

Roma, 28-29 gennaio 2016

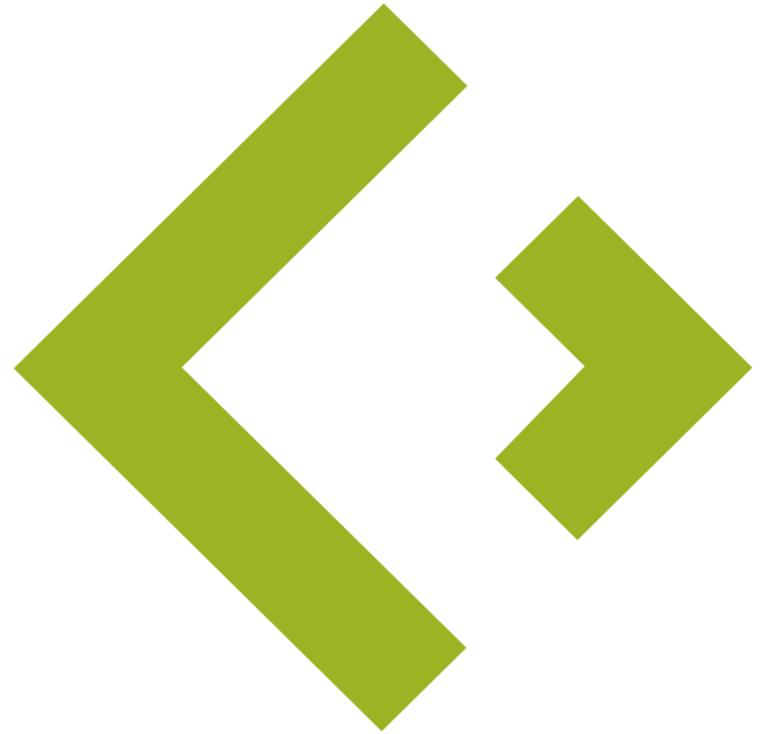
CORSO DI ALTA FORMAZIONE IN GENETICA FORENSE

Criteria organizzativi del laboratorio di genetica forense e accreditamento 17025

Ugo Ricci

AOU Careggi – SOD Diagnostica Genetica

Settore Forense - Firenze





PARLAMENTO ITALIANO



Legge 30 giugno 2009, n. 85

"Adesione della Repubblica italiana al Trattato concluso il 27 maggio 2005 tra il Regno del Belgio, la Repubblica federale di Germania, il Regno di Spagna, la Repubblica francese, il Granducato di Lussemburgo, il Regno dei Paesi Bassi e la Repubblica d'Austria, relativo all'approfondimento della cooperazione transfrontaliera, in particolare allo scopo di contrastare il terrorismo, la criminalità transfrontaliera e la migrazione illegale (Trattato di Prum). Istituzione della banca dati nazionale del DNA e del laboratorio centrale per la banca dati nazionale del DNA. Delega al Governo per l'istituzione dei ruoli tecnici del Corpo di polizia penitenziaria. Modifiche al codice di procedura penale in materia di accertamenti tecnici idonei ad incidere sulla libertà personale"

pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 160 del 13 luglio 2009 - Supplemento ordinario n. 108

Art. 11.

(Metodologia di analisi di reperti e campioni biologici ai fini della tipizzazione del profilo da inserire nella banca dati nazionale del DNA)

1. L'analisi del campione e del reperto biologico ai fini della tipizzazione del profilo del DNA, destinato all'inserimento nella banca dati nazionale del DNA, è eseguita sulla base dei parametri riconosciuti a livello internazionale e indicati dall'European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI), in modo da assicurare l'uniformità degli stessi.
2. I profili del DNA possono essere inseriti nella banca dati nazionale del DNA solo se tipizzati in laboratori certificati a norma **ISO/IEC**.
3. I sistemi di analisi sono applicati esclusivamente alle sequenze del DNA che non consentono la identificazione delle patologie da cui può essere affetto l'interessato.

Chi è interessato all'accreditamento forense?



