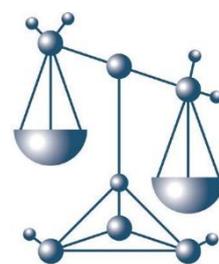


DNA采集提取、分析与解释的基本要求

用于新建实验室的文件

国际法庭科学战略联盟
第二版



IFSA

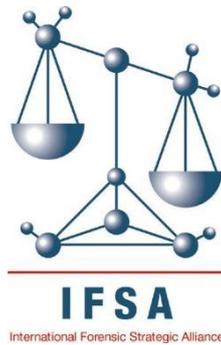
International Forensic Strategic Alliance

国际法庭科学战略联盟

DNA采集提取、分析与解释的基本要求

用于新建实验室的文件

IFSA 基本要求文件 2



该中文版文件由原英文版翻译而来，方便使用中文的法庭科学实验室知悉文件内容。请注意，这并非官方翻译。

本文件的第一版于2014年10月首次发行。对第一版进行更新后形成了第二版。

©2021年1月



目录

引言	2
前言	3
1 工作人员能力要求	4
2 仪器设备和耗材	5
3 采集提取、分析、解释和结果报告	7
4 程序、操作指南和验证	11
5 质量管理	13
6 参考文献	14

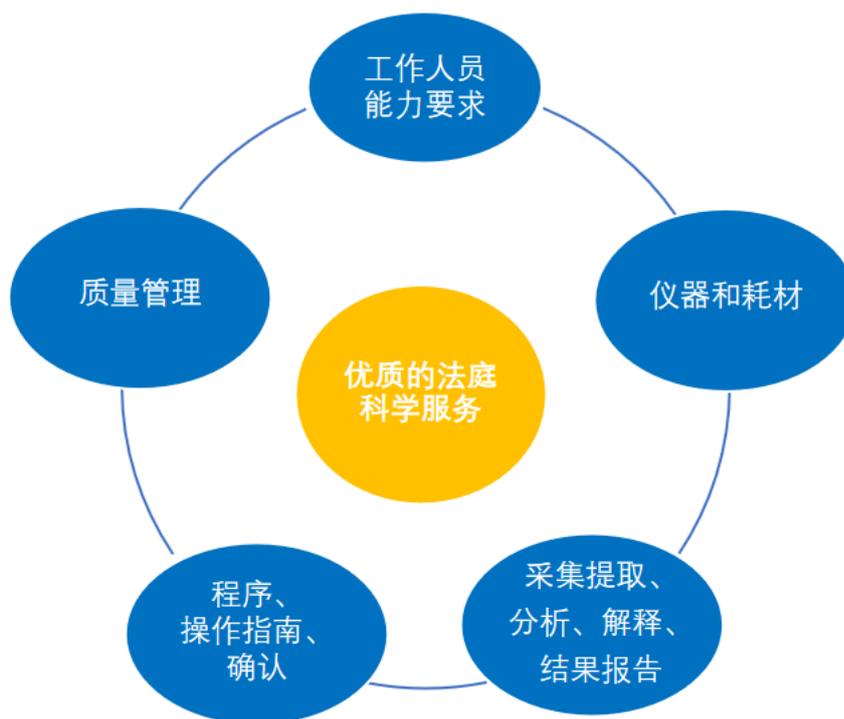
引言

本文件由国际法庭科学战略联盟(International Forensic Strategic Alliance, IFSA)制订，文件中涉及的基本要求将有助于发展中国家的新建法庭科学机构为刑事司法系统提供科学服务。

本文件旨在规定一个为获得可靠结果所必需遵循的基础或起点。法庭科学机构应该建立在此基础上，并不断努力提高提供服务的质量。

本文件描述DNA采集提取、分析与解释的基本要求。它提出以下框架：

1. 工作人员能力要求
2. 仪器和耗材
3. 采集提取、分析、解释、结果报告
4. 程序、操作指南、确认
5. 质量管理



注释：本文档不适用于进行快速DNA分析或改良快速DNA分析的实验室。可以设想，如果这些技术在法医DNA领域应用更加普遍的话，未来版本的DNA最低要求文档将会解决如上所述的新兴DNA技术。

前言

国际法庭科学战略联盟(IFSA)是一个由6个运转中的地区性法庭科学实验室网络组成的多边伙伴联盟:

- 美国犯罪实验室主任协会(ASCLD)
- 欧洲法庭科学学会(ENFSI)
- 澳大利亚及新西兰国家法庭科学协会(NIFS ANZ)
- 拉丁美洲犯罪学和法庭科学研究院(AICEF)
- 亚洲法医科学学会(AFSN)
- 南部非洲区域法庭科学学会(SARFS).

