułość zestawu w stosunku do zdegradowanego DNA.

Przykładowy projekt walidacji wewnętrznej

W tej części przedstawiony zostanie przykładowy sposób przeprowadzenia doświadczeń walidacyjnych. Wybrane parametry zostaną omówione oraz zaprezentowany będzie sposób ich oceny.

Próg analizy

Każdemu pomiarowi dokonywanemu na analizatorach genetycznych towarzyszą tzw. szumy tła, które nie są związane z badanym materiałem genetycznym.

Z tego względu jednym z najtrudniejszych aspektów analizy DNA, w przypadku materiału dowodowego zawierającego jego niewielkie ilości, jest interpretacja wyniku, ponieważ trudno odróżnić właściwy sygnał pochodzący od badanego materiału od szumu tła. W tej sytuacji warunkiem koniecznym profilowania genetycznego jest uprzednie wyznaczenie progu analizy DNA i konsekwentne uwzględnianie go podczas każdej kolejnej analizy. Próg analizy pozwala na wiarygodne oddzielenie sygnału badanych fragmentów DNA od sygnału będącego szumem tła.

W celu określenia progu analizy dla danego analizatora genetycznego należy określić dwa parametry:

- limit detekcji dla tego urządzenia (*limit of detection* – LOD),
- limit oznaczalności (*limit of quantitation* – LOQ).

Limit detekcji – nazywany także limitem wykrywalności – podawany jest w jednostkach RFU (*relative fluorescent units*). Jest to najniższy sygnał fluorescencji odpowiadający najmniejszej ilości badanego materiału w próbce, który może być wykryty, lecz niekoniecznie wiarygodnie oznaczony. Parametr ten można wyznaczyć, poddając obserwacji linię bazową (indywidualnie dla odcinków znakowanych danym barwikiem fluorescencyjnym) w próbce negatywnej PCR (tzw. próbce ślepej lub kontroli odczynnikowej). Limit detekcji można scharakteryzować dwoma parametrami: średnią arytmetyczną i odchyleniem standardowym, według następującego wzoru (1):

$$LOD = x + 3s \quad (1)$$

gdzie:

LOD – limit detekcji,

x – średnia wartość dla poziomu szumów tła (zakłócenia linii bazowej),

s – odchylenie standardowe dla wartości x.

Próg analizy nie powinien spadać poniżej wyznaczonego limitu detekcji [7].

Limit oznaczalności (podawany w jednostkach RFU) jest progiem, powyżej którego sygnał fluorescencji może być wykryty i wiarygodnie oznaczony. Wartość tę można obliczyć wykorzystując wzór (2):

$$LOQ = x + 10s \quad (2)$$

gdzie:

LOQ – limit oznaczalności,

x – średnia wartość dla poziomu szumów tła (zakłócenia linii bazowej),

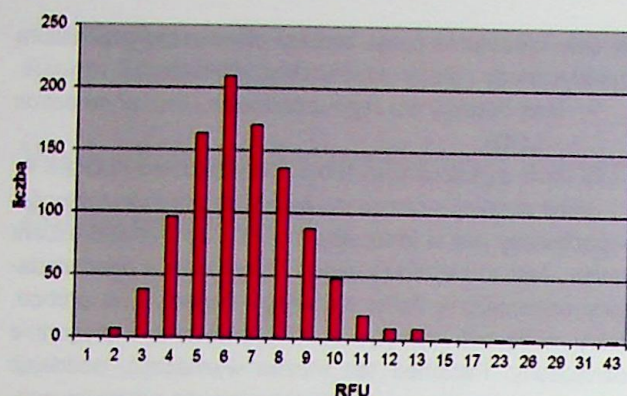
s – odchylenie standardowe dla wartości x [8].

Przykładowe doświadczenie

W celu wyznaczenia progu analizy należy przeprowadzić amplifikację walidowaną metodą pięciu negatywnych próbek (prób odczynnikowych). Podczas oceny uzyskanych wyników próg analizy powinien zostać obniżony do wartości 1 RFU. Następnie dla każdego z barwnych paneli powinna zostać wyznaczona średnia wartość poziomu szumów tła oraz odchylenie standardowe od tej średniej. Przykładowy wykres obrazujący wyniki uzyskane w tym doświadczeniu przedstawiono na rycinie 2.