Laboratori che abbiano come propri clienti organi di giustizia



Polizia di Stato



Istituti di alta specializzazione

Il regolamento per la banca dati del DNA



Camera dei deputati
Servizio Studi
XVII Legislatura

Documentazione per l'esame di
Atti del Governo



Schema di regolamento di attuazione della legge n. 85 del 2009, concernente l'istituzione della banca dati nazionale del DNA e del suo laboratorio centrale

Atto del Governo 202

Dossier n° 206 - Schede di lettura
22 settembre 2015

Informazioni sugli atti di riferimento

Atto del Governo:	202
Titolo:	Schema di decreto del Presidente della Repubblica concernente regolamento recante disposizioni di attuazione della legge 30 giugno 2009, n. 85, concernente l'istituzione della banca dati nazionale del DNA e del laboratorio centrale per la banca dati nazionale del DNA
Norma di riferimento:	Legge 30 giugno 2009, n. 85, art. 16
Numero di articoli:	36
Date:	
presentazione:	9 settembre 2015
assegnazione:	15 settembre 2015
termine per l'espressione del parere:	30 settembre 2015
Commissioni competenti:	I Affari costituzionali, II Giustizia

<http://www.camera.it/leg17/682?atto=202&tipoAtto=Atto&leg=17&tab=3#inizio>



Corso di Alta Formazione in Genetica Forense

Camera dei deputati
XVII LEGISLATURA



Verifica delle quantificazioni

Regolamento concernente l'istituzione della
Banca dati nazionale del DNA e del
Laboratorio centrale per la Banca dati

(Schema di decreto del Presidente della Repubblica n. 202)

N . 270 – 30 settembre 2015



"Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura".

L'ultima edizione, datata 2005, è basata sulla norma ISO 9001:2000, della quale riprende l'impostazione generale ponendo maggiore enfasi sulla competenza del personale e sull'affidabilità del dato analitico. E' in preparazione la nuova edizione con una deadline prevista per il 31-05-2017.

NORMA EUROPEA	Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura	UNI CEI EN ISO/IEC 17025
		SETTEMBRE 2005
	General requirements for the competence of testing and calibration laboratories	Versione bilingue del marzo 2006
	La norma specifica i requisiti generali per la competenza dei laboratori ad effettuare prove e/o tarature, incluso il campionamento. Essa copre le prove e tarature eseguite utilizzando metodi normalizzati, metodi non-normalizzati e metodi sviluppati dai laboratori.	



ILAC-G19:08/2014

Modules in a Forensic Science Process

TABLE OF CONTENTS

PREAMBLE	4
PURPOSE	4
AUTHORSHIP	4
1. Scope	5
2. Terms and definitions	6
3. General guidance common to all activity modules in the forensic science process	9
4. Activity modules in the forensic science process	18
4.1 Initial discussion regarding scene of crime attendance	18
4.2 Undertaking initial actions at the scene of crime	20
4.3 Developing a scene of crime investigation strategy	21
4.4 Undertake scene of crime investigation	23
4.5 Assess scene of crime findings and consider further examination	26
4.6 Interpret and report findings from the scene of crime	27
4.7 Examination and testing	27
4.8 Interpretation of the results of examinations and tests	30
4.9 Report from examinations and tests including interpretation of results	32
Annex A: Examples of disciplines undertaken by forensic units	34
Annex B: Bibliography	36
Annex C: Correlation chart	36

ISO/TC 272 Forensic sciences

About

Contact details

Structure

Liaisons

Meetings

Tools

Secretariat: SA

Secretary: [Ms Monja Korter](#)

Chairperson: Dr. Linzi Wilson-Wilde until end 2017

ISO Central Secretariat contact: [Mrs Mary Lou Pelaprat](#)

ISO Editorial Programme Manager: [Mrs. Laura Mathew](#)

Creation date: 2012

Scope:

Standardization and guidance in the field of Forensic Science. This includes the development of standards that pertain to laboratory and field based forensic science techniques and methodology in broad general areas such as the detection and collection of physical evidence, the subsequent analysis and interpretation of the evidence, and the reporting of results and findings.

Excludes

- o Generic quality management standards dealt with by ISO/TC 176;
- o Conformity assessment guidelines dealt with by the ISO committee on conformity assessment (CASCO).

