

## **Anexa Nr.1 la formularul nr.22 (Specificatii tehnice)**

Numărul procedurii de achiziție ocds-b3wdp1-MD-1677847568297 din 23.03.2023

Obiectul: **Validarea procesului de obținere a profilurilor ADN în scopuri criminalistice/expertize judiciare/bazei de date ADN**

Autoritatea contractantă: **Inspectoratul General al Poliției**

### **Specificatii tehnice**

**Descriere servicii pentru validarea procesului de obținere a profilurilor ADN în scopuri criminalistice/expertize judiciare/bazei de date ADN**

#### **1. Domeniul de aplicare al validării: probe colectate( Casework) în cadrul cercetării la fața locului.**

- A. Validarea seturilor de extracție cu sistemul automat de extracție AutoMate Express Forensic DNA Extraction Sysem.
- B. Validarea kiturilor de cuantificare ADN cu sistemul HID Real-time PCR QuantStudio5 Real-Time System for Human Identification, 96 – well, 0.2 ml, desktop.
- C. Validarea kitului multiplex Autosomal STR (21 de loci STR autozomali, senzori suplimentari de calitate, 6 coloranți) prin efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR) cu ProFlex 3x32-well PCR System și cu analizorul genetic (4 capilare) și software dedicat pentru analiza datelor: SeqStudio Genetic Analyzer for HID cu soft GeneMapper ID-X Software V1.6.
- D. Validarea kiturilor multiplex Y-STR (27 STR Y-cromozom loci, 6 coloranți) prin efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR) cu ProFlex 3x32-well PCR System și cu analizorul genetic 4-capilar și software dedicat pentru analiza datelor: SeqStudio Genetic Analyzer for HID cu soft GeneMapper ID-X Software V1.6.

#### **2. Domeniul de aplicare al validării – profile de referință (bază de date)**

- A. Validarea kitului de multiplex Autosomal STR (21 de loci STR autozomali, senzori de calitate suplimentari, 6 coloranți) cu amplificare PCR directă, pentru celulele bucale colectate pe sonde tampon - ProFlex 96-well PCR System, cu analizorul genetic (8 capilare) și software dedicat pentru analiza datelor: 3500 Genetic Analyzer for Human Identification cu soft GeneMapper ID-X software V1.6.

#### **1. Descriere servicii pentru domeniul probe colectate ( Casework) în cadrul cercetării la fața locului.**

##### **A. Validarea reactivelor chimice de extracție cu sistem automat de extracție achiziționat.**

- 1. Studiu de contaminare: Semifabricate de reactiv alternând cu probe de sânge îngrijite extrase în două serii. Semifabricate de reactiv evaluate pentru rezultatele cuantificării și alele contaminate.
- 2. Sensibilitate și studiu stohastic: Serii de diluție a sângelui (nediluat, 1:3, 1:9, 1:27, 1:81 și 1:243) extrase în trei exemplare. Concentrațiile probelor vor fi examinate pentru liniaritate și detecție. Rezultatele kitului Autosomal STR vor fi evaluate pentru profiluri complete și parțiale, înălțimi medii ale vârfulor și echilibru inter-locus.
- 3. Studiu de precizie: Repetabilitate și reproductibilitate:
  - 3.1. Sensibilitatea pentru seria de diluție a sângelui extras în repetări. Se va evalua reproductibilitatea evaluată cu deviația medie, standard și deviația standard relativă a concentrațiilor eșantionului și se vor determina înălțimile medii ale vârfulor kitului autozomal STR.
  - 3.2. Replicarea probelor de sânge extrase în două serii. Repetabilitatea și reproductibilitatea concentrațiilor vor fi evaluate în cadrul și pe parcursul a două serii de extracție.
- 4. Studiu de precizie: mostră NIST: material de referință standard NIST 2391d Componenta E, prelucrată și rezultate comparate cu certificatul de analiză.
- 5. Studiu de mostră cunoscută și non-probatoriu: 52 de probe non-probatorii sau simulate. Rezultatele vor fi evaluate în funcție de concordanță și de performanța preconizată în comparație cu rezultatele anterioare ale laboratorului.

5.1. 28 mostre de tip de lichid corporal (sânge, bucal etc.).