IFSA与莱弗休姆法庭科学研究中心(Leverhulme Research Centre for Forensic Science)、联合国毒品与犯罪问题办公室(United Nations Office on Drugs and Crime, UNODC)和国际刑警组织(INTERPOL)这三个战略伙伴有着紧密合作。

IFSA认识到,无论是在现场还是在实验室进行的程序,法庭科学实验室的质量管理框架都为提供优质且标准化的结果发挥着重要作用。

2012年2月,在维也纳由UNODC主办的IFSA专门会议上,讨论了发展中国家新建法庭科学实验室的需求,会议决定制定一系列基本要求文件(Minimum Requirement Documents, MRD),以填补目前为管理这些实验室提供有效建议的空白。

2014年10月形成了第一组系列文件,包括缴获毒品鉴定、DNA分析和犯罪现场勘查等具体领域的3份文件。这些文件关注至关重要的质量领域,使用简单的词汇、图表。这三份文件都已经更新并经过了进一步审查,形成的第二版文件已于2020年12月出版。与此同时,电子物证、文件检验和潜在指纹分析领域的3份文件也在编制中。此外,编制了一个单独的术语文件用来指导用户理解这些文件中的重要概念。

这些MRD文件旨在作为新建法庭科学实验室起始阶段的开端指南,以便迅速建立他们的质量管理体系和科学/技术能力。一旦形成了这种能力,这些实验室应该在此基础上继续发展,通过对制定的标准进行认证,不断努力改进服务质量。

在起草这些文件的过程中,来自6个地区性法庭科学学会的科学工作组和专家们以及IFSA的战略伙伴们,在多轮研讨中作出了宝贵的贡献。没有大家的参与,就不可能形成该系列中最终的基本要求文件。

IFSA希望,在新建法庭科学实验室迈向建立优质法庭科学服务的过程中,这些文件将能发挥重要作用。

IFSA理事会

2021年1月

1 工作人员能力要求

所有实验室的工作人员必须明确了解自己的职责，并且应始终根据实验室制定的道德准则/专业技能和行为准则(见下方脚注中的实例)¹履行自己的职责。

本节给出了开展DNA采集提取、分析和解释工作的实验室工作人员所需的基本教育水平和（技能）培训的建议²。

1.1 教育

实验室工作人员需具备与其职责相称的教育水平、技能和能力。

技术人员：符合要实施任务的性质和复杂程度的高等教育水平。

分析师：出具报告的工作人员需受过高等教育，尤其是生物科学方向，最好具备统计学课程背景。所学课程应当包括理论课和相关的实验课程。

1.2 培训

实验室应为新工作人员或新任务制定书面的培训计划，文件中应对所需的工作表现标准、能力要求制定评估方案。例如，可以通过执行培训计划或分析未知样本来完成评估。培训应由有经验的工作人员提供。

实验室培训规划应包含培训手册，该手册涵盖分析人员/技术人员在案件工作过程中使用的全部DNA分析程序以及职业道德。该培训计划讲授并评估进行DNA采集提取、分析和结果解释所需的技能及知识。工作人员应在承担独立案件工作之前通过能力评估。能力测试将确保在培训中获得恰当的技能及知识。在可行的情况下，可以通过参加外部课程或研讨会来扩充培训。

应制订继续教育规划，作为资格认证的延伸，并保证分析人员能够跟上科技的进步。这些计划可以包括参加学术会议、在线研讨会、科学文献综述和其他自学方法的评析等。

培训和能力测试应当记录在案，并根据实验室确立的指南保留记录。所有的分析师/技术人员都需要参加正在进行的能力测试，并记录在案。

¹ 地区法庭科学协会 举行的伦理准则实例：

- 美国犯罪实验室主任协会 (ASCLD) – www.asclcd.org
- 欧洲法庭科学学会 (ENFSI) – www.enfsi.eu
- 澳大利亚及新西兰法庭科学协会 (NIFS ANZ) – www.anzfss.org
- 拉丁美洲犯罪学和法庭科学研究院(AICEF) – www.aicef.net
- 亚洲法庭科学学会 (AFSN) – www.asianforensic.net