Total number of published ISO standards related to the TC and its SCs (number includes updates):	0
Participating countries:	20
Observing countries:	13

Non c'è una norma ISO per la genetica forense



Struttura della ISO17025:2005

INDICE	
	PREMESSA 2
	INTRODUZIONE 4
1	SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE 4
2	RIFERIMENTI NORMATIVI 6
3	TERMINI E DEFINIZIONI 6
4	REQUISITI GESTIONALI 8
4.1	Organizzazione 8
4.2	Sistema di gestione 10
4.3	Tenuta sotto controllo della documentazione 12
4.3.1	Generalità 12
4.3.2	Approvazione e diffusione dei documenti 12
4.3.3	Modifiche dei documenti 12
4.4	Riesame delle richieste, delle offerte e dei contratti 14
4.5	Subappalto delle prove e delle tarature 16
4.6	Approvvigionamento di servizi e di forniture 16
4.7	Servizi al cliente 16
4.8	Reclami 18
4.9	Tenuta sotto controllo delle attività di prova e/o di taratura non conformi 18
4.10	Miglioramento 18
4.11	Azioni correttive 20
4.11.1	Generalità 20
4.11.2	Analisi delle cause 20
4.11.3	Selezione ed attuazione delle azioni correttive 20
4.11.4	Monitoraggio delle azioni correttive 20
4.11.5	Audit supplementari 20
4.12	Azioni preventive 20
4.13	Tenuta sotto controllo delle registrazioni 22
4.13.1	Generalità 22
4.13.2	Registrazioni tecniche 22
4.14	Audit interni 24
4.15	Riesami da parte della direzione 24

5 REQUISITI TECNICI		26
5.1	Generalità	26
5.2	Personale	26
5.3	Luogo di lavoro e condizioni ambientali	28
5.4	Metodi di prova e di taratura e validazione dei metodi	30
5.4.1	Generalità	30
5.4.2	Selezione dei metodi	30
5.4.3	Metodi sviluppati dal laboratorio	30
5.4.4	Metodi non normalizzati	30
5.4.5	Validazione dei metodi	32
5.4.6	Stima dell'incertezza di misura	34
5.4.7	Tenuta sotto controllo dei dati	34
5.5	Apparecchiature	36
5.6	Riferibilità delle misure	38
5.6.1	Generalità	38
5.6.2	Requisiti specifici	38
5.6.3	Campioni di riferimento e materiali di riferimento	42
5.7	Campionamento	42
5.8	Manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova e a taratura	44
5.9	Assicurazione della qualità dei risultati di prova e di taratura	46
5.10	Presentazione dei risultati	46
5.10.1	Generalità	46
5.10.2	Rapporti di prova e certificati di taratura	46
5.10.3	Rapporti di prova	48
5.10.4	Certificati di taratura	50
5.10.5	Pareri ed interpretazioni	50
5.10.6	Risultati di prova e di taratura ottenuti da laboratori subappaltati	50
5.10.7	Trasmissione elettronica dei risultati	52
5.10.8	Formato dei rapporti e dei certificati	52
5.10.9	Modifiche ai rapporti di prova ed ai certificati di taratura	52



Ora nella versione 2005, è in fase di revisione con una *deadline* prevista per il 31-05-2017.



La sez. 4 della norma richiama i requisiti gestionali del laboratorio e per questo motivo una struttura che abbia la certificazione ISO9001 si troverà avvantaggiata nell'affrontare l'accreditamento ISO17025.

La sez. 5 della norma ISO17025 entra nello specifico della prova, per verificare se il laboratorio soddisfa tutti i requisiti necessari per fornire un rapporto di prova affidabile.



4.3 Tenuta sotto controllo della documentazione

4.3.1 Generalità

Il laboratorio deve stabilire e mantenere attive procedure per controllare tutti i documenti che costituiscono il sistema di gestione (elaborati all'interno o provenienti da fonti esterne), come regolamenti, norme o altri documenti normativi, metodi di prova e/o di taratura, così come disegni, software, specifiche, istruzioni e manuali.

