




EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání v oblasti forenzní genetiky reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0080

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

Mezinárodní doporučení pro interpretaci výsledků vyšetření otcovství a příbuznosti

□ Zpracoval: Jiří Drábek

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

Osnova přednášky

- Úvod
- ISFG výklad normy ISO17025 (Morling *et al.*)
- Doporučení ISFG pro interpretace (Gjertson *et al.*)
 - Historický exkurz
 - Jednotlivá doporučení
- Návrh postojů ČSSFG
- Diskuse a závěr


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

Úvod

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

Doporučení ISFG

- Morling N, Allen R, Carracedo A, Geadia H, Guidet F, Hallenberg C, et al. Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics. Recommendations on genetic investigations in paternity cases. *Int J Legal Med* 2003 Feb;117(1):51-61.
- Gjertson DW, Brenner CH, Baur MP, Carracedo A, Guidet F, Luque JA, et al. ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Sci Int Genet* 2007;1(3-4):223-31.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



EVROPSKÁ UNIE **esf** MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY **MŠMT** OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost **ČSSFG**

(Lokální) alternativy doporučení

- Krev
 - Guidance for Standards for Parentage Testing Laboratories 6th Edition (2004) of the American Association of Blood Banks (AABB)
- HLA
 - Standards for Histocompatibility Testing of the European Federation for Immunogenetics version 5.6 (2008)

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

ISFG výklad normy ISO17025 (Morling)

- Motto z abstraktu článku: „The PTC (Paternity Testing Commission ISFG, pozn. překl.) recommends that paternity testing be performed in accordance with the ISO 17025 standards.“

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Zásady ISFG výkladu normy ISO17025

- Odborným výkladem se nemohou zavádět nové požadavky
- V normě se nemůže změnit ani slovo
- Pojdme odstavec po odstavci...

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 1. Cíl řízení kvality
- 2. Normativní odkazy
- 3. Terminologie a definice, seznam zkratk
- 3.1 Definice základních termínů
- 3.2 Použití zkratk
- 4. Požadavky na management
- 4.1 Organizace
- 4.1.1 Právní postavení
- 4.1.2 Odpovědnost LEM a odpovědnost vedení
- 4.1.3 Prostory LEM
- 4.1.4 Organizační struktura a postavení klíčových osob
- 4.1.5 Základní pravidla a povinnosti CL, RL, DL a LBB
- 4.1.6 Komunikace
- 4.2 Systém managementu
- 4.2.1 Dokumentace
- 4.2.2 Postupy
- 4.2.3 Trvalé zlepšování efektivnosti
- 4.2.4 Finanční požadavky
- 4.2.5 Technické postupy

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 4.2.5 Technické postupy
- 4.2.6 Úlohy a odpovědnost odborného vedení
- 4.2.7 Změny systému managementu
- 4.3 Řízení dokumentace
- 4.3.1 Všeobecné
- 4.3.2 Schvalování a vydávání dokumentů
- 4.3.3 Změny v dokumentech
- 4.4 Přezkoumání požávek, nabídek a smluv
- 4.4.1 Politika
- 4.4.2 Záznamy z přezkoumání
- 4.4.3 Přezkoumání smluvně zajištěné práce
- 4.4.4 Odchytky od smlouvy
- 4.4.5 Odchytky od smlouvy po zahájení prací
- 4.5 Subdodávky zkoušek
- 4.6 Nakupování služeb a zásobování
- 4.6.1 Politika
- 4.6.2 Kontrola dodávek
- 4.6.3 Obsah objednávek
- 4.6.4 Seznam dodavatelů

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 4.7.1

- Laboratoř musí být ochotna se zákazníky nebo s jejich představiteli spolupracovat při vyjasňování požadavků zákazníků a při sledování laboratorních výkonů souvisejících s prováděnou prací, a to za předpokladu, že laboratoř zajistí důvěrnost vůči ostatním zákazníkům.
- ISFG: pokud je množství vzorku dostatečné, laboratoř provede testy takovým způsobem, aby jiná laboratoř mohla provést potvrzující test

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 4.8

- Laboratoř musí mít politiku a postup pro řešení stížnosti zákazníků nebo jiných stran...
- ISFG: Při reklamaci laboratoř informuje zákazníky o možnosti retestování jinou laboratoří.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 4.9 Řízení neshodné práce
- 4.9.1 Politika
- 4.9.2 Postupy
- 4.10 Zlepšování
- 4.11. Opatření k nápravě
- 4.11.1 Všeobecně
- 4.11.2 Analýza příčin
- 4.11.3 Výběr a uplatnění opatření k nápravě
- 4.11.4 Monitorování nápravných opatření
- 4.11.5 Dodatečné audity
- 4.12 Preventivní opatření
- 4.12.1 Postupy pro preventivní opatření
- 4.12.2 Efektivnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 4.13 Řízení záznamů
- 4.13.1 Všeobecně
- 4.13.2 Technické záznamy
- 4.14 Interní audity
- 4.14.1 Plán interního auditu
- 4.14.2 Opatření
- 4.14.3 Záznam
- 4.14.4 Následná prověřovací činnost
- 4.15 Přezkoumávání managementem
- 4.15.1 Plán přezkoumání systému managementu
- 4.15.2 Protokoly o přezkoumávání systému kvality
- 5. Technické požadavky
- 5.1 Všeobecně