5.2. 24 mostre de os/dinte/tip adeziv (os/dinte/probe adezive).

**B. Validarea kiturilor de cuantificare cu sistem HID Real-time PCR achiziționat.**

1. Curba standard și valorile de control

1.1. Două serii standard de diluție ADN (50, 5, 0,5, 0,05, 0,005 ng/μL) pe fiecare placă; evaluate pentru intervalul de pantă, y-interceptare și valorile R<sup>2</sup>. Variație evaluată prin calcularea deviației standard relativă a concentrațiilor.

1.2. Valorile IPC C<sub>T</sub> și ale indicelui de degradare pentru toate probele și standardele vor fi reprezentate grafic în raport cu concentrațiile mici de țintă autozomale.

2. Studiu de contaminare

2.1. Controalele de tip NON-Template (NTC) de pe fiecare placă vor fi cuantificate și evaluate pentru concentrațiile detectate.

3. Sensibilitate și Studiu stohastic

3.1. O serie de diluții ale probelor de ADN genomic (2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,063, 0,031, 0,016, 0,008, 0,004, 0,002, 0,001, 0,0005 și 0,0002 ng/μL) vor fi cuantificate în triplu; concentrațiile evaluate pentru liniaritate și detecție.

3.2. O serie de diluție a probei de ADN genomic cu concentrația de 7,81 pg/μL și mai mică va fi amplificată la volumul maxim de intrare a ADN-ului cu STR Autosomal.

3.3. O serie de diluție a ADN-ului genomic (nediluat, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32) va fi cuantificată în triplu; iar concentrațiile evaluate pentru C<sub>T</sub>ului de inhibarea al IPC(internal positive control) și diferența față de concentrațiile preconizate.

4. Studiu de precizie: Repetabilitate și reproductibilitate

4.1. Repetabilitatea concentrației evaluate cu ajutorul probelor lucrate în triplu din studiul de sensibilitate și stohastic se efectuează într-o singură placă. Se va determina deviația medie, deviația standard și deviația standard relativă.

4.2. Reproducibilitatea concentrației evaluată cu ajutorul diluțiilor studiului de sensibilitate și stohastic (1, 0,5, 0,25, 0,125 ng/μL) cuantificate în trei replici pe fiecare dintre cele trei plăci. Se va determina deviația medie, deviația standard și deviația standard relativă.

4.3. Reproducibilitatea valorilor C<sub>T</sub> evaluate pentru toate seriile standard de diluție prin conversia la variația procentuală a concentrației.

5. Studiu de precizie: Probe NIST: mostre nediluată și 1:10 a unui material de referință standard NIST 2372a Componentă, cuantificată în trei repetiții și concentrații comparativ cu valorile menționate în certificatul de analiză.

6. Studiu de probă cunoscută și non-probativă: 20 de probe cunoscute și non-probatorii vor fi furnizate de laborator și cuantificate, iar rezultatele vor fi utilizate pentru a efectua amplificările/testelor STR ulterioare.

7. Studiul amestecului: Amestecurile de ADN genomice masculin-feminin (1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 0:1) vor fi cuantificate în trei repetiții. Rezultatele evaluate pentru raporturile de amestec.

**C. Validarea kitului multiplex STR Autosomal** (nu mai puțin de 21 de locusuri STR autozomali, controale suplimentare de calitate, 6 coloranți) prin efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR) cu ProFlex 3x32-well PCR System și cu analizorul genetic (4 capilare) și software dedicat pentru analiza datelor: SeqStudio Genetic Analyzer for HID cu soft GeneMapper ID-X Software V1.6.

1. Prag minim și studiu de contaminare

1.1. Controale de amplificare negative analizate la valoare de 1 RFU, pentru a determina zgomotul de fundal instrumentului și reagenților. Deviația maximă, medie, standard, media plus trei deviații standard (limita de detecție) și media, plus zece deviații standard (limita de cuantificare) calculate pentru a determina pragurile minime, care trebuie utilizate pentru analiză.

1.2. Contaminarea evaluată în negative și semifabricate utilizând pragurile minime.

2. Sensibilitate și studiu stohastic

2.1. O serie genomică de diluție a ADN-ului (4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,063, 0,031 și 0,016 ng) va fi amplificată în trei repetiții. Se vor evalua înălțimile medii ale vârfurilor, raporturile de înălțime ale vârfurilor, abandonul alelelor/locilor, înălțimea vârfului alelei supraviețuitoare surori și echilibrul inter-locus.