 Ospedaliero Universitaria Careggi							
SOD Diagnostica Genetica M/1416/42-2 Elenco documenti sistema gestione qualità (moduli e registrazioni)							
ID	Codice documento	Titolo	Indice di Edizioni	Data di Edizione	Indice di Revisione	Data di revisione	Re
141	M/1416/75-41	Valutazione scostamento kit forense	1	0/3/2014	0		
142	M/1416/75-42	Diluizioni tracce miste	1	10/03/2014	0		
143	M/1416/75-43	Globalfiler controllo negativo	1	10/03/2014	0		
144	M/1416/75-44	Validazione Globalfiler	1	10/03/2014	0		
145	M/1416/75-45	Low copy number	1	10/03/2014	0		
146	M/1416/75-46	Validazione Real Time	1	10/03/2014	0		
147	M/1416/75-47	Validazione Nanodrop	1	10/03/2014	0		
148	M/1416/75-48	Taratura pipette (file Excel)	1	10/03/2014	0		
149	M/1416/822-1	Programmazione Audit	1	29/11/2007	1	01/02/2013	

4.13 Tenuta sotto controllo delle registrazioni

4.13.1 Generalità

4.13.1.1 Il laboratorio deve stabilire e mantenere attive procedure per l'identificazione, la raccolta, l'indicizzazione, l'accesso, la sistemazione in classificatori, l'archiviazione, la conservazione e l'eliminazione di registrazioni tecniche e relative alla qualità. Le registrazioni della qualità devono includere i rapporti di audit interni ed i riesami da parte della direzione, così come le registrazioni delle azioni correttive e preventive.

4.13.1.2 Tutte le registrazioni devono essere leggibili e devono essere sistemate e conservate in modo tale che esse siano facilmente reperibili in aree con ambiente idoneo per evitare deterioramenti o danni e per prevenire perdite. Devono essere stabiliti i tempi di conservazione delle registrazioni.

4.13.2 Registrazioni tecniche

4.13.2.1 Il laboratorio deve conservare, per un periodo determinato, le registrazioni delle osservazioni originali, dei dati da esse derivati e sufficienti informazioni per stabilire un percorso di audit, nonché le registrazioni relative alla taratura, al personale ed una copia di ciascun rapporto di prova o certificato di taratura emesso. Le registrazioni corrispondenti a ogni prova o taratura devono contenere informazioni sufficienti per facilitare, se possibile, l'identificazione di fattori che influenzano l'incertezza e per consentire la ripetizione delle prove o delle tarature in condizioni più vicine possibili all'originale. Le registrazioni devono includere l'identità del personale responsabile per il campionamento, per l'esecuzione di ogni prova e/o taratura e per la verifica dei risultati.

■ LIMS/LIS - Laboratory Information System



4.11 Azioni correttive

4.11.1 Generalità

Il laboratorio deve stabilire una politica ed una procedura e deve designare autorità appropriate per attuare azioni correttive quando sono state identificate attività non conformi o scostamenti dalle politiche e dalle procedure nel sistema di gestione o nelle attività tecniche.

Descrivere sistematicamente ogni tipo di non conformità in relazione al fallimento dei processi e delle procedure descritte nel sistema di qualità per intraprendere le azioni correttive è un punto cruciale per ogni laboratorio accreditato.



5.4.2

Selezione dei metodi

Il laboratorio deve utilizzare metodi di prova e/o di taratura, compresi i metodi di campionamento, che soddisfino le esigenze del cliente e che siano appropriati per le prove e/o le tarature da eseguire. Si devono utilizzare preferibilmente i metodi pubblicati nelle norme internazionali, regionali o nazionali. Il laboratorio deve assicurare che sia utilizzata l'ultima edizione valida, salvo che ciò non sia appropriato o possibile. Quando necessario la norma deve essere integrata con dettagli supplementari per assicurarne una corretta applicazione.

5.4.3

Metodi sviluppati dal laboratorio

L'introduzione di metodi di prova e di taratura sviluppati dal laboratorio per il suo proprio utilizzo deve essere un'attività pianificata e deve essere affidata a personale qualificato con risorse adeguate. I piani devono essere aggiornati in relazione allo sviluppo dei metodi e deve essere assicurata un'efficace comunicazione fra tutto il personale coinvolto.