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.2.1

- Management laboratoře musí zajistit způsobilost všech osob pracujících v laboratoři, které pracují se specifickým zařízením, které provádějí zkoušky a/nebo kalibrace, hodnotí výsledky a podepisují protokoly o zkouškách a kalibrační listy/certifikáty...
- ISFG 1: požadavky na vedoucí laboratoře.
 - Vzdělání na úrovni pětiletého nebo šestiletého studia lidské genetiky nebo jiného relevantního oboru.
 - Nejméně tři roky zaškolení v kompetentní paternitní laboratoři dle ISFG doporučení za dohledu kompetentního školitele dle ISFG doporučení
 - Zkušenost by měla být dokumentována vyhotovením 100 protokolů o zkoušce, které pokrývají veškeré hlavní aspekty testování paternit.
- ISFG 2: požadavky na osoby, schvalující výsledkové protokoly
 - Stejně požadavky jako na vedoucí laboratoře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.2.2 Školení, výcvik a dohled
- 5.2.3 Pracovní vztahy
- 5.2.4 Popis funkcí
- 5.2.5 Pověření
- 5.3 Prostory a podmínky prostředí
- 5.3.1 Vliv prostředí
- 5.3.2 Monitorování prostředí

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.3.3

- Sousední prostory, ve kterých se provádějí činnosti, které nejsou kompatibilní, musí být efektivně odděleny. Musí být přijata opatření, aby se zabránilo zkřížené kontaminaci.
- ISFG: Laboratoř, která pro vyšetření využívá PCR, by měla zavést nezbytná antikontaminační opatření rozdělením laboratoře na následující pracovní prostory:
 - Oblasti bez zvláštního antikontaminačního zřetele
 - Oblasti pro PCR set-up se zvláštním zřetelem ohledně kontaminace vzorků
 - Oblasti pro zacházení s amplikonem se zvláštním zřetelem ohledně kontaminace ostatních oblastí laboratoře.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.3.4 Přístup do laboratoře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.3.5

- V laboratoři musí být přijata opatření k zajištění pořádku a úklidu. Podle potřeby musí být vypracovny zvláštní postupy.
- ISFG: Laboratoř využívající PCR by měla mít zavedeno monitorování potenciální kontaminace amplikonem.

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.4 Zkušební metody a validace metod
- 5.4.1 Všeobecně

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.2

- Laboratoř musí využívat takových zkušebních a/nebo kalibračních metod, včetně metod vzorkování, které splňují potřeby zákazníka a které jsou vhodné pro zkoušky a/nebo kalibrace, které laboratoř provádí...
- ISFG 1: paternitní laboratoř by měla profilovat takové systémy, pro které jsou dostupné externí testy kvality
- ISFG 2:
 - populační data použitých systémů by měla být dokumentována a vhodně používána
 - mutační frekvence použitých systémů by měly být dokumentovány a vhodně používány

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.4.3 Vývoj a zavádění metod a postupů

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.4

- Pokud je nezbytné použít metody neuvedené v normách nebo normativních dokumentech, pak tyto metody musí být předmětem dohody se zákazníkem a musí zahrnovat jasnou specifikaci požadavků zákazníka a účelu zkoušení a/nebo kalibrace. Vyvinuté metody musí být před použitím odpovídajícím způsobem validovány.
- ISFG:
 - metody neuvedené v normách nebo normativních dokumentech by neměly být použity jako jediné metody k paternitnímu vyšetření
 - Tyto nestandardní metody by měly být použity jen tehdy, pokud může být prokázáno, že je možné provést konfirmační vyšetření v jiné laboratoři.

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.4.5.1 Validace metod

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.5.2

- Aby se potvrdilo, že metody jsou vhodné pro zamýšlené použití, musí laboratoř validovat metody neuvedené v normách nebo normativních dokumentech, metody navržené/vyvinuté laboratoří, normalizované metody používané mimo zamýšlený rozsah použití a normalizované rozšířené nebo modifikované metody...
- ISFG: K validaci musí být použity všechny následující postupy:
 - Kalibrace s využitím referenčních standardů nebo referenčních materiálů
 - Srovnání s výsledky jiných metod
 - Mezilaboratorní srovnání
 - Systematické hodnocení faktorů ovlivňujících výsledek
 - Hodnocení nejistoty výsledku na základě vědeckého pochopení teoretických principů metody a praktické zkušenosti

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.5.3

- Rozsah a správnost hodnot, které lze získat z validovaných metod (např. nejistota výsledků, mez detekce, selektivita metody, linearita, meze opakovatelnosti a/nebo reprodukovatelnosti, robustnost z hlediska vnějších účinků, a/nebo koeficienty citlivosti vůči ovlivnění způsobené matricí vzorku/zkoušeného předmětu) tak, jak byly posouzeny pro zamýšlené použití, musí odpovídat potřebám zákazníků.
- ISFG:
 - Laboratoř by měla použít relevantní populační frekvence pro etnické skupiny, se kterými se rutinně při vyšetření setkává.
 - Pokud laboratoř využívá populační frekvence z jiné laboratoře, tak musí dokumentovat relevantnost této databáze a srovnatelnost metod, použitých k vyhodnocení této databáze.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

5.4.6.1 Odhad nejistoty měření

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.6.2

- Zkušební laboratoře musí mít a používat postupy pro odhad nejistoty měření...
- ISFG: nejistota měření by měla být známa a měla by být uvedena v interpretaci výsledku.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

5.4.6.3

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.7.1

- Výpočty a přenosy údajů musí být předmětem příslušných kontrol prováděných systematickým způsobem.
- ISFG: Veškeré ruční výpočty by měly být provedeny v duplikátě a revidovány vedoucím laboratoře nebo autorizovanou osobou.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.4.7.2

- Pokud jsou pro získávání, zpracování, zaznamenávání, vydávání, ukládání nebo vyhledávání údajů o zkouškách a kalibracích používány počítače nebo automatizovaná zařízení, musí laboratoř zajistit, aby:
 - Software byl dokumentovaný, validovaný, vhodný k použití...
 - Byly vytvořeny a uplatněny postupy na ochranu údajů...
 - Počítače a automatizovaná zařízení byly udržovány ve funkčním stavu...
- ISFG: veškeré počítačové výpočty by měly být validovány a revidovány autorizovaným pracovníkem nebo vedoucím laboratoře před tím, než budou sloužit jako podklad pro protokol o vyšetření.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.5.1