² 更多信息可以访问ENFSI关于培训DNA实验室工作人员的指南 - www.enfsi.eu

2 仪器设备和耗材

2.1 设施

物证受理和储存区域需要和检验区域分离。

实验室应具备相应的公共设施，如供电、干净的水以及足够的分隔空间和管道装置。应保持分析区域的负压通气。进行认证的高等级实验室还应包括空调、气密窗、净化水，且可考虑设置单独的气压控制，用于扩增前（正压）和扩增后（负压）的区域。

生物样本应当保存在不受污染、高温、阳光直射的区域。部分生物样本可能需要冷藏或冷冻保存。冷藏或冷冻设备的温度需进行监测，以确保样本不会降解。实验室应当对相关仪器设备的温度设置可接受的范围。

实验室应具备用于储存消耗品的冰箱和冰柜。生物样本不得与耗材储存在一起。如果实验室无法提供专用的冰箱和冰柜，那么需要使用坚固的塑料袋、盒子或其他物理容器使样本与耗材物理隔离

应保证分析、物证和样本保存区域的安全，限制人员出入。

2.2 仪器设备

实验室应采用适用于实验室所用方法的仪器设备。

实验室至少应具备检查运作并校正所有关键设备的工作流程。

关键设备包括但不限于：

- 热循环仪，包括实时定量聚合酶链反应（PCR）；
- 热循环仪温度验证系统；
- 电泳检测系统，如遗传分析仪；
- 自动化系统；以及
- 机械移液器

实验室应具备日程计划，并遵循书面的程序以确保所有的仪器和设备进行了适宜的维护、服务、校正以及验证工作。应监控设备的运行情况，并留存运行检查的记录。

只有受过培训的工作人员才可以操作仪器。制造商提供的操作手册和其他相关文档，如每种设备的标准操作程序（SOP），应保存在实验室中随时可用。在设备应用于案件检验之前应对使用方法进行验证。

实验室应针对监测、清洁和消毒仪器设备制定书面的操作流程。实验室的管理层有责任设计和实施适当的清洁技术和规程。

2.3 耗材

实验室需使用与所采用方法相适应的试剂和耗材，这些试剂和耗材包括但不限于：“PCR级”、“无DNA酶”、“无DNA”。

实验室需要有准备试剂的书面操作流程。

商品化试剂应贴有标签，在上标注由生产商或实验室确定的名称和过期时间。优秀的实验室惯例是在首次开启使用试剂时进行日期标注。

所有内部配制的试剂应当标注名称、配制人员、配制时间或批号、过期时间。

实验室需要认定关键试剂，并在使用它们进行DNA分析前进行评估。关键试剂包括但不限于：

- DNA提取、定量和基因分型试剂盒；
- 蛋白酶、热稳定DNA聚合酶、引物组、等位基因分型标准品、用于遗传分析但不是试剂盒组分的试剂。

所有试剂均应按照生产商的要求储存在适宜的温度。同一试剂盒中的不同试剂可能需要不同的保存温度。所有内部准备的试剂也应保存在适宜的温度。试剂保存应避免阳光直射。

3 采集提取、分析、结果解释和报告

3.1 采集提取

本节将介绍从送检至实验室的物证上提取DNA证据的方法。犯罪现场勘查最低要求文档涵盖了犯罪现场DNA证据提取的相关内容，这些内容也适用于开展犯罪现场物证提取处理的实验室。

实验室应当记录分析委托以及送检的物证。对于每一个送检的物证，需给予一个唯一的标识。如果委托的文件和送检的物证有明显的差异，则应当及时通知送检人，并将不一致情况记录在案件档案中。

实验室应建立物证监管链体系。只有经过授权的工作人员才有权接触物证。

每一个送检物证都应妥善保存，以确保物证的完整性。送检时应将物证密封，以确保其完整性。

实验室应当确保以下事项：

- 处理生物物证的人员应当穿戴合适的个人防护设备，如实验服、一次性手套、口罩等，以避免潜在的污染；
- 血液、精液等体液的检验应当使用生物化学、显微镜或免疫学等方法进行；
- 物证检验应当在洁净的房间内进行；
- 在上述房间内的活动仅限于物证检验；
- 在物证检验的前后，都应当使用10%的家用漂白剂对检验器械（如镊子、剪刀、手术刀）和实验室表面进行消毒；
- 如果可能的话，可使用一次性垫布覆盖台面；
- 定期清点物品，并使用唯一的标识进行标记；
- 将检验记录在案并保留注释。