Wyznaczony w powyższym doświadczeniu limit oznaczalności będzie stanowił właściwy próg analizy i powinien być konsekwentnie wykorzystywany do analizy wyników profilowania DNA w kolejnych doświadczeniach.

Limit detekcji oraz próg analizy powinny być oznaczane indywidualnie dla każdego analizatora genetycznego w laboratorium.



Ryc. 2. Przykładowy histogram ukazujący rozkład poziomu szumów tła dla panelu czerwonego, mierzony w RFU; zebrany dla pięciu negatywnych prób

Fig. 2. Exemplary block diagram with distribution of background noise level for red panel, measured in RFU; collected for five negative samples

Liniowość i zakres metody

Szczególnie ważnym parametrem opisującym metodę badawczą jest liniowość. Jest to parametr, który wskazuje na wprost proporcjonalną zależność wartości sygnału (w jednostkach fluorescencji) od stężenia DNA w próbce. Wraz ze wzrostem stężenia DNA w próbce wartość sygnału fluorescencji wzrasta liniowo, jednak tylko do pewnego momentu, który nazywany jest limitem liniowości.

Limit liniowości (*limit of linearity* – LOL) jest to wartość, przy której nie obserwuje się liniowego wzrostu sygnału fluorescencji, pomimo zwiększającej się ilości matrycowego DNA w próbce. Wartość tę można wyznaczyć na wykresie przedstawiającym średnie wartości sygnału fluorescencji (w jednostkach RFU) w stosunku do ilości matrycowego DNA użytego do reakcji.

Wraz z liniowością powinien być wyznaczony również zakres metody, czyli przedział (w zakresie stężeń DNA), w obrębie którego metoda daje wiarygodne wyniki. Zakres ten obejmuje dolną granicę oznaczalności (limit oznaczalności) i górną granicę liniowości (limit liniowości).

Przykładowe doświadczenie

W celu oznaczenia liniowości i zakresu metody należy przeprowadzić amplifikację szeregu rozcieńczeń jednej próbki DNA walidowaną metodą w kilku powtórzeniach. Przykładowy schemat rozcieńczeń jednej próbki DNA przedstawiono w tabeli 1.

Następnie wyniki powinny zostać poddane analizie statystycznej określającej średnie wysokości pików alleli (w RFU) dla wszystkich powtórzeń, które zawierały takie samo stężenie DNA oraz odchylenie standardowe. Wartości te należy zaznaczyć na wykresie względem ilości matrycowego DNA poddanego amplifikacji. Konieczne jest zaznaczenie liniowego przebiegu tej zależności.

Szczególne znaczenie ma moment, w którym obserwowany jest na wykresie spadek liniowego wzrostu sygnału,

gdyż będzie on istotny dla określenia zakresu metody. Możliwe jest również zaobserwowanie w tym punkcie wzrostu odchylenia standardowego od średnich wysokości pików alleli. Wzrost odchylenia standardowego może być spowodowany preferencyjną amplifikacją loci o małej masie cząsteczkowej w stosunku do loci o większej masie cząsteczkowej, co widać podczas amplifikacji zbyt dużej ilości materiału genetycznego. Przykładowy wykres obrazujący wyniki uzyskane w tym doświadczeniu przedstawiono na rycinie 3.

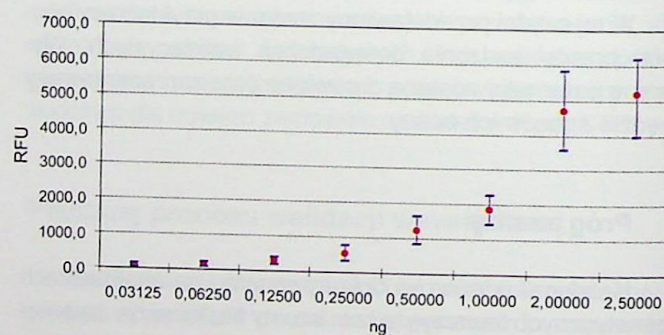
Tabela 1.