- Laboratoř musí mít veškeré potřebné prostředky pro vzorkování, měřící a zkušební zařízení požadované pro správné provádění zkoušek a/nebo kalibrací...
- ISFG: pokud laboratoř využívá PCR, měla by mít vyhrazené sety náčiní pro pre-PCR a post-PCR areály.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.5.2 Způsobilost zařízení a software
- 5.5.3 Obsluha zařízení
- 5.5.4 Identifikace přístrojů a zařízení
- 5.5.5 Záznamy o přístrojích a zařízeních
- 5.5.6 Údržba zařízení
- 5.5.7 Řízení nehod u zařízení
- 5.5.8 Označení kalibračních dat
- 5.5.9 Opětovné zprovozuschopnění
- 5.5.10 Mezikalibrační kontroly
- 5.5.11 Aktualizace korekčních faktorů
- 5.5.12 Ochrana před znehodnocujícím justováním
- 5.6 Návažnost měření
- 5.6.1 Všeobecné
- 5.6.2 Kalibrace a zkoušení
- 5.6.3 Etalony a referenční materiály

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.7.1

- Pokud laboratoř před zkouškami nebo kalibracemi provádí vzorkování látek, materiálů nebo výrobků pro následné zkoušení a kalibrování, musí mít pro toto vzorkování plán vzorkování a postupy...
- ISFG: Postupy, kterými se garantuje identifikace odebrané osoby a nepřerušenosť kontrolované manipulace se vzorkem, by měla být deklarována ve smlouvě se zákazníkem.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.8.1

- Laboratoř musí mít postupy pro přepravu, příjem, zacházení, ochranu, skladování a uchování zkušebních a/nebo kalibračních položek a/nebo pro jejich vypořádání, včetně všech opatření potřebných k ochraně integrity zkušební nebo kalibrované položky a k ochraně zájmů laboratoře a zákazníka.
- ISFG: pokud jsou testovací položky jako referenční materiál, pro vědecké účely a podobně, mělo by to být součástí smlouvy se zákazníkem.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Beze změn

- 5.8.2 Identifikace vzorků
- 5.8.3 Abnormality při příjmu
- 5.8.4 Ochrana a uchování vzorků

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Upřesňující výklad 5.9

EVROPSKÁ UNIE

- ❑ Laboratoř musí mít postupy řízení kvality pro monitorování platnosti provedených zkoušek a kalibrací...
- ❑ ISFG: laboratoř by se měla nejméně dvakrát ročně účastnit externího porovnávání kvality, kde jsou výsledky porovnávání odstupňované.

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Beze změn

EVROPSKÁ UNIE

- ❑ 5.10 Uvádění výsledků
- ❑ 5.10.1 Všeobecně

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Upřesňující výklad 5.10.2

EVROPSKÁ UNIE

- ❑ Každý protokol o zkouškách nebo kalibrační list/certifikát musí obsahovat alespoň následující informace, pokud laboratoř nemá podstatné důvody je neuvádět:

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf ...upřesňující výklad 5.10.2

EVROPSKÁ UNIE

- A) Název (např. „Protokol o zkouškách“ nebo „Kalibrační list“)
- B) Název a adresu laboratoře a místo, kde byly zkoušky a/nebo kalibrace prováděny, pokud jsou tyto údaje odlišné od adresy laboratoře
- C) Jednoznačnou identifikaci protokolu o zkouškách nebo kalibračního listu/certifikátu (např. sériové číslo) a na každé stránce identifikaci, která zajistí, že stránka je rozlišitelná jako součást protokolu o zkouškách nebo kalibračního listu/certifikátu, a dále jasnou identifikaci konce protokolu o zkouškách nebo kalibračního listu/certifikátu,

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf ...upřesňující výklad 5.10.2

EVROPSKÁ UNIE

- D) Název a adresu zákazníka
- E) Identifikaci použité metody
- F) Popis, podmínky a jasnou identifikaci zkoušené nebo kalibrované položky (položek),
- G) Datum přijetí zkušební nebo kalibrační položky (položek); je-li to důležité pro platnost a použití výsledků též datum (data) provedení zkoušky nebo kalibrace,
- H) Odkaz na plán a postupy vzorkování použité laboratorii nebo jinými orgány, jsou-li důležité pro platnost nebo použití výsledků

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.


esf ...upřesňující výklad 5.10.2

EVROPSKÁ UNIE

- I) Výsledky zkoušky nebo kalibrace a, pokud je to vhodné, též jednotky měření,
- J) Jméno (jména), funkci (funkce) a podpis (podpisy) nebo ekvivalentní identifikaci osoby (osob) potvrzující (potvrzujících) protokol o zkouškách nebo kalibrační list/certifikát
- K) V případě, že je to důležité, vyjádření o tom, že výsledky se vztahují pouze ke zkoušeným nebo kalibrovaným položkám.