3. Studiu de precizie: Repetabilitate și reproductibilitate

3.1. Repetabilitatea variației dimensiunii este evaluată utilizând patru scări(ladder) alelice injectate de cinci ori; deviația standard a dimensiunii alelei calculată per injectare, pe capilar, și pentru toate datele împreună și evaluată pentru valori mai mari de 0,15 bp.

3.2. Repetabilitatea înălțimilor vârfurilor evaluate cu ajutorul probelor duplicat din seria de diluție a studiului de sensibilitate și stohastic.

3.3. Reproducibilitatea înălțimilor vârfurilor evaluate cu ajutorul soluției de ADN-ului de control 007(Control ADN 007).

3.4. Reproducibilitatea genotipurilor evaluate utilizând control ADN 007 și componenta NIST Standard Reference Material 2391d.

4. Studiu de precizie: Rezultate NIST: Material de referință standard NIST 2391d Componentă, amplificată cu utilizarea țintă ADN de 1,0 ng. Rezultatele genotipului sunt comparate cu certificatul de analiză.

5. Studiu de probă cunoscut și non-probativ: 28 de probe din extracțiile de extracție. 10 probe extrase suplimentare furnizate de laborator (reprezentative pentru alte sisteme de extracție a tipurilor de probe, cum ar fi extracțiile diferențiale). Probele amplificate cu 1,0 ng ADN-ul țintă de intrare. Probe analizate pentru concordanță și performanță preconizată în comparație cu rezultatele anterioare furnizate de laborator.

6. Studiul amestecului

6.1. O serie de amestec ADN genomic masculin-feminin (1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 0:1) va fi amplificată la cu utilizarea a 1,0 ng de țintă. Înălțimile vârfurilor analizate pentru raporturile de amestec și prezența, absența, sau mascarea alelelor componentelor minore.

7. Evaluarea vârfurilor ne-alelice.

7.1. Probe evaluate pentru următoarele artefacte ale PCR: minus stutter, plus stutter, adenilare incompletă și artefacte de colorant.

7.2. Probe evaluate pentru artefacte ale electroforezei capilare, de ex pull-up.

**D. Validarea kiturilor multiplex de tip Y-STR** (nu mai puțin de 27 de loci cromozomi str Y, 6 coloranți) prin efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR) cu ProFlex 3x32-well PCR System și cu analizorul genetic (4 capilare) și software dedicat pentru analiza datelor: SeqStudio Genetic Analyzer for HID cu soft GeneMapper ID-X Software V1.6..

1. Prag minim și studiu de contaminare

1.1. Controale de amplificare negative analizate la valoare de 1 RFU pentru a determina zgomotul de fundal al instrumentului și reagenților. Deviația maximă, medie, standard, media plus trei deviații standard (limita de detecție) și media, plus zece deviații standard (limita de cuantificare) calculate pentru a determina pragurile minime, care trebuie utilizate pentru analiză.

1.2. Contaminarea evaluată în negative și semifabricate utilizând pragurile minime.

2. Sensibilitate și studiu stohastic

2.1. O serie de diluții ADN genomic masculin (4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,063, 0,031 și 0,016 ng) va fi amplificată în trei repetiții. Se vor evalua înălțimile medii ale vârfurilor, raporturile de înălțime ale vârfurilor, abandonul alelelor/locilor, înălțimea vârfului alelei surori supraviețuitoare pentru locusuri multi-copy și echilibrul inter-locus.

3. Studiu de precizie: Repetabilitate și reproductibilitate

3.1. Repetabilitatea variației dimensiunii evaluată utilizând patru scări alelice injectate de cinci ori; deviația standard a dimensiunii alelei calculată per injectare, pe capilar, și pentru toate datele împreună și evaluată pentru valori mai mari de 0,15 bp.

3.2. Repetabilitatea înălțimilor vârfurilor evaluate cu ajutorul probelor duplicat din seria de diluție a studiului de sensibilitate și stohastic.