Il metodo di lavoro ISO 17025:2005
per la genetica forense è autoportante

Le aree dedicate al settore forense



Corso di Alta Formazione in Genetica Forense

Le aree condivise con tutto il laboratorio



PCR



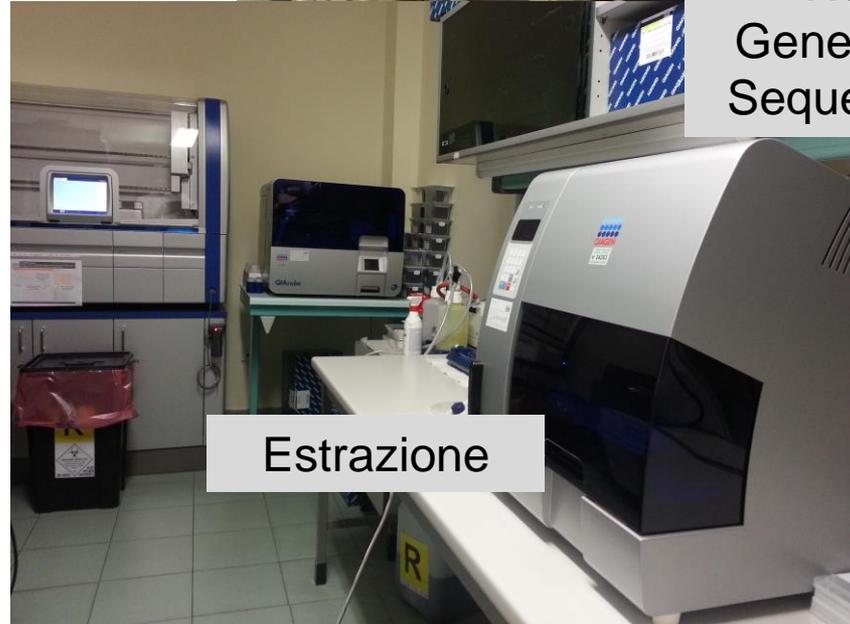
Next
Generation
Sequencing



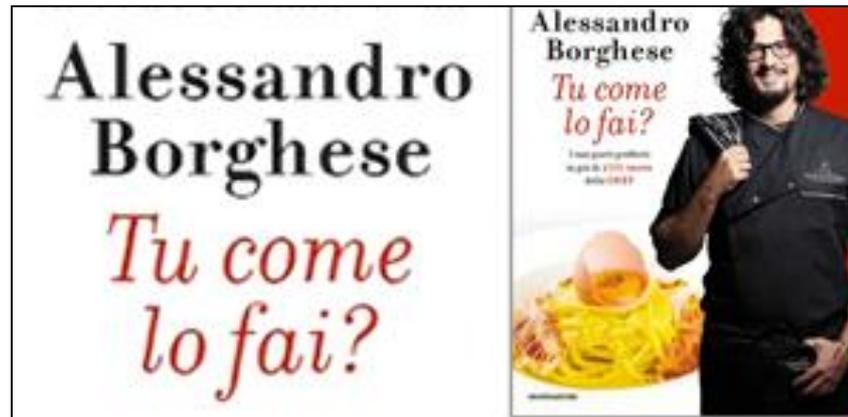
Elettroforesi
capillare



Estrazione



Scegliere il proprio metodo di lavoro e dichiararlo



La nostra esperienza

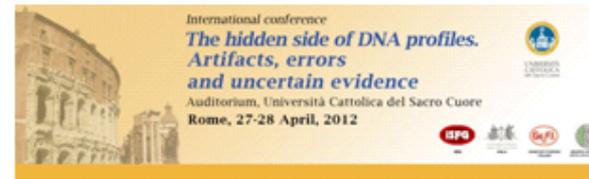


N. ACCR	Laboratorio	Settori	Recapiti
1268 (L)	Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Dipartimento di Laboratorio, SOD Diagnostica Genetica Largo Brambilla, 3 50134 - Firenze (FI)	Biologia molecolare	Tel: 055794111 Fax: desanzoc@aou-careggi.toscana.it E-mail: aoucareggi@aou-careggi.toscana.it Sito Web: www.aou-careggi.toscana.it