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...upřesňující výklad 5.10.2

- ISFG: pokud se uvádí síla důkazu, měla by být vyjádřena pomocí věrohodnostního poměru. Index otcovství PI je věrohodnostním poměrem, kde:
 - Pravděpodobnost získání DNA profilů za předpokladu hypotézy: testovaný muž je biologickým otcem
 - PI = Pravděpodobnost získání DNA profilů za předpokladu hypotézy: náhodný nepříbuzný muž z populace je biologickým otcem
- Pokud se uvádí jiná statistika odvozená od PI (například pravděpodobnost otcovství Wahrscheinlichkeit), tak by měly být jednoznačně stanoveny premisy výpočtu.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Beze změn

- 5.10.3 Doplnkové informace
- 5.10.4 Vymezení platnosti
- 5.10.5 Odborná stanoviska a interpretace
- 5.10.6 Identifikace subdodávky
- 5.10.7 Elektronický přenos výsledků
- 5.10.8 Grafická úprava výsledků
- 5.10.9 Změny po vydání protokolu

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Doporučení ISFG pro interpretace

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Historický exkurz


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Pozitivní důkaz paternity

- E. Essen-Möller, Die Beweiskraft der Ähnlichkeit im Vaterschaftsnachweis – Theoretische Grundlagen, Mitt Anthropol Ges (Wien) 68, 1938, 9-53.
- E. Essen-Möller, C. Quensel, Zur Theorie des Vaterschaftsnachweises aufgrund von Ähnlichkeitsbefunden, Z Ges Gerichtl Med 31, 1939, 70-96.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



$W = X / (X + Y)$



- W pravděpodobnost, že nařčený otec patří do skupiny biologických otců

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




X

- X pravděpodobnost otcovství nařčeného
 - pro danou konstelaci DNA profilů matka-dítě, frakce biologických otců v dané populaci se stejným DNA profilem jako má nařčený






Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Y

- Y pravděpodobnost neotcovství nařčeného
 - frakce všech mužů v dané populaci se stejným DNA profilem jako má nařčený



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Odvození vzorce

- Nařčený N: genotyp AB, matka M: CD, dítě D: BC
- Kodominantní systém alel A, B, C, D, E ($e = 1 - (a+b+c+d)$)

$$X = \frac{2ab \cdot 2cd \cdot 1/2 \cdot 1/2}{2ab \cdot 2cd \cdot 1/2 \cdot 1/2 + bb \cdot 2cd \cdot 1 \cdot 1/2 + 2cb \cdot 2cd \cdot 1/2 \cdot 1/2 + 2bd \cdot 2cd \cdot 1/2 \cdot 1/2 + 2be \cdot 2cd \cdot 1/2 \cdot 1/2}$$



$$Y = \frac{2ab}{1}$$



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




W

- $W = X / (X + Y) = a / (a + 2ab) = 1 / (1 + 2b)$






Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




PI = X/Y

- Gürtler
- Valentin
- Paternity index PI je shrnutím veškeré informace získané DNA profilováním






Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Znovuobjevení výpočtu pravděpodobnosti otcovství

- Po 22 letech, přes Bayesův vzorec
- P. Ihm, Die mathematischen Grundlagen, vor allem für die statistische Auswertung des serologischen und anthropologischen Gutachtens, in: K. Hummel (Ed.), Die medizinische Vaterschaftbegutachtung mit biostatistischen Beweis, Fischer, Stuttgart, 1961, pp. 128-145.
- PI je věrohodnostní poměr







Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Alternativní statistiky

- Wiener: založeno na pravděpodobnosti vyloučení na základě fenotypů matka-dítě (nevyužívá fenotyp možného otce)
- Schulte-Mönting a Walter: Neyman-Pearsonova pravděpodobnost otcovství
- Ihm: minimax metoda








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Zpochybnění

- Li a Chakravarti 1985
 - Essen-Müllerova pravděpodobnost otcovství není validní
 - Paternity index není věrohodnostní poměr








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Vyvrácení zpochybnění

- Elston
 - Essen-Müllerova pravděpodobnost otcovství je přesnější než alternativní výpočty, protože využívá více informace
- Baur
 - PI je opravdový věrohodnostní poměr, poměr dvou pravděpodobností událostí (výsledků DNA profilování) za předpokladů dvou vzájemně se vylučujících hypotéz
- Mickey
 - praxe to potvrzuje








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Automatizace

- Hummel
 - 1971 tabelární hodnoty log(PI) a W pro sérologické systémy
- Baur
 - software VAT pro polymorfni systémy a komplikovanější rodokmeny
- Brenner
 - software DNA-View pro polymorfni systémy a jakékoliv rodokmeny








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Bodově jednotlivá doporučení

- Matematika
 - LR princip
 - Vzájemně se vylučující hypotézy
 - Zohlednění ve výpočtu
 - Možnost mutace
 - Možnost nulové alely








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...jednotlivá doporučení

- Populační genetik
 - Alelické frekvence
 - Chromozóm Y
 - Mitochondriální DNA
 - populační strukturalizace

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...jednotlivá doporučení

- Zvláštní případy
 - Nedosažitelné osoby, rekonstrukce
 - Imigrace
- Neotcovství
- Dokumentace
 - Protokol o zkoušce
 - Premisy.

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




LR princip

- Důkazní váha by měla být vypočtena s využitím věrohodnostního poměru

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Vzájemně se vylučující hypotézy

- Biostatistické zhodnocení otcovství (*nebo příbuznosti, pozn. překl.*) by mělo být postaveno na vzájemně se vylučujících hypotézách o otcovství dítěte nebo genetické příbuznosti

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Příklady srovnávaných hypotéz

- Hypotézy představují rozdílné rodokmeny
- Testovaný muž je otcem dítěte
- vs.
- Nepříbuzný netestovaný muž je otcem dítěte
- Dva testovaní jedinci jsou úplní sourozenci
- vs.
- Dva testovaní jedinci jsou poloviční sourozenci

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Počet srovnávaných hypotéz

- Pokud jen 2 hypotézy, tak $W = (PI(n_1/n_0)/(1+PI(n_1/n_0)))$, kde n_1/n_0 je apriorní poměr šancí pro hlavní hypotézu

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Více než 2 hypotézy

- Pro n hypotéz je $n*(n-1)/2$ dílčích věrohodnostních poměrů
- Pokud laboratoř formuluje další hypotézy *post hoc* (na základě výsledků vyšetření), musí zohlednit experimentátorské zkreslení při stanovení apriorního poměru šancí