为避免交叉污染，物证检验应在独立的时间、空间和检验人员间进行。如果案件和参考样本在同一区域检验，以下方法可以降低污染的风险：

- 为案件和参考样本检验指定单独的工作台和检验设备；
- 案件和参考样本永远不能同时处理；
- 案件样本的检验应在参考样本检验之前；
- 从案件样本检验转换为参考样本检验时，应彻底清洁所有实验室工作台和设备，反之亦然。

3.2 分析

DNA分析是包含样本提取、定量（可选）、扩增、电泳和解释的复杂过程。

DNA分析利用了电泳的特性，这些特性可通过平板凝胶电泳或毛细管电泳的方法来实现。

DNA分析的种类包括：

- 常染色体STR标记；
- Y-STR标记；
- X-STR标记；
- 线粒体标记；

以及其他用于祖先推断或表型特征的标记。

样本提取

实验室应为DNA提取提供独立的空间，并使用相关流程对用于法医分析的DNA进行提取。提取流程应包括

- 对无精液斑迹的提取方法；
- 对含有精液斑迹的差异提取法（性侵相关样本）。
- 所有的提取方法在进行定量、扩增和解释时都应含有一个试剂空白对照。

定量

在样本扩增前可进行人DNA定量。基于样本的类型，该步骤可被跳过，例如参考样本（可进行直接扩增的一定体积血液或切出的一块干燥斑迹）。

所有定量流程应含有标准品，以便确定提取的DNA的数量值或质量值。

扩增

所有样本应使用通过验证的商业或内部DNA分型试剂盒扩增。需注意的是内部分型盒应遵循开发验证流程。

为利用现有的法医DNA数据库，建议所选商业试剂盒应至少包含推荐的INTERPOL标准基因座(ISSOL)²、CODIS核心基因座或与该区域使用的数据库相兼容的基因座。

在扩增物证时，应同时扩增阳性、阴性和试剂空白对照。

所有对照（扩增阳性、阴性、试剂空白）均需进行分析解释。

应使用样本中最灵敏的体积扩增试剂空白。

应使用扩增试剂盒最大允许体积扩增阴性对照。

基于定量结果可以决定中止样本的进一步分析，并注明该样本将不会产生可解释的DNA图谱。作出这样的结论前需要有确认研究的支持。

扩增前和扩增后的操作流程应在独立的区域进行，以避免样本污染。

移液器等设备应专用于特定区域。

电泳

一组样本或一个电泳板应至少添加一个等位基因分型标准品（ladder）。

试剂空白和阴性对照需要在-一组样本的最灵敏条件下（进样时间、电压等）进行电泳。对照的扩增体积也应满足最灵敏的条件。

质量控制

DNA分析方法的灵敏性要求实验室需要采取以下污染防控措施：

- 为避免样本间污染，扩增前后的操作区域需物理隔离。
- 移液器等设备应专用于特定区域。
- 工作台面和设备在进行物证处理前、不同物证间和物证处理完成之后都需要进行清洁。
- 通常会使用Glassine纸、Kimwipes®纸、屠宰纸（butcher paper，一种厚而不透水的纸，译者注）或Benchkote®纸来充当工作台和物证之间的屏障。在更换物证之后应同时更换纸张。
- 离心机、热循环仪、试管架、加样枪头以及其它任何设备应在每次使用前后清洗。
- 手术钳、剪刀、手术刀以及开管装置等设备应在使用前进行清洗。一些实验室购买一次性消毒的仪器，这些设备应在即将处理样本之前再开启，在使用后应丢弃这些设备。
- 清洗工作应使用10%漂白剂或Cidex® Plus等商品化试剂，从而将DNA污染风险降到最低。
- 如果用漂白剂清洗某个物品，清洗后该物品必须用净水或酒精冲洗，以防止漂白液堆积。此外，应冲洗用漂白剂清洗的仪器或设备以防止腐蚀。
- 分析每一个物证之间必须清洁工作台和相关设备，即使是在分析关联物证时（例如同一个人所穿的多套衣物）。
- 强烈建议构建工作人员质控数据库，以作为附加的质量保证程序来检测可能存在的污染。