Przykładowy schemat rozcieńczeń jednej próbki DNA wykonywanych celem badania liniowości i zakresu metody

Exemplary scheme of dilutions of a DNA sample performed in order to examine the method's linearity and range

zawartość DNA w próbce [ng]	ilość powtórzeń
2	2
1	2
0,5	4
0,25	4
0,125	4
0,0625	4
0,03125	4

źródło (tab. 1–2): opracowanie własne



Ryc. 3. Przykładowy wykres zależności średnich wysokości alleli (w RFU) dla powtórzeń, które zawierały takie samo stężenie matrycowego DNA, względem ilości matrycowego DNA poddanego amplifikacji

Fig. 3. Exemplary diagram of relationship of mean allelic heights (in RFU) for repetitions which contained the same concentration of template DNA and the amount of template DNA subject to amplification

Powyższe doświadczenie powinno być przeprowadzone z wykorzystaniem matrycowego DNA o znanym stężeniu i profilu oraz z możliwie jak największą liczbą heterozygotycznych loci. Stężenie matrycowego DNA powinno być określone za pomocą standardowej metody ilościowej stosowanej w danym laboratorium.

Badanie czułości

Badanie czułości polega na określeniu najmniejszej, możliwej do wykrycia ilości matrycowego DNA w próbce wystarczającej do tego, aby uzyskać pełen profil DNA z wysokościami pików powyżej wyznaczonego progu analizy na danym analizatorze. Wartość tę można określić doświadczalnie, analizując próbki zawierające znane lecz zmienne stężenie DNA.

Przykładowe doświadczenie

W tym przypadku można skorzystać z wyników amplifikacji szeregu rozcieńczeń DNA przeprowadzonych w poprzednim doświadczeniu, poddając próbki ponownej analizie. Analiza powinna umożliwić wytypowanie próbek z minimalnym stężeniem DNA, dla którego – w każdym powtórzeniu – możliwe jest uzyskanie pełnego profilu.

Najmniejsza ilość matrycowego DNA wystarczająca do uzyskania profilu wyznaczana jest dla locus heterozygotycznego, w którym zaobserwowano allele o najniższych średnich wartościach sygnału. Wartość tę należy pomniejszyć o trzy odchylenia standardowe, według następującego działania (3):

$$x - 3s \quad (3),$$

gdzie:

x – średnia wysokość alleli o najniższych wysokościach pików zaobserwowanych w locus heterozygotycznym dla wszystkich powtórzeń, które zawierały takie samo (minimalne) stężenie DNA,

s – odchylenie standardowe dla wartości x [9].

Kryterium akceptacji:

Najmniejsza ilość matrycowego DNA w próbce, która wystarcza do uzyskania pełnego profilu DNA, to ta, dla której obliczona wartość $(x - 3s)$ będzie większa niż uprzednio wyznaczony próg analizy:

$$x - 3s > LOQ \quad (4).$$

Efekt stochastyczny

Efekt stochastyczny rozumiany jest jako niepożądane zjawisko charakterystyczne dla reakcji PCR mogące wystąpić w sposób losowy podczas badania zbyt małej ilości DNA. Polega on na nierównomierniej amplifikacji widocznej w obrazie pików w przypadku układu heterozygotycznego. Oznacza to, że jeden allel w locus heterozygotycznym jest amplifikowany z większą wydajnością niż drugi (allel siostrzany), przez co otrzymuje się w locus parę alleli o różnych wysokościach i polach powierzchni pików.

Oceniając efekt stochastyczny, należy brać pod uwagę stopień zbalansowania heterozygot (*peak height ratio*

– PHR). Oblicza się go oddzielnie dla każdego układu i nie ma zastosowania dla loci homozygotycznych. Zbalansowanie heterozygoty wyraża się stosunkiem wysokości mniejszego pików do wysokości większego pików według wzoru (5):

$$PHR\% = \frac{w_{pn}}{w_{pw}} \times 100\% \quad (5),$$

gdzie:

$PHR\%$ – zbalansowanie heterozygot (stosunek heterozygotyczny),

w_{pn} – wysokość pików niższego allela w locus heterozygotycznym,

w_{pw} – wysokość pików wyższego allela w locus heterozygotycznym.

W trakcie prowadzonych badań walidacyjnych powinien zostać wyznaczony próg stochastyczny definiowany jako wysokość sygnału (w RFU) pochodzącego z matrycowego DNA poddanego amplifikacji, poniżej którego obserwuje się brak zbalansowania alleli na rekomendowanym poziomie w locus heterozygotycznym ($PHR > 60\%$), tj. wzrost dysproporcji w wysokościach pików wśród alleli siostrzanych.

