

[Stampa l'articolo](#) | [Chiudi](#)

## **Criteri di inserimento dei profili genetici in banca dati**

di Dott.ssa **Giuseppina Siligato** **Biologo forense**

Il DPR 87 del 7 aprile 2016 (GU n. 122 del 26 maggio 2016) ha emanato il Regolamento di attuazione ai sensi dell'art.16 della legge n.85 del 30 giugno 2009, che disciplina l'istituzione e il funzionamento della Banca dati del DNA e del Laboratorio centrale per la Banca dati Nazionale del DNA, entrambi istituiti in seguito all'adesione della Repubblica Italiana al Trattato di Prum (conclusosi il 27 maggio 2005 ed al quale successivamente l'Italia ha prestato adesione con la legge n.85) relativo alla collaborazione tra gli Stati membri dell'Unione Europea, con lo scopo di contrastare il terrorismo, la criminalità transfrontaliera e la migrazione illegale.

L'art.10 della Sez. IV del Capo II, individua i criteri per l'inserimento ed il raffronto dei profili del DNA specificando, secondo quanto indicato nell'art.3 del Regolamento, due livelli:

1) un primo livello per l'inserimento dei profili di DNA a partire da un numero di loci pari a 7 e con una "determinata qualità" che verrà utilizzato a livello nazionale ai fini investigativi;

2) un secondo livello in cui potranno essere inseriti solo i profili di DNA che presentano un numero di loci uguale o superiore a dieci: questi ultimi dovranno essere ottenuti applicando metodi accreditati con la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025 e saranno gli unici profili utilizzati a livello internazionale per la collaborazione transfrontaliera. La condizione necessaria per poter inserire i profili di DNA nella Banca dati, è che i laboratori di genetica forense delle Forze di Polizia e delle istituzioni con elevata specializzazione, siano accreditati secondo la ISO/IEC 17025 (UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005).

La legge n.85 prevede l'inserimento nel database forense dei profili di DNA estrapolati da fonti diverse:

- da tracce repertate sulla scena del crimine;
- da persone sospettate, indagate o in arresto per un reato previste dall'art.9;
- da vittime di un reato;
- da persone scomparse e/o dei loro familiari.

Un profilo genetico come identificazione personale, costituisce pertanto uno strumento analitico, utilizzato ai fini comparativi e potrà, in base al numero dei loci ottenuti, essere utilizzato come strumento investigativo oppure diventare un prezioso strumento di identificazione.

Cos'è un profilo genetico?

Ogni individuo presenta nel proprio DNA nucleare un codice specifico che definisce la

propria identità genetica. Infatti, ad eccezione dei gemelli omozigoti i cui DNA sono perfettamente identici, il profilo genetico di ogni individuo è unico.

Per caratterizzare un individuo o una traccia di DNA presente su un oggetto proveniente dalla scena di un crimine, si analizzano alcune regioni di DNA che presentano particolare variabilità nella popolazione e che si definiscono pertanto polimorfiche.

Dal sequenziamento del Genoma umano è emerso che il 99,7% di questo è identico in tutti gli individui e non varia, mentre una piccola parte, pari pertanto allo 0,3%, mostra variabilità: queste differenze, meglio definite con il termine di polimorfismi del DNA(a), non sono altro che sequenze variabili tra le popolazioni e tra gli individui. I polimorfismi maggiormente utilizzati nelle indagini genetico-forensi sono i microsatelliti o marcatori STRs, meglio definiti polimorfismi di lunghezza, in grado di fornire un elevato potere di discriminazione legato al numero delle forme alleliche e alla loro distribuzione nella popolazione. (John M. Butler- Fundamentals of Forensic DNA Typing; Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation)

I marcatori STRs (Short Tandem Repeats) o LOCI, sono corte sequenze di 2 - 6 nucleotidi ripetuti in tandem dove l'elemento variabile è dato dal numero di volte in cui è presente l'unità ripetuta che determina la differenza tra un individuo ed un altro e sta alla base dell'identificazione umana. La quantificazione del numero di unità ripetute a tutti i loci analizzati, determina il genotipo di un individuo (profilo genetico) o di una traccia, attraverso un processo analitico chiamato tipizzazione, graficamente rappresentato con un elettroferogramma .

I kit commerciali validati per uso forense attualmente disponibili per l'analisi genetica, permettono di determinare il genotipo a 21-22 loci, generando un profilo, costituito dall'insieme degli alleli rilevati per ciascun marcatore sottoposto ad indagine, unico ed irripetibile per ciascun individuo.

L'identificazione di un soggetto avviene pertanto attraverso la tipizzazione dei marcatori STRs e determina la probabilità con la quale una traccia di DNA recuperato dalla scena del crimine appartenga ad un determinato individuo.

Un profilo di DNA consente di identificare e distinguere, su basi statistiche, i singoli individui all'interno della popolazione di riferimento e questa probabilità si esprime, mediante la valutazione della Random Match Probability (b) ottenuta attraverso la conversione del profilo genetico in frequenze alleliche (frequenze stabilite attraverso studi di popolazione) che permettono pertanto di caratterizzarlo statisticamente.

Un profilo di DNA si definisce "Profilo completo" quando genera genotipi a tutti i loci sottoposti ad indagine, ma l'elemento che lo rende acquisibile è di fatto la sua rilevanza statistica che dipende non solo dal n. dei loci interpretati, ma anche dalla frequenza degli alleli nella popolazione di riferimento. Un profilo di DNA ottenuto con l'analisi di 13 loci STRs fornisce una RMP media pari a circa 1 su un trilione nell'ambito di individui scelti a caso nella popolazione. (John M. Butler- Fundamentals of Forensic DNA Typing; Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation).

(a) Queste variabilità possono essere meglio definite mediante il concetto di polimorfismo: una sequenza del DNA viene definita polimorfica quando sono presenti almeno due forme alleliche nella popolazione di riferimento, delle quali la meno frequente è presente con una frequenza maggiore o uguale all'1%.

(b) La Random Match Probability (RMP) stima la frequenza di un profilo genetico nella popolazione ossia la rarità di un set