

## **Spezieller Leitfaden für forensische DNA - Untersuchungen**

### **Vorwort:**

Der spezielle Leitfaden dient der Umsetzung der ISO 17025 für Laboratorien, die forensische DNA - Untersuchungen durchführen. Er orientiert sich an den bisher publizierten Richtlinien der ISFG (International Society for Forensic Genetics), den Richtlinien der Bundesärztekammer für die Erstattung von Abstammungsgutachten in der Fassung vom März 2002 sowie an den ILAC Guidelines for Forensic Science Laboratories.

In dem vorliegenden Leitfaden werden bestimmte Anforderungen des Allgemeinen Leitfadens zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien und der ISO 17025 konkretisiert. Zu jedem Abschnitt gelten zusätzlich immer die Anforderungen des allgemeinen Leitfadens und/oder der ISO 17025.

### **1. Einführung und Anwendungsbereich**

Forensische DNA-Untersuchungen lassen sich im wesentlichen in drei Aufgabenbereiche untergliedern; die Untersuchung von Spurenmaterial und Vergleichspersonen für die Strafverfolgung, die Identifizierung unbekannter Toter sowie die Abstammungsbegutachtung. Da die angewandten Methoden in vielerlei Hinsicht übereinstimmen, soll dieser Leitfaden alle drei Bereiche abdecken.

### **2. Normative Verweisungen**

siehe ISO 17025

### **3. Begriffe**

Siehe ISO 17025 und Allgemeiner Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien.

### **4. Anforderungen an das Management**

#### **4.12 Lenkung von Aufzeichnungen**

4.12.2 Die Datensicherung und Dokumentation der Befunde kann alternativ zur schriftlichen Form auch EDV-gestützt erfolgen, vorausgesetzt, es werden Sicherungskopien angelegt. Hierzu ist ein Archivierungskonzept im Rahmen des Verfahrens zur Lenkung von Aufzeichnungen (inkl. der Überprüfungen und der Befunde) zu erstellen.

## **5. Technische Anforderungen**

### **5.2 Personal**

5.2.1 Der Leiter/die Leiterin des Laboratoriums muß ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches oder medizinisches Hochschulstudium haben und sollte über einschlägige Erfahrung im Gebiet der Molekularbiologie und der forensischen Genetik verfügen. Eine kontinuierliche Fortbildung kann durch Teilnahme an wissenschaftlichen Fachtagungen und durch eigene wissenschaftliche Arbeit belegt werden.

Bei technischem Personal wird eine für Labortätigkeit qualifizierende Berufsausbildung vorausgesetzt. Durch den Leiter des Laboratoriums muß eine regelmäßige Schulung und Einweisung des Personals erfolgen. Insbesondere ist das Personal darauf hinzuweisen, daß die durchgeführten Untersuchungen und Daten der Vertraulichkeit unterliegen. Diese Weisung ist in schriftlicher Form zu verfassen, gegenzuzeichnen und zu dokumentieren.

### **5.3 Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen**

5.3.1/3/4 Die räumlichen Gegebenheiten müssen so beschaffen sein, dass Kontaminationen vermeidbar sind. Insbesondere sind gesonderte Bereiche für prä-PCR und post-PCR zu definieren; diese Bereiche müssen eine bauliche Trennung aufweisen.

Dem prä-PCR-Bereich sind zuzuordnen: Asservateneingang, Spurenvoruntersuchung (inklusive chemischer Vortests), ggf. Fotodokumentation, Extraktion der DNA, DNA-Quantifizierung und Ansetzen der PCR. Darüber hinaus sollten in diesem Bereich die Asservate und Vergleichsproben, die DNA-Extrakte und die Reagenzien für die PCR gelagert werden.

Der post-PCR-Bereich umfaßt die Amplifikation im PCR-Zyklus, Probenaufbereitung für die Elektrophorese und die elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte. Die Lagerung bzw. Entsorgung der PCR-Amplifikate sollte auch in diesem Bereich erfolgen.