Próg stochastyczny może być również zdefiniowany jako ilość matrycowego DNA, dla której ustalony odsetek loci heterozygotycznych pokazuje dysproporcje w wysokościach pików. Próg stochastyczny można wyznaczyć, sporządzając wykres stosunku heterozygotycznego dla alleli siostrzanych względem obserwowanej najniższej wysokości pików (w RFU) dla tej pary alleli w heterozygotycznym locus albo względem ilości amplifikowanego w kolejnych rozcieńczeniach matrycowego DNA [9].

Przykładowe doświadczenie

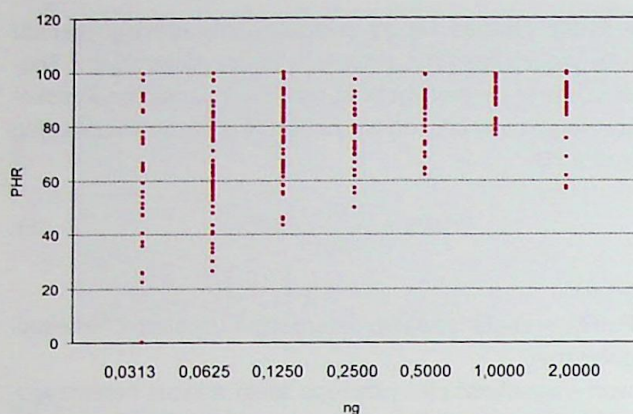
W tym przypadku można skorzystać z wyników amplifikacji szeregu rozcieńczeń DNA (tab. 1) przeprowadzonych w poprzednich doświadczeniach, poddając próbki ponownej analizie, która powinna pozwolić na określenie balansu heterozygotycznego dla alleli siostrzanych w każdym locus heterozygotycznym i wyznaczenie ich na wykresie względem najniższej wartości pików dla pary alleli siostrzanych albo względem stężenia matrycowego DNA.

Przykładowy wykres obrazujący wyniki uzyskane w tym doświadczeniu przedstawiono na rycinie 4.

Na wykresie tym należy zaobserwować przy jakiej wartości RFU następuje wzrost dysproporcji alleli siostrzanych lub jaki procent loci heterozygotycznych ma PHR niższe niż 60%, (przy niskich ilościach matrycowego DNA, szczególnie poniżej 250 pg matrycy).

Kryterium akceptacji:

Stosunek wysokości allela mniejszego do allela większego nie powinien wynosić mniej niż 60%.



Ryc. 4. Przykładowy wykres balansu heterozygotycznego w każdym locus heterozygotycznym (PHR) względem ilości matrycowego DNA użytego do reakcji

Fig. 4. Exemplary diagram of heterozygotic balance in each heterozygotic locus (PHR) and the amount of template DNA used in reaction

Odtwarzalność i powtarzalność

Powtarzalność (*repeatability*) jest to zróżnicowanie wyników uzyskanych w ciągu wielokrotnego badania tej samej próbki w tych samych warunkach pomiarowych (to samo laboratorium i urządzenie badawczo-pomiarowe, ten sam analityk, te same odczynniki i warunki środowiskowe laboratorium).

Odtwarzalność (*reproducibility*) jest to zróżnicowanie wyników uzyskanych w ciągu wielokrotnego badania tej samej próbki z zastosowaniem tej samej metody przez analityków różniących się wiedzą i doświadczeniem, w odstępie czasowym, z wykorzystaniem różnego wyposażenia.

Przykładowe doświadczenie

W celu oznaczenia powtarzalności i/lub odtwarzalności można wykonać pięciokrotną amplifikację tej samej próbki. W przypadku powtarzalności mogą zostać wykorzystane wyniki dla próbki powtarzanej w poprzednich doświadczeniach (np. kontrola pozytywna PCR). W przypadku badania odtwarzalności badana próbka powinna zostać poddana amplifikacji przez różnych analityków. Kolejne amplifikacje należy wykonać w odstępie czasowym, wykorzystując różne termocyklery. Następnie trzeba poddać każdą próbkę rozdzielni elektroforetycznemu. Muszą zostać określone średnie długości alleli (w parach zasad) oraz odchylenie standardowe.

Kryterium akceptacji:

Wartość trzykrotnego odchylenia standardowego dla średnich długości alleli powinna być mniejsza niż 0,5 bp.