Corso di Alta Formazione in Genetica Forense



Peter M. Schneider
Institute of Legal Medicine
University of Cologne
Germany



Standard protocol

- DNA extraction (M48/EZ-1)
- qPCR quantitation of extracted DNA
- First STR multiplex typing
 - >100 pg/μL:
use 0.5-1ng DNA in 12.5μL volume
 - >10 and <100pg/μL
use 5μL DNA for PCR in 12.5μL volume
 - 0 to 10pg/μL
use 10μL in 25μL volume
- Second multiplex typing in case of any results

Low template scenario

- Use full PCR reaction volume
- If only a few isolated peaks <100 rfu are visible:
end of analysis
- If partial profile across all loci with majority of peaks >100 rfu becomes visible:
 - Increase injection time from 10 to 30 secs.
 - Increase recommended number of PCR cycles by 2
 - Confirm result with repeated analyses (depending on total amount of DNA)
- Interpretation must consider stochastic events



DNA COMMISSION

Rec

Pars

Prin

Inter

mito

(PREP

Gill P

Schi

Home About ENFSI News A

International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the evaluation of STR typing results that may include drop-out and/or drop-in using probabilistic methods

Gill et al

Scientific Working Group on
DNA Analysis Methods
(SWGDM)

PDF

PDF

islation in

al Cases in

FBI Quality Assurance Standard (QAS) Documents

- [The FBI Director's Databasing Quality Assurance Standards for DNA Databasing Laboratories](#) - Effective 09/01/2011
- [The FBI Quality Assurance Standards Audit for DNA Databasing Laboratories](#) - Effective 09/01/2011
- [The FBI Director's Forensic Quality Assurance Standards for DNA Testing Laboratories](#) - Effective 09/01/2011
- [The FBI's Forensic Quality Assurance Standards Audit for Forensic DNA Testing Laboratories](#) - Effective 09/01/2011
- [The FBI Director's Addendum to the Quality Assurance Standards for DNA Databasing Laboratories performing Rapid DNA Analysis and Modified Rapid DNA Analysis Using a Rapid DNA Instrument](#) - Effective 12/01/2014
- [The FBI Director's Addendum to the Quality Assurance Standards Audit for DNA Databasing Laboratories performing Rapid DNA Analysis and Modified Rapid DNA Analysis Using a Rapid DNA Instrument](#) - Effective 12/01/2014



Validare il metodo interno

5.4.5 Validazione dei metodi

5.4.5.1 La validazione è la conferma attraverso esame e l'apporto di evidenza oggettiva che i requisiti particolari per l'utilizzazione prevista sono soddisfatti.

5.4.5.2 Il laboratorio deve validare i metodi non normalizzati, i metodi sviluppati/progettati dal laboratorio, i metodi normalizzati utilizzati al di fuori del proprio scopo e campo di applicazione prefissato, così come estensioni e modifiche di metodi normalizzati, per confermare che i metodi siano adatti all'utilizzazione prevista. La validazione deve essere estesa in modo da soddisfare le esigenze di una data applicazione o campo di applicazione. Il laboratorio deve registrare i risultati ottenuti, le procedure utilizzate per la validazione, così come una dichiarazione circa l'idoneità del metodo per l'utilizzo previsto.



Recommended Minimum Criteria for the Validation of Various Aspects of the DNA Profiling Process

DOCUMENT TYPE :	REF. CODE:	ISSUE NO:	ISSUE DATE:
POLICY	ENFSI DNA WORKING GROUP	001	November 2010

Aim :

One of the requirements of EN ISO/IEC 17025 is that methods used in testing laboratories should be validated. As EN ISO/IEC 17025 only determines a general standard it is the role of the experts in a given field to give more detailed recommendations.



Revisione delle procedure



4.10

Miglioramento

Il laboratorio deve migliorare in modo continuo l'efficacia del proprio sistema di gestione attraverso l'utilizzo della politica per la qualità, gli obiettivi per la qualità, i risultati degli audit, l'analisi dei dati, le azioni correttive e preventive ed il riesame da parte della direzione.