Der Zugang zu beiden Bereichen muß geregelt und eingeschränkt sein. Besucher und nicht autorisierte Personen dürfen das Laboratorium nur unter Aufsicht betreten.

Arbeitsgeräte wie Pipetten, Kühltische, Zentrifugen und Reagenzien sollten in dem jeweiligen Arbeitsbereich vorhanden sein und dürfen nur in diesem Bereich verwendet werden.

Anweisungen für die Beschaffung, Kennzeichnung und Lagerung von Reagenzien und sonstigen Arbeitsmaterialien sind in den jeweiligen Laborbereichen so zugänglich zu machen, daß das Personal jederzeit darauf zurückgreifen kann.

## **5.4 Prüf- und Kalibrierverfahren und deren Validierung**

5.4.1 Alle im Laboratorium angewandten Analyseverfahren (Prüfverfahren) müssen validiert sein. Für alle im Laboratorium angewandten Methoden müssen schriftliche Arbeitsanweisungen vorhanden sein. Diese müssen so verfaßt sein, dass das technische Personal nach entsprechender Einweisung damit umgehen kann. Die Anweisungen müssen für alle Mitarbeiter jederzeit verfügbar sein und auf dem neuesten Stand gehalten werden.

## **5.5 Einrichtungen**

5.5.1 Das Laboratorium muß so ausgestattet sein, das ordnungsgemäße Analysen möglich sind.

Für alle Meßgeräte und Apparate müssen Bedienungsanleitungen vorhanden und für alle Mitarbeiter frei zugänglich sein.

## **5.6 Meßtechnische Rückführung**

Bei der elektrophoretischen Auftrennung von PCR-amplifizierten STR-Loci muß die Allelzuordnung durch den Vergleich mit einer allelischen Leiter erfolgen. Diese Leiter muß aus Allelen mit bekannter Sequenz bestehen, alle häufigen Allele enthalten und unter gleichen Elektrophoresebedingungen aufgetrennt werden. Die Lagerung der allelischen Leitern muß im post-PCR Bereich erfolgen.

## **5.7 Probenahme (Probenentnahme)**

Die Probenentnahme für die Untersuchungen kann entweder durch das Laboratorium selbst erfolgen oder aber durch autorisierte auswärtige Institutionen. Alle Proben müssen eindeutig, vollständig und rückführbar gekennzeichnet sein. Für die interne Probenentnahme muß im Rahmen einer Arbeitsanweisung die Entnahmetechnik und die Dokumentation geregelt sein. Insbesondere sind zu berücksichtigen: Art, Umfang und Zustand des Materials.

## **5.8 Handhabung von Prüf- und Kalibriergegenständen**

5.8.1/2 Bei Probeneingang per Post ist die Unversehrtheit zu dokumentieren.

Die Identität der Probe und der daraus hergestellten Folgeprodukte müssen während des gesamten Untersuchungsganges durch korrekte Kennzeichnung sichergestellt sein. Eine lückenlose Dokumentation aller Zwischenprodukte und Untersuchungsgänge muß gewährleistet sein. Laborinterne Abkürzungen müssen eine eindeutige Identifikation ermöglichen.

5.8.4 Die Probe und die daraus hergestellten Folgeprodukte müssen so gehandhabt und gelagert werden, das keine Beeinflussung der Ergebnisse durch Kontamination oder Degradationsprozesse stattfindet.

Spuren, Spurenräger und Vergleichsmaterial müssen in geeigneter Weise so gelagert werden, dass die DNA-Degradierung minimiert ist. Sichere Verschlussverhältnisse mit streng kontrolliertem Zugang sind erforderlich.

Extrahierte, nicht verbrauchte DNA ist einzufrieren. Amplifikate sind entweder gekühlt oder tiefgefroren für die Dauer des jeweiligen Untersuchungsgangs / Untersuchungsfalls zu lagern. Sichere Verschlussverhältnisse sind auch hierbei zu gewährleisten. Die Amplifikate müssen grundsätzlich räumlich getrennt von den übrigen Asservaten gelagert werden.