Oznaczanie składników mieszaniny DNA

Badanie mieszanin jest niezmiernie istotne z punktu widzenia pracy laboratorium kryminalistycznego często

zajmującego się próbkami będącymi mieszaninami DNA pochodzącego od kilku dawców. Dlatego tak ważne jest przebadanie walidowanego zestawu pod kątem jego czułości względem składników mieszanin DNA.

Celem tego doświadczenia jest wyznaczenie najniższej proporcji mieszaniny, dla której może być wyznaczony pełny profil DNA mniejszościowego składnika.

Przykładowe doświadczenie

W celu oznaczenia składników mieszaniny DNA powinno się wykonać kilkukrotną amplifikację przygotowanych wcześniej mieszanin DNA w określonych proporcjach ilościowych. Do przygotowania tych mieszanin powinna być wykorzystana męska (A) i żeńska (B) próbka DNA o znanym stężeniu i profilu. Mieszaniny te odpowiednio oznaczone mogą być przygotowane według schematu przedstawionego w tabeli 2.

Tabela 2.

Przykładowy schemat zmieszania dwóch próbek DNA celem eksperymentalnego badania mieszanin DNA

Exemplary scheme of mixing DNA samples in order to examine DNA mixtures experimentally

Oznaczenie próbki	Składnik męski (A)	Składnik żeński (B)	Ilość powtórzeń
M1	1	0	1
M2	0	1	1
M3	1	1	3
M4	1	4	3
M5	4	1	3
M6	1	9	3
M7	9	1	3
M8	1	19	3
M9	19	1	3

Całkowita masa matrycowego DNA, w każdej próbce powinna być równa określonej uprzednio w teście czułości optymalnej ilości matrycowego DNA dla danego systemu. Mieszaniny DNA 1 : 0 i 0 : 1 stanowią próbki referencyjne podczas analizy mieszanin, które służą oznaczeniu profilu DNA każdej z nich.

Badanie zgodności oraz ocena jakości profili DNA

Badanie jakości profili DNA wykonuje się dla próbek materiału biologicznego będących reprezentatywną grupą dla danego laboratorium genetycznego i oznaczonych

walidowanym systemem. Natomiast celem badania zgodności profili DNA jest potwierdzenie, że profile oznaczane przez walidowany zestaw odczynników są zgodne z profilami oznaczonymi z wykorzystaniem innego komercyjnego (uprzednio zwalidowanego) zestawu o porównywalnym zestawie loci.

Przykładowe doświadczenie

W celu zbadania zgodności oraz jakości profili DNA próbki zazwyczaj występujące w danym laboratorium należy poddać pojedynczej amplifikacji walidowanym zestawem. Badanym materiałem (izolatami) mogą być zarówno próbki referencyjne, jak i zakodowane próbki pochodzące ze śladów biologicznych stanowiących materiał dowodowy do ekspertyz, np. wymazy ze śluzówki jamy ustnej, plamy krwi, włosy, ślina, substancja potowo-tłuszczowa, sperma, próbki zdegradowane oraz próbki z inhibitorem.

Minimalna ilość takich próbek powinna zawierać się w przedziale od 15 do 25 próbek (od 3 do 5 próbek na każdy rodzaj badanego śladu).

Analiza powinna uwzględniać ocenę następujących parametrów:

- Zbalansowanie wysokości alleli: należy ocenić zbalansowanie wysokości pików alleli siostrzanych w locus heterozygotycznym oraz zbalansowanie wysokości pików alleli pomiędzy wszystkimi loci.
- Wartość stosunku heterozygotycznego (PHR) powinna wynosić powyżej 60% zarówno dla heterozygotycznego locus, jak i dla alleli pomiędzy wszystkimi loci.
- Piki zwane stutterami – przez obliczenie stosunku wysokości piku stuttera do wysokości piku allele macierzystego.
- Zakres, w jakim powinny mieścić się wysokości stutterów w stosunku do wysokości właściwych alleli loci badanego zestawu, zazwyczaj wskazany jest przez producenta tego zestawu i jest różny dla każdego locus w zestawie.
- Czułość metody na inhibitory reakcji PCR i zdegradowane DNA.
- Wyniki (oznaczone w profilach DNA poszczególne allele) – uzyskane w różnych lecz porównywalnych systemach – powinny być ze sobą porównane (w przypadku badania zgodności profili DNA).