3.3 解释³

实验室应当具备并遵循成文的数据解释指南，以解释包括阳性、阴性、试剂空白对照的所有数据。

实验室应当具备并遵循成文的混合DNA解释指南，以解决主要和次要贡献者、包含、排除以及报告结果和统计学数据³。

统计学解释应当基于以下内容：

- 人群数据库。实验室应当遵循专家组（如DNA分析方法科学工作组（SWGAM）³或国际法医遗传学会（ISFG）⁴）关于数据库中最少图谱数的建议。该数字将因分析的标记不同而有所差异。
- 应使用相关人群的合适数据库进行统计学计算。

进行Y染色体⁶或线粒体⁷分型的实验室应当具有并遵循针对该项测试的成文统计学解释指南。

3.4 报告

实验室应具备记录观察和测试结果的书面流程。

（实验室）应尽一切努力来出具准确、清晰、客观并符合所服务司法管辖区要求的报告。实验室应保留用于支持报告结论的所有分析结果。

实验室应为同行评审保留全面的检验记录。

报告应包括：

- 报告标题；
- 出具日期；
- 检验实验室的名称和地址；
- 报告的唯一标识（出现在报告的每一页）；
- 页码和总页数；
- 受理物证的时间；

³更多的信息可以参阅ENFSI关于法庭科学报告评估的指南 -- www.enfsi.eu

- 送检物证的描述性列表（包括未检验项目）；
- 采样；
- 使用的方法；
- 基因座或扩增系统；
- 分析结果；
- 结论，包括定量或定性的解释性陈述，匹配的显著性应与统计学陈述相关联。
- 出具报告工作人员的身份；

报告仅能由经验丰富、经过适当培训且经授权的人出具。

同行评审

实验室应确定一个框架，以由负责进行测试/流程的审查人对报告进行系统的评审。这项审查有助于确保得出的所有结论和支持数据均与实验室政策和指南一致。

案件文档应当包含足够的信息，以使审查人能够评估案件记录并解释数据。在报告出具前，应当进行技术和管理审核。

如果出现案件负责人与审核人意见不符的情况，则应当将此事移交给有资格确定争议问题的上级部门处理。

技术审核应至少包含以下内容：

- 案件记录、工作表格和电子数据；
- 根据书面解释之南，用以验证解释的DNA分型（等位命名）；
- 所有确认合理包含或排除结论的DNA图谱；
- 所有不确定的结果；
- 所有对照，包括内标和等位基因分型标准品；
- 所有统计学分析（如果适用）；
- 保管链和物证处置；
- 审查最终报告的内容，以确保所有的结果和结论都有书面数据的支持。

技术审查需记录在案件档案中。技术审查应由具备所用方法检验资质的人员进行。

管理审核应包含以下内容：

- 最终报告中的任何笔误；
- 遵守3.4节的内容。

案件记录

实验室应具有保存、质控、保密和案件记录发布的流程。

3.5 数据库

全球已建立众多的法医数据库，用于解决悬案，并保证“安全”定罪。由于在不同国家的立法/规定中关于哪些数据可以被输入到数据库的要求不同，本文档无法强调与DNA数据库相关的标准。

INTERPOL的DNA监测专家组已经就国家DNA数据库建设发布了建议和最佳做法⁸。ENFSI的DNA工作组发布了有关DNA数据库管理的审查和建议文件⁹。

4 程序、操作指南和确认

4.1 程序和操作指南

实验室应具备并遵循分析程序和操作指南。这些操作指南应当包括生物物证识别、样本预处理、提取方法、定量、扩增、分析和解释。

程序和操作指南应当形成文件、进行跟踪和控制。实验室内编写的程序应当在使用前进行确认或核对，以确保它们的适用性。

所有的程序和操作指南都应规定仪器、试剂和对照。程序应当是一个分步骤的详细操作流程，以确保检验和数据/结果分析的一致性。

如果方法发生变更，则应记录变更的日期，以便能够追溯每一个样本处理时使用了何种方法。

4.2 确认⁴

所有用于物证分析的方法（包括公开发布和实验室内部编写）均需进行确认，以证明它们的可靠性和适用性。内部设备应用作确认研究。确认工作应由熟练使用所用技术的工作人员进行。

一般性指南：

- 选择自始至终负责确认研究的人员；
- 阅读经过同行评审的出版物和制造商的建议；
- 根据上述内容起草确认方案。该方案应当包括所需要的试剂、样本、仪器和设备，需进行的实验和预期结果。在确认之前该方案应当得到实验室的批准；
- 选取合适的对照；
- 记录验证研究；
- 总结结果并在应用前报批；
- 基于验证结果，起草SOP和解释指南；
- 为工作人员起草培训手册和能力测验。