Eine Aufbewahrungsfrist für die extrahierte, nicht verbrauchte DNA von mindestens 5 Jahren ist zu gewährleisten, wenn nicht im Einzelfall von der Staatsanwaltschaft oder vom Gericht abweichend angeordnet wurde.

## **5.9 Sicherung der Qualität von Prüf- und Kalibrierergebnissen**

Es sollte eine sparsamste Verwendung des Probenmaterials erfolgen, um unabhängige Doppelbestimmungen bzw. Ergänzungsuntersuchungen zu ermöglichen.

Bei allen Messungen und Untersuchungen sind positive und negative Kontrollen, allelische Standards, sowie Kontrollen für die Trennqualität der Elektrophorese parallel mitzuführen. Wenn die Menge an Untersuchungsmaterial es ermöglicht, sollen unabhängige Doppelbestimmungen durchgeführt werden.

Für die Auswertung und Interpretation der Untersuchungsergebnisse sollen im Rahmen einer Arbeitsanweisung Richtlinien erstellt werden, mit deren Hilfe z.B. Mischungen, Stutter-Bands, Artefakt-Peaks etc. erkannt werden können. In diesem Kontext sind Akzeptanzkriterien / Ablehnungskriterien im Hinblick auf die erzielten Befunde zu formulieren.

Eine regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen im Rahmen der externen Qualitätskontrolle ist notwendig und entsprechend zu dokumentieren.

## **5.10 Ergebnisberichte (Gutachten)**

Im Gutachten müssen alle untersuchten Spuren den einzelnen Asservaten eindeutig zuzuordnen sein. Bei der Ergebnismitteilung müssen alle Informationen über die angewandte Untersuchungsmethode enthalten sein, die für die Interpretation der Befunde nötig ist. Der Verbleib bzw. die Rücksendung der Asservate soll im Gutachten vermerkt sein.

Der Zugriff auf Daten und Befunde muß autorisiertem Personal vorbehalten bleiben.

**Literaturhinweise:**

ISO/IEC 17025:1999 „General requirements for the competence of testing and calibration laboratories“

ILAC Guidelines for Forensic Laboratories

Allgemeiner Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (Deutsche Übersetzung des ILAC Guidelines for Forensic Laboratories)

Gill P, Brenner C, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Jobling MA, de Knijff P, Kayser M, Krawczak M, Mayr WR, Morling N, Olaisen B, Pascali V, Prinz M, Roewer L, Schneider PM, Sajantila A, Tyler-Smith A (2001) DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *Int J Leg Med* 114, 305-309

Bär W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Holland M, Lincoln PJ, Mayr W, Morling N, Olaisen B, Schneider PM, Tully G, Wilson M (2000) DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Int J Legal Med* 113: 193-196

Bär W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Lincoln P, Mayr W, Olaisen B. (1997) DNA recommendations. Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Int J Legal Med* 110: 175-176

Richtlinien für die Erstattung von Abstammungsgutachten, Dt. Ärzteblatt, Jg. 99, Heft 10 vom 08.03.02, Seite A665 - A667

Editorial (1993): Statement by DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics concerning the National Academy of Sciences report on DNA Technology in Forensic Science in the USA. *Forensic Sci Int* 59: 1-2.

Editorial (1992) DNA recommendations - 1992 report concerning recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Int J Legal Med* 105: 63-64

Editorial (1992): Second DNA recommendations. 1991 report concerning recommendations of the DNA commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of DNA polymorphisms. *Int J Legal Med* 104:361-364

Editorial (1992) Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci Int*. Jul;55(1):1-3.

Editorial (1989): Recommendations of the Society for Forensic Haemogenetics concerning DNA polymorphisms. *Forensic Sci. Int.* 1989, 43:109-111

Morling N, Allen RW, Carracedo A, Geada H, Guidet F, Hallenberg C, Martin W, Mayr WR, Olaisen B, Pascali VL, Schneider PM; Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on genetic investigations in paternity cases (im Druck)