Raport walidacyjny

Po zakończeniu badań walidacyjnych powinien być sporządzony raport z walidacji wewnętrznej danej metody badawczej. Jest on nieodłącznym etapem walidacji wewnętrznej dokumentującym jej wykonanie. Raport ten musi zawierać istotne informacje dotyczące przeprowadzonych badań.

Elementy składowe raportu walidacyjnego:

- przedmiot i zakres walidacji,
- opis walidowanego zestawu multipleksowego oraz jego przeznaczenie,
- zdefiniowanie testowanych parametrów,
- liczba przebadanych próbek (ilość wykonanych reakcji) i rodzaj wykorzystanego materiału biologicznego,
- rodzaj zastosowanych odczynników,
- charakterystyka wykorzystanego wyposażenia (producent, typ),
- przedstawienie uzyskanych wyników dla badanych parametrów (wykresy, tabele, diagramy),
- informacje, czy poszczególne parametry spełniają założone kryteria akceptacji,
- wnioski końcowe zawierające informację, czy walidacja została zakończona wynikiem pozytywnym i czy metoda spełnia stawiane jej wymagania,
- dane osób wykonujących walidację metody.

Wyniki doświadczeń walidacyjnych należy zebrać i przechowywać w taki sposób, aby materiał ten był w każdej chwili dostępny dla pracowników laboratorium.

BIBLIOGRAFIA

1. Spólnicka M., Zbieć-Piekarska R.: Proces walidacji w kryminalistycznych badaniach profilowania DNA, „Problemy Kryminalistyki” 2008, nr 262.
2. <http://home.agh.edu.pl/ek/b/walidacja.pdf>
3. Małgorzata Jakubowska: Walidacja metod analitycznych. Katedra Chemii Analitycznej WIMIC AGH, <http://home.agh.edu.pl/~kca/Walidacja>
4. ENFSI DNA Working Group, Recommended Minimum Criteria of the Validation of Various Aspects of the DNA Profiling Process, 2010.
5. PN-EN ISO 9000:2001 Systemy zarządzania jakością. Podstawy i terminologia.
6. PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorujących.
7. SWGDAM Revised Validation Guidelines (2004)
8. Gilder J.R., Doom T.E., Inman K.: Run-specific Limits of detection and quantitation for STR-based DNA testing, „J. Forensic Sci” 2007.
9. Promega, (2009) Internal validation of STR system.

Streszczenie

Nieodzownym elementem wdrażania każdej nowej metody czy technologii przez laboratorium kryminalistyczne posiadające zaimplementowany system kontroli jakości jest walidacja tej metody przez pracowników. Walidacja metod badawczych stosowanych w laboratoriach kryminalistycznych daje gwarancję uzyskania wiarygodnych i powtarzalnych wyników badań, zapewniając równocześnie ich optymalną jakość. Również dzięki wyznaczeniu i ocenie odpowiednich parametrów charakteryzujących działanie metody badania walidacyjne dostarczają

zasadniczych informacji pozwalających na oszacowanie możliwości oraz ograniczeń danej metody. Wychodząc naprzeciw celom wdrożeniowym nowych zestawów multipleksowych i konieczności walidacji tych metod przez laboratoria kryminalistyczne, autorzy niniejszego opracowania postanowili zebrać i uzupełnić serię rekomendacji formułowanych na temat walidacji zestawów do identyfikacji osobniczej, którymi laboratoria genetyczne mogą się kierować, opracowując własny plan badań walidacyjnych.

Słowa kluczowe: walidacja wewnętrzna, projekt doświadczeń walidacyjnych

Summary

Validation of the method by personnel constitutes an essential element of implementation of a new method or technology in the forensic

laboratory having its quality management system in place. Validation of examination methods used in forensic laboratories is a guarantee of reliable and repeatable results of examination whilst ensuring the best quality possible. Furthermore, through the determination and evaluation of relevant parameters characterizing the method operation, validation provides basic information allowing to estimate the potential and limitation of a given method. Facing the implementation goals of new multiplex kits and the necessity of validation of these methods by forensic laboratories, the authors of the study decided to collate and complete a number of guidelines for validations of human identification kits which can be used by DNA laboratories in development of their validation schemes.

Keywords: internal validation, validation experiment project