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Příklad *post hoc* hypotézy

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- Pokud na základě vyšetření navrhneme, že otcem může být bratr nařčeného, tak by se mohla 50% apriorní pravděpodobnost otcovství pro neznámého nepřibuzného muže rozdělit na 48% pro neznámého nepřibuzného muže a 2% pro bratra nařčeného

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Zohlednění možnosti mutace ve výpočtu

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- PI by mělo být modifikováno započtením mutace, pokud se jen v několika izolovaných systémech vyskytuje nesrovnalost (potenciální vyloučení).
- Metoda modifikace PI by měla být dokumentována.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Příklad započtení mutace

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- Nařčený AB, matka CD, dítě CE
- $\mu_{I,j}$ frekvence mutace z alely I na alelu J
- $X = (1/2)(1/2)(\mu_{AE} + \mu_{BE})$
- $Y = (1/2)e$
- $PI = (\mu_{AE} + \mu_{BE})/2e$

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Hodnoty μ

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- Pokud μ_{AE} a μ_{BE} nejsou známy, bereme průměr μ_m pro daný systém
- Brenner pro STR: μ_m pro jednu jednotku repetice je 10 krát větší než μ_m pro dvě jednotky repetice
- Gjertson pro RFLP: $PI_{RFLP} = \mu_m/A$, kde A je průměrná pravděpodobnost vyloučení neotců v daném systému

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf Zohlednění možnosti nulové alely ve výpočtu

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- Možnost tiché anebo nulové alely by měla být zohledněna ve výpočtu
- Nulová alela: alela, která nepřispívá do fenotypového výsledku testu (*Pozn. překl. alela nedetekovatelná daným kitem*)
 - Lze rozlišit použitím jiných primerů

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf ...nulové alely ve výpočtu

EVROPSKÁ UNIE

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost


MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

esf

- Možnost nulové alely je kritická, pokud nařčený muž a dítě jsou rozdílní homozygoti
- Pokud nejsou dostupná data pro frekvenci nulových alel, použijeme jejich horní a spodní odhad pro výpočet dvou hodnot PI a PI_N referujeme jako „přinejmenším“ to nižší PI v případě vysokých hodnot PI a „nanejvýš“ to vyšší PI v případě nízkých hodnot PI


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...nulové alely ve výpočtu

- Pokud se jedná o dobře probádané systémy (jako je HLA nebo ABO), tak se nejpravděpodobnější odhad frekvencí nulových alel provádí použitím EM algoritmu, který je analogický k iterativnímu počítání genů, vytvořením databáze nezávislých vyšetřených fenotypů lépe než odvozením genotypů ze zdánlivých homozygotů.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Populační genetika

- Alelické frekvence
 - Alelická frekvence alely i může být odhadnuta jako: $(x_i+1)/(N+1)$, kde X_i je počet i alel a N celkový počet alel v databázi (pokud se jedná o novou alelu, tak se vzorec mění na $1/(N+1)$),


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...alelické frekvence

- Při použití vzorce x_i/N bez započtení DNA profilu z vyšetřovaného případu by se jednalo o zkreslení směrem k falešné paternitě.
- Alternativou je použití vzorce $5/n$, obhajovaného National Research Council II


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Chromozóm Y

- Premisou je, že v alternativní hypotéze nefiguruje mužský příbuzný nařčeného.
- Výsledky profilování chromozómu Y by měly být zpracovány jako haplotypy.
- Do výpočtů by měly být použity haplotypové frekvence.
- Pozn.: pro použití markerů na chromozómu X viz Szibor *et al.*, Int J Legal Med 117, 117, 2003, 67-74. nebo www.chrx-str.org.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Mitochondriální DNA

- Výsledky profilování mitochondriální DNA by měly být zpracovány jako jediné číslo, získané s použitím pseudohaplotypových frekvencí.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...mitochondriální DNA

- Premisou je, že v alternativní hypotéze k nařčenému nefiguruje nikdo po matroklinní linii.
- Pro tvorbu populačních frekvencí viz Carracedo *et al.*, Forensic Sci Int, 110, 21000, 79-85.
- Při využití nezávislosti pro násobení dílčích LR se musí dát pozor na případné populační strukturalizace.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Populační stratifikace

- Pokud se populace skládá ze subpopulací, tak to musí být bráno do úvahy při výpočtu.
- Jak: viz Evett and Weir, Interpreting DNA evidence, Sinauer Associates 1998.
- Pokud pro populaci není známo, že by byla složena ze subpopulací, tak korekce pro populační strukturalizace ve výpočtu není nutná.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Zvláštní případy

- Nedostupné osoby, rekonstrukce
 - Základní principy biostatistického výpočtu u jednoduchých a komplikovaných případů se neliší.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Imigrace

- Veškeré výpočty v imigračních případech by měly být založeny na principech výpočtu věrohodnostního poměru
- Pokud zákazník žádá po výsledku vylučujícím rodičovství testované osoby výpočet pro další příbuzenské hypotézy, tak v úvahu by měly být brány jen relevantní (a ne spekulativní) hypotézy
- Při výpočtu se musí zohlednit experimentátorské zkreslení při stanovení apriorního poměru šancí.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Neotcovství

- Laboratoř zodpovídá za stanovení a použití kritérií pro vyloučení nařčeného z otcovství (dodatek překl.: nebo z jiného příbuzenského vztahu). Přednost by měly mít kritéria na bázi prahové PI hodnoty (např. $PI < 1/1000$), ale přípustná jsou i kritéria na bázi počtu neshod (např. vyloučení při 3 inkonzistencích z 13 CODIS systémů odpovídá $PI = 1/46000$, vyloučení při 2 systémech z 13 odpovídá $1/4,7$).