3.3. Reproducibilitatea înălțimilor vârfurilor evaluate cu ajutorul ADN-ului de control 007.

3.4. Reproducibilitatea haplotipurilor evaluate utilizând ADN control 007 și NIST Standard Reference Material componenta 2391d.

4. Studiu de precizie: Rezultate NIST: Material de referință standard NIST Componentă 2391d amplificată cu încărcare de 1,0 ng țintă a ADN-ului masculin. Rezultatele haplotipului comparate cu certificatul de analiză.
5. Studiu de probă cunoscută și non-probativă: 28 de probe din experimente de extracție. 10 probe extrase suplimentare furnizate de laborator (reprezentative pentru alte tipuri de extracție de probe, cum ar fi extracțiile diferențiale). Probele amplificate cu 1,0 ng de țintă ADN-ului masculin. Probe analizate pentru concordanță și performanță așteptată, în comparație cu rezultatele autozomale și/sau Y-STR anterioare furnizate de laborator.
6. Studiul amestecului
  - 6.1. O serie de amestec ADN genomic masculin-masculin (1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 0:1) va fi amplificată cu 1,0 ng ADN țintă. Înălțimile vârfurilor vor fi analizate pentru raporturile de amestec și prezența, absența sau mascarea alelelor componentelor minore.
  - 6.2. Amestecurile de ADN genomic masculin-feminin (ADN-ul genomic masculin și ADN-ul feminin furnizat de laborator) amplificate cu ținte de intrare a ADN-ului masculin (4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,063, 0,031 și 0,016 ng) în prezența ~0,5 - 1 μg de ADN feminin. Va fi efectuată comparația înălțimi de vârf cu sensibilitatea și rezultatele studiului stohastic pentru aceeași probă de sex masculin.
7. Evaluarea vârfurilor ne-alelice
  - 7.1. Probe evaluate pentru următoarele artefacte PCR: minus stutter, plus stutter, adenilare incompletă și artefacte coloranți.
  - 7.2. Cinci probe de ADN feminin cu concentrație ridicată furnizate de laborator vor fi amplificate și evaluate pentru reactivitate încrucișată.
  - 7.3. Probe vor fi evaluate pentru depistarea artefactelor de electroforeză capilară, de ex fi pull-up.

#### **Trebuie să fie oferite pentru proiectul probe colectate (Casework) de la cercetarea la fața locului**

1. Proiectare: Plan experimental
2. Execuție experimentală
  - 2.1. Toți reactivii și consumabilele, conform anexei, vor fi furnizate de operatorul economic. ADN-ul genomic și materialul de referință standard NIST 2391d vor fi furnizate de furnizor. Probele non-probatorii vor fi asigurate de laborator.
  - 2.2. Lucrările fizice de laborator vor fi efectuate de specialistul de aplicații (Field Application Specialist) certificat de către producătorul echipamentelor.
3. Analiza și raportarea datelor: datele asociate proiectului vor fi analizate și convertite într-un raport personalizat, care va fi revizuit independent din punct de vedere tehnic. Perioada tipică de executare este de aproximativ 8 săptămâni de la finalizarea lucrărilor efectuate în laborator.
4. Instruirea va oferi o imagine de ansamblu asupra kit-urilor și echipamentului și va familiariza personalul laboratorului cu rezultatele validării folosind module de formare profesională. Se va acorda asistență inclusiv de la distanță pentru instruirea personalului laboratorului, iar discuțiile la fața locului/sesiunea de întrebări și răspunsuri vor fi programate în conformitate cu orarul laboratorului, după livrarea raportului final.

#### **2. Domeniul de aplicare - profile de referință (bază de date)**

- A. Validarea kitului de multiplex Autosomal STR (nu mai puțin de 21 de loci STR autozomali, controale de calitate suplimentare, 6 coloranți/dye) în aplicații de PCR direct pentru celulele epiteliale bucale, pe sonde tampon - ProFlex 96-well PCR System, cu utilizarea analizorului genetic (8 capilare) și software dedicat pentru analiza datelor: 3500 Genetic Analyzer for Human Identification cu soft GeneMapper ID-X software V1.6.
  1. Prag minim și studiu de contaminare
    - 1.1. Un minim de zece probe negative (controale substrat și un control negativ de amplificare) amplificate la cel mai mare număr de cicluri pe substrat vor fi analizate la valoare de 1 RFU pentru a determina zgomotul de fundal al instrumentului și reagenților. Deviația maximă, medie, standard, media plus trei deviații standard (limita de detecție) și media plus zece deviații standard (limita de cuantificare) vor fi calculate pentru a determina pragurile minime.
    - 1.2. Controalele substratului și controale negative vor fi evaluate pentru contaminare utilizând un prag de analiză determinat de client, care se poate baza pe pragurile minime sau pe pragul de 175 RFU pentru instrumentul implicit.
  2. Sensibilitate și studiu stohastic:

2.1. Probele vor fi amplificate la două valori diferite de cicluri. O a treia valoare de număr de cicluri (mai mic sau mai mare) poate fi testată la discreția laboratorului în baza datelor. Eșantioane vor fi evaluate pentru profiluri complete, profiluri parțiale, date în afara scării(ladder), înălțimi medii ale vârfurilor, echilibru inter-locus și raporturi de înălțime a vârfurilor.

3. Studiu de precizie: Repetabilitate și reproductibilitate:

3.1. Repetabilitatea variației dimensiunii evaluată utilizând patru scări(ladder) alelice injectate de cinci ori; deviația standard a fiecărei dimensiuni a alelei calculată per injectare, pe capilar, și pentru toate datele împreună și evaluate pentru valori mai mari de 0,15 bp.

3.2. Repetabilitatea genotipurilor evaluate cu probe duplicat de la același donator prelucrate pe fiecare placă.

3.3. Reproducibilitatea genotipurilor evaluate utilizând ADN-ul de control 007, materialul de referință standard NIST Componenta 2391d și probele duplicat prelucrate pe mai multe plăci la valori de cicluri diferite.

3.4. Reproducibilitatea înălțimilor vârfurilor evaluate cu ajutorul ADN-ului de control 007.

4. Studiu de precizie: Probă NIST: Material de referință standard NIST Componentă 2391d amplificată alături de celulele epiteliale bucale pe eşantioane de carduri de tip FTA. Rezultatele genotipului vor fi comparat cu certificatul de analiză.

5. Studiu eşantion de tip bază de date: Până la 40 de eşantioane din fiecare tip de eşantion amplificate la fiecare valoare de cicluri, la un număr maxim de fişiere eşantion egal cu 80 (probe x substraturi x cicluri). Probe vor fi analizate pentru concordanță și performanță preconizată în comparație cu rezultatele anterioare furnizate de laborator.

6. Evaluarea vârfurilor ne-alelice

6.1. Probe vor fi evaluate pentru următoarele artefacte PCR: minus stutter, plus stutter, adenilare incompletă și artefacte de colorant.

6.2. Probe vor fi evaluate pentru depistare de artefacte de electroforeză capilară, de ex fi pull-up.

**Trebuie să fie oferite pentru proiectul probe colectate (Casework) de la cercetarea la fața locului**

1. Proiectare: Plan experimental

2. Execuție experimentală

2.1. Toți reactivii și consumabilele, conform anexei, vor fi furnizate de operatorul economic. ADN-ul genomic și materialul de referință standard NIST 2391d vor fi furnizate de operator. Probele non-probatorii vor fi asigurate de laborator.

2.2. Lucrările fizice de laborator vor fi efectuate de specialistul de aplicații (Field Application Specialist) certificat de către producătorul echipamentelor

3. Analiza și raportarea datelor: datele asociate proiectului vor fi analizate și convertite într-un raport personalizat, care va fi revizuit independent din punct de vedere tehnic. Perioada tipică de executare este de aproximativ 8 săptămâni de la finalizarea lucrărilor efectuate în laborator.

4. Instruirea va oferi o imagine de ansamblu asupra kit-urilor și echipamentului și va familiariza personalul laboratorului cu rezultatele validării folosind module de formare profesională. Se va acorda asistență inclusiv de la distanță pentru instruirea personalului laboratorului, iar discuțiile la fața locului/sesiunea de întrebări și răspunsuri vor fi programate în conformitate cu orarul laboratorului, după livrarea raportului final.

Semnat:

Numele, prenumele: Ghenadie Rusu\_ În calitate de: Administrator

Ofertantul: SRL BIO ANALITICA Adresa: str. Podul Inalt 20/2, of.10, or. Chisinau