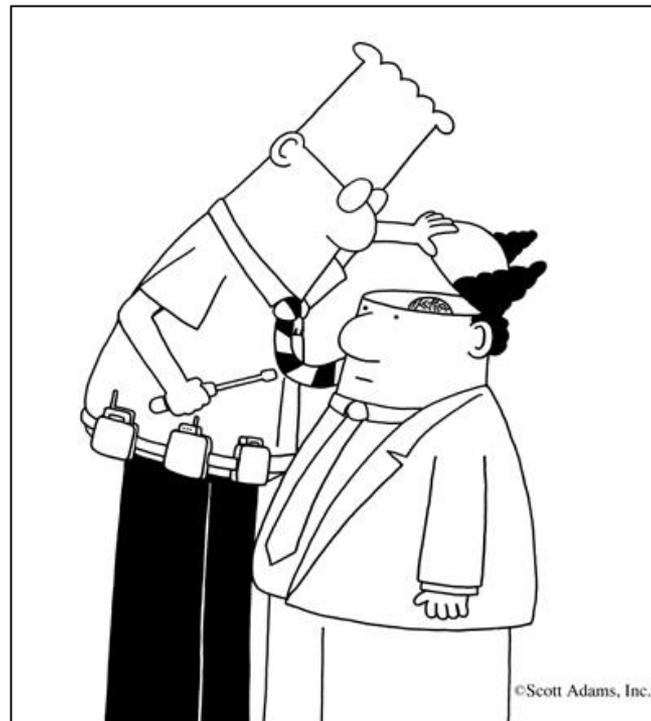




5.4.3

Metodi sviluppati dal laboratorio

L'introduzione di metodi di prova e di taratura sviluppati dal laboratorio per il suo proprio utilizzo deve essere un'attività pianificata e deve essere affidata a personale qualificato con risorse adeguate. I piani devono essere aggiornati in relazione allo sviluppo dei metodi e deve essere assicurata un'efficace comunicazione fra tutto il personale coinvolto.





Transparency and accountability in forensics

- Transparency is a key characteristic of forensic institutes and their professionals: they are open in the clear disclosure of processes, guidelines but also failures.

Gli operatori debbono essere completamente trasparenti



Error rate in forensic science

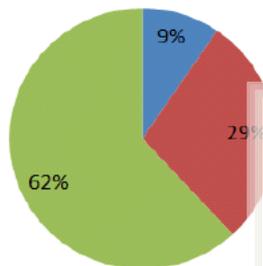
The error rate includes both type 1 (false positive) errors and type 2 (false negative) errors.

- A type 1 error in forensic DNA analysis is the event where the DNA profile of the reference sample from a suspect is incorrectly concluded to match with the crime sample;
- A type 2 error is the event of wrongly reporting a non DNA match between two samples when in truth there is one.

Type 1 and Type 2 errors: breakdown by cause

Conclusion: the source of most of the misidentification errors are in the post-analytical phase.

Type 1 and Type 2 errors: breakdown by cause



Errors 2008-2012
(total= 21)

Pre-analytical	2
Analytical	6
Post-analytical	13



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsig



Error rates in forensic DNA analysis:
Definition, numbers, impact and communication

¹Ate Kloosterman^{a,b,c,*}, ¹Marjan Sjerps^{b,d}, ¹Astrid Quak^a

^aDepartment of Human Biological Traces (HBS), Netherlands Forensic Institute, P.O. Box 240-44, 2490 AA The Hague, The Netherlands

^bDepartment of Science, Interdisciplinary Research, Statistics and Knowledge Management (WISK), Netherlands Forensic Institute, P.O. Box 240-44, 2490 AA The Hague, The Netherlands



Nederlands Forensisch Instituut
Ministerie van Veiligheid en Justitie

Framework for Registration,
Classification and Evaluation of
errors in the Forensic DNA

Typing Process

Ate Kloosterman
NFI Departments HBS & WISK
a.kloosterman@nfi.minvenj.nl

NIST WEBINAR May 28 2014



To err is human¹

It should be in the genes of the forensic scientist to create solutions, find better alternatives and meet the challenges ahead.

¹ To Err is Human: building a safer health system.
Committee on Quality of Health Care in America



**Non esiste nè accreditamento, nè certificazione
che ci offra garanzie assolute !**



GRAZIE PER L'ATTENZIONE !!!