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Dokumentace

- Protokol o zkoušce
 - Protokol o zkoušce by měl kromě celkového PI obsahovat i individuální PI pro každý genetický systém a etnickou populaci použitou pro výpočet.
 - Pokud je vydána i pravděpodobnost otcovství W , měly by být zmíněny všechny premisy.
 - Pokud je výsledek vydán v jiné formě než PI, tak by měl obsahovat premisy, algoritmus a jeho validaci.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...dokumentace

- Protokol o zkoušce musí být tak detailní, aby umožnil rekalkulaci.
- Kromě referování PI může laboratoř podat výsledek i ve formě pravděpodobnosti otcovství W při použití několika rozdílných apriorních pravděpodobností. Laboratoř sama o sobě nemůže určovat apriorní pravděpodobnost.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

...dokumentace

- Příkladem závěru vyšetření může být: „PI=200 a W=99,5% při předpokladu 50% apriorní pravděpodobnosti otcovství“.
- Konfidenční intervaly PI a W nejsou relevantní, a proto jsou zbytečné.
- Naopak, může být záhodno testovat robustnost W závěrů při použití různých premis a poskytnout zákazníkovi rozsah aposteriorních pravděpodobností na nich založených, aby se zákazníkovi usnadnila biostatistická interpretace.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Předpoklady

- Laboratorní postupy by měly dokumentovat premisy a validovat populační frekvence použité k výpočtu PI.
- Populační frekvence by měly být získány z takové databáze, aby umožnila odhad pravděpodobnosti získání DNA profilů za daných relevantních hypotéz, Pokud se používá prahová hodnota PI, tak by měla být dokumentována.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

...předpoklady

- Výpočet se provádí na základě premis.
- Premisy při výpočtu pravděpodobnosti otcovství nebo příbuznosti lze rozdělit na:
 - Fundamentální
 - Empirické
 - Specifické
 - Konkrétní.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Fundamentální předpoklady

- Matematické a genetické zákony (pozn. překl.: Mendel, Hardy-Weinberg, Bayes)

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Empirické premisy


- Relevantní empirická databáze frekvencí alel
- Pokud se databáze převezme z publikace, tak musí být dokumentována konkordance s náhodně vybraným laboratorním populačním vzorkem
- Pokud se databáze převezme z jiné laboratoře, tak musí být konkordance dokumentována testováním stejných vzorků. Toho se dá docílit účastí v mezilaboratorní kontrole kvality pro dané systémy.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Specifické premisy

- Osoby jsou jednoznačně identifikovány, mateřství je nezpochybněno, nejde o konsagvinitu.
 - Pokud jde o incest nebo příbuzné nařčené, tak by měly být použity odpovídající výpočty LR.
- Fenotypy byly stanoveny bezchybně.
 - Pokud existuje chyba měření, měla by být započtena do vzorců výpočtu.
- Systémy jsou nezávislé, aby se dal použít multiplikativní pravidlo pro LR.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Konkrétní premisy


- Měly by být součástí protokolu o výsledku
- Populace
 - Většinou se bere populace nařčeného jako relevantní
 - Pokud nařčení náleží do rozdílných populací, tak je nutné testovat robustnost nálezu použitím obou databází populačních frekvencí.
- Apriorní pravděpodobnosti

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Návrh postojů ČSSFG


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Ad výklad normy ISO17025

- Vyžadovat akreditaci pro paternity?


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Výklad 4.7.1

- ISFG: pokud je množství vzorku dostatečné, laboratoř provede testy takovým způsobem, aby jiná laboratoř mohla provést potvrzující test
- ČSSFG: přijmout bez komentáře (a zasadit se o DNA zákon v tomto směru)


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Výklad 4.8

- ISFG: Při reklamaci laboratoř informuje zákazníky o možnosti retestování jinou laboratoří.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře (otázka, zda jmenovitě některé laboratoře doporučovat)

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Výklad 5.2.1

- ISFG 1: Vzdělání na úrovni pětiletého nebo šestiletého studia lidské genetiky nebo jiného relevantního oboru.
 - ČSSFG: přijmout bez komentáře (anebo vyjmenovat veškeré relevantní VS?)
- Nejméně tři roky zaškolení v kompetentní paternitní laboratoři dle ISFG doporučení
 - ČSSFG: přijmout bez komentáře nebo zmírnit?
- Zkušenost by měla být dokumentována vyhotovením 100 protokolů o zkoušce, které pokrývají veškeré hlavní aspekty testování paternit.
 - ČSSFG: těch 100 protokolů o zkoušce bude auditor ČIA kontrolovat? Jiný návrh: zkušenost dokumentovat úspěšným absolvováním webového testu s cca 20 případy k řešení z celkového množství cca 100 případů.
- ISFG 2: požadavky na osoby, schvalující výsledkové protokoly jsou stejné požadavky jako na vedoucí laboratoře
 - ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Upřesňující výklad 5.3.3

- ISFG: Laboratoř, která pro vyšetření využívá PCR, by měla zavést nezbytná antikontaminační opatření rozdělením laboratoře na následující pracovní prostory:
 - Oblasti bez zvláštního antikontaminačního zřetele
 - Oblasti pro PCR set-up se zvláštním zřetelem ohledně kontaminace vzorků
 - Oblasti pro zacházení s amplikonem se zvláštním zřetelem ohledně kontaminace ostatních oblastí laboratoře.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Upřesňující výklad 5.3.5

- ISFG: Laboratoř využívající PCR by měla mít zavedeno monitorování potenciální kontaminace amplikonem.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Výklad 5.4.2

- ISFG 1: paternitní laboratoř by měla profilovat takové systémy, pro které jsou dostupné externí testy kvality
- ISFG 2:
 - populační data použitých systémů by měla být dokumentována a vhodně používána
 - Mutační frekvence použitých systémů by měly být dokumentovány a vhodně používány
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Výklad 5.4.4

- ISFG:
 - metody neuvedené v normách nebo normativních dokumentech by neměly být použity jako jediné metody k paternitnímu vyšetření
 - Tyto nestandardní metody by měly být použity jen tehdy, pokud může být prokázáno, že je možné provést konfirmační vyšetření přinejmenším v jedné laboratoři.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Výklad 5.4.5.2