在该方法用于案件工作前，应当对工作人员进行培训和能力测验，培训和能力测验应当记录在案。

DNA分析应进行以下研究：

- 重现性（利用人DNA对照进行研究）；
- 精度和准确性（利用人DNA对照进行研究）；
- 灵敏度；
- 使用在案件中具有代表性的混合物及混合比例。

此外，所用仪器的分析阈值（如果可行）也应当确定下来，这些内容可包括：

- 最低检测限；
- 变动范围；
- 随机阈值；

⁴ Extra information can be found in the ENFSI Guideline for Internal Validation of various aspects of the DNA Profiling Process - www.enfsi.eu

- 影子峰区间。

应当使用阴性（空白）对照进行污染检查。

实验室应当有成文的相关人群分布数据，其中应当包括从相关人群中获得的基因座或基因型的分布情况。

内部开发的数据库应当进行独立性测试。

验证过程中的所有文件都应保留（硬拷贝或电子形式），相关文件包括：

- 验证流程；
- 研究日期
- 数据；
- 结果总结/结论；
- 审批。

5 质量管理⁵

实验室应当建立、遵循和维护与检验活动相适应的成文质量管理体系，并与这些最低要求等同。

实验室应当记录、维护并遵循有关文件保存的程序，该程序专门针对以下内容：

- 能力验证；
- 分析结果；
- 样本/物证连续性记录/保管链；
- 样本受理；
- 处理记录；
- 样本保存；
- 纠正措施；
- 审核；
- 培训记录；
- 持续专业发展；
- 法庭证词监控；
- 教育背景（学校、专业等）。

适用于DNA分析的质量体系应当每年进行审查并记录在案。

质量管理程序应当规定并记录所有管理、执行或验证影响DNA分析有效性人员的职责、权限和相互关系，

⁵ Extra information can be found in the ENFSI Quality Assurance Programme for DNA Laboratories - www.enfsi.eu

6 参考文献

1. United Nations Office on Drugs and Crime. 2011. Staff skill requirements and equipment recommendations for forensic science laboratories. United Nations Office on Drugs and Crime Publication ST/NAR/2 Rev.1. http://www.unodc.org/documents/scientific/Ebook_STNAR_02Rev1_E.pdf (accessed October 6, 2014).
2. INTERPOL. 2009. INTERPOL Handbook on DNA Data Exchange and Practice: recommendations from the INTERPOL DNA Monitoring Expert Group. Second Ed. <http://www.interpol.int/content/download/8993/66934/version/6/file/HandbookPublic2009.pdf> (accessed October 6, 2014).
3. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. 2010. SWGDAM Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories. <http://www.fbi.gov/about-us/lab/biometric-analysis/codis/swgdam.pdf> (accessed October 6, 2014).
4. International Society for Forensic Genetics. 2014. International Society for Forensic Genetics Website. <http://www.isfg.org> (accessed October 6, 2014).
5. Federal Bureau of Investigation. 2020. Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories. <https://www.fbi.gov/file-repository/quality-assurance-standards-for-forensic-dna-testing-laboratories.pdf/view> (accessed November 18, 2020).
6. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. 2014. SWGDAM Interpretation Guidelines for Y-Chromosome STR Typing by Forensic DNA Laboratories. http://swgdam.org/SWGDAM_YSTR_Guidelines_APPROVED_01092014_v_02112014_FINAL.pdf (accessed October 6, 2014).
7. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. 2019. Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Analysis by Forensic DNA Testing Laboratories. https://1ecb9588-ea6f-4feb-971a-73265dbf079c.filesusr.com/ugd/4344b0_f61de6abf3b94c52b28139bff600ae98.pdf (accessed November 18, 2020).
8. Interpol. 2015. INTERPOL Best Practice Principles: Recommendations for the Establishment of a National DNA Database. Lyon, France: INTERPOL.
9. European Network of Forensic Science Institutes. 2017. ENFSI DNA Database Management. Review and Recommendations. <https://enfsi.eu/wp-content/uploads/2017/09/DNA-databasemanagement-review-and-recommendations-april-2017.pdf> (accessed November 18, 2020).

IFSA MEMBERS



STRATEGIC PARTNERS





联系我们:

国际法庭科学战略联盟: <http://www.ifsa-forensics.org>