- ISFG: K validaci musí být použity všechny následující postupy:
 - Kalibrace s využitím referenčních standardů nebo referenčních materiálů
 - Srovnání s výsledky jiných metod
 - Mezilaboratorní srovnání
 - Systematické hodnocení faktorů ovlivňujících výsledek
 - Hodnocení nejistoty výsledku na základě vědeckého pochopení teoretických principů metody a praktické zkušenosti
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf
EVROPSKÁ UNIE

Výklad 5.4.5.3

- ISFG:
 - laboratoř by měla použít relevantní populační frekvence pro etnické skupiny, se kterými se rutinně při vyšetření setkává.
 - Pokud laboratoř využívá populační frekvence z jiné laboratoře, tak musí dokumentovat relevantnost této databáze a srovnatelnost metod, použitých k vyhotovení této databáze.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Výklad 5.4.6.2

- ISFG: nejistota měření by měla být známa a měla by být uvedena v interpretaci výsledku.
- ČSSFG: přijmout s komentářem, připravit vzor?

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Výklad 5.4.7.1

- ISFG: Veškeré ruční výpočty by měly být provedeny v duplikátě a revidovány vedoucím laboratoře nebo autorizovanou osobou.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Výklad 5.4.7.2

- ISFG: veškeré počítačové výpočty by měly být validovány a revidovány autorizovaným pracovníkem nebo vedoucím laboratoře před tím, než budou sloužit jako podklad pro protokol o vyšetření.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Výklad 5.5.1

- ISFG: pokud laboratoř využívá PCR, měla by mít vyhrazené sety náčiní pro pre-PCR a post-PCR areály.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.7.1

- ISFG: Postupy, kterými se garantuje identifikace odebrané osoby a nepřerušenosť kontrolované manipulace se vzorkem by měla být deklarována ve smlouvě se zákazníkem.
- ČSSFG: informovaný souhlas, žádanka, usnesení, smlouva?

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Upřesňující výklad 5.8.1

- ISFG: pokud jsou testovací položky použity za jiným účelem jako je referenční materiál, vědecký účely a podobně, mělo by to být součástí smlouvy se zákazníkem.
- ČSSFG: informovaný souhlas, žádanka, usnesení, smlouva?

OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Upřesňující výklad 5.9

- ISFG: laboratoř by se měla nejméně dvakrát ročně účastnit externího porovnávání kvality a výsledky porovnávání by měly být odstupňované
- ČSSFG: přijmout bez komentáře nebo zmírnit na jednu ročně?


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...upřesňující výklad 5.10.2


- ISFG: pokud se uvádí síla důkazu, měla by být vyjádřena pomocí věrohodnostního poměru. Index otcovství PI je věrohodnostním poměrem, kde:
 - Pravděpodobnost získání DNA profilů za předpokladu hypotézy: testovaný muž je biologickým otcem
 - PI= Pravděpodobnost získání DNA profilů za předpokladu hypotézy: náhodný nepříbuzný muž z populace je biologickým otcem
- Pokud se uvádí jiné hodnoty odvozené z PI (například pravděpodobnost otcovství Wahrscheinlichkeit), tak by měly být jednoznačně stanoveny předpoklady výpočtu.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře, připravit vzor?

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Ad interpretace


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



LR princip

- Důkazní váha by měla být vypočtena s využitím věrohodnostního poměru
- Biostatistické zhodnocení otcovství (*nebo příbuznosti, pozn. překl.*) by mělo být postaveno na vzájemně se vylučujících hypotézách o otcovství dítěte nebo genetické příbuznosti
- Hypotézy představují rozdílné rodokmeny
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Hypotézy

- Pokud jen 2 hypotézy, tak $W = (PI(n1/n0) / (1 + PI(n1/n0)))$, kde $n1/n0$ je apriorní poměr šancí pro hlavní hypotézu
- Pro n hypotéz je $n*(n-1)/2$ dílčích věrohodnostních poměrů
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



post hoc hypotézy

- Pokud laboratoř formuluje další hypotézy *post hoc* (na základě výsledků vyšetření), musí zohlednit experimentátorské zkreslení při stanovení apriorního poměru šancí
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Zohlednění možnosti mutace ve výpočtu

- PI by mělo být modifikováno započtením mutace, pokud se jen v několika izolovaných systémech vyskytuje nesrovnalost (potenciální vyloučení).
- Metoda modifikace PI by měla být dokumentována.
- ČSSFSG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Hodnoty μ

- Pokud μ_{AE} a μ_{BE} nejsou známy, bereme průměr μ_m pro daný systém
- Brenner pro STR: μ_m pro jednu jednotku repetice je 10 krát větší než μ_m pro dvě jednotky repetice
- Gjertson pro RFLP: $PI_{RFLP} = \mu_m/A$, kde A je průměrná pravděpodobnost vyloučení neotců v daném systému
- ČSSFSG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Zohlednění možnosti nulové alely ve výpočtu

- Možnost tiché anebo nulové alely by měla být zohledněna ve výpočtu
- Možnost nulové alely je kritická, pokud nařčený muž a dítě jsou rozdílní homozygoti


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...nulové alely ve výpočtu

- Pokud nejsou dostupná data pro frekvenci nulových alel, použijeme jejich horní a spodní odhad pro výpočet dvou hodnot PI a PI_N referujeme jako „přinejmenším“ to nižší PI v případě vysokých hodnot PI a „nanejvýš“ to vyšší PI v případě nízkých hodnot PI
- ČSSFSG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...nulové alely ve výpočtu

- Pokud se jedná o dobře probádané systémy (jako je HLA nebo ABO), tak se nejpravděpodobnější odhad frekvencí nulových alel provádí použitím EM algoritmu, který je analogický k iterativnímu počítání genů, vytvořením databáze nezávislých vyšetřených fenotypů lépe než odvozením genotypů ze zdánlivých homozygotů.
- ČSSFSG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Populační genetika

- Alelické frekvence
 - Alelická frekvence alely i může být odhadnuta jako: $(x_i+1)/(N+1)$, kde X_i je počet i alel a N celkový počet alel v databázi (pokud se jedná o novou alelu, tak se vzorec mění na $1/(N+1)$)
- ČSSFSG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Chromozóm Y

- Premisou je, že v alternativní hypotéze nefiguruje mužský příbuzný nařčeného.
- Výsledky profilování chromozómu Y by měly být zpracovány jako haplotypy.
- Do výpočtů by měly být použity haplotypové frekvence.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Mitochondriální DNA

- Výsledky profilování mitochondriální DNA by měly být zpracovány jako jediné číslo, získané s použitím pseudohaplotypových frekvencí.
- Premisou je, že v alternativní hypotéze k nařčenému nefiguruje nikdo po matroklinní linii.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



...mitochondriální DNA

- Pro tvorbu populačních frekvencí viz Carracedo *et al.*, Forensic Sci Int, 110, 21000, 79-85.
- Při využití nezávislosti pro násobení dílčích LR se musí dát pozor na případné populační strukturalizace.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Populační stratifikace

- Pokud se populace skládá ze subpopulací, tak to musí být bráno do úvahy při výpočtu.
- Jak: viz Evett and Weir, Interpreting DNA evidence, Sinauer Associates 1998.
- Pokud pro populaci není známo, že by byla složena ze subpopulací, tak korekce pro populační strukturalizace ve výpočtu není nutná.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Zvláštní případy

- Nedostupné osoby, rekonstrukce
 - Základní principy biostatistického výpočtu u jednoduchých a komplikovaných případů se neliší.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Imigrace





- Veškeré výpočty v imigračních případech by měly být založeny na principech výpočtu věrohodnostního poměru
- Pokud zákazník žádá po výsledku vylučujícím rodičovství testované osoby výpočet pro další příbuzenské hypotézy, tak v úvahu by měly být brány jen relevantní (a ne spekulativní) hypotézy

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




...imigrace

- Při výpočtu se musí zohlednit experimentátorské zkreslení při stanovení apriorního poměru šancí.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře










Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Neotcovství

- Laboratoř zodpovídá za stanovení a použití kritérií pro vyloučení nařčeného z otcovství. Přednost by měla mít kritéria na bázi prahové PI hodnoty (např. $PI < 1/1000$), ale přípustná jsou i kritéria na bázi počtu neshod
- ČSSFG: přijmout s komentářem: vyloučení při $PI < 1/1000$ nebo při 3 inkonzistencích z 15 STR systémů.










Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




Dokumentace

- Protokol o zkoušce
 - Protokol o zkoušce by měl kromě celkového PI obsahovat i individuální PI pro každý genetický systém a etnickou populaci použitou pro výpočet.
 - Pokud je vydána i pravděpodobnost otcovství W, měly by být zmíněny všechny premisy.
 - Pokud je výsledek vydán v jiné formě než PI, tak by měl obsahovat premisy, algoritmus a jeho validaci.










Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




...dokumentace

- Protokol o zkoušce musí být tak detailní, aby umožnil rekalkulaci.
- Kromě referování PI může laboratoř podat výsledek i ve formě pravděpodobnosti otcovství W při použití několika rozdílných apriorních pravděpodobností. Laboratoř sama o sobě nemůže určovat apriorní pravděpodobnost.










Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




...dokumentace

- Naopak, může být záhodno testovat robustnost W závěrů při použití různých premis a poskytnout zákazníkovi rozsah aposteriorních pravděpodobností na nich založených, aby se zákazníkovi usnadnila biostatistická interpretace.
- ČSSFG: přijmout s komentářem, dokumentace dle vzoru na stránkách www.cssfg.org










Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Předpoklady

- Laboratorní postupy by měly dokumentovat premisy a validovat populační frekvence použité k výpočtu PI.
- Populační frekvence by měly být získány z takové databáze, aby umožnila odhad pravděpodobnosti získání DNA profilů za daných relevantních hypotéz, Pokud se používá prahová hodnota PI, tak by měla být dokumentována.
- ČSSFG: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Empirické premisy

- Relevantní empirická databáze frekvencí alel
- Pokud se databáze převezme z publikace, tak musí být dokumentována konkordance s náhodně vybraným laboratorním populačním vzorkem

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Empirické premisy

- Pokud se databáze převezme z jiné laboratoře, tak musí být konkordance dokumentována testováním stejných vzorků. Toho se dá docílit účastí v mezilaboratorní kontrole kvality pro dané systémy.
- ČSSF: přijmout s komentářem, pro českou populaci se doporučuje použít populační frekvence umístěné na www.cssfg.org

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Specifické premisy

- Osoby jsou jednoznačně identifikovány, mateřství je nezpochybněno, nejde o konsagvinitu.
 - Pokud jde o incest nebo příbuzné nařčené, tak by měly být použity odpovídající výpočty LR.
- Fenotypy byly stanoveny bezchybně.
 - Pokud existuje chyba měření, měla by být započtena do vzorců výpočtu.
- Systémy jsou nezávislé, aby se dal použít multiplikativní pravidlo pro LR.
- ČSSF: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Konkrétní premisy

- Měly by být součástí protokolu o výsledku
- Populace
 - Většinou se bere populace nařčeného jako relevantní
 - Pokud nařčení náleží do rozdílných populací, tak je nutné testovat robustnost nálezu použitím obou databází populačních frekvencí.
- Apriorní pravděpodobnosti
- ČSSF: přijmout bez komentáře

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Diskuse a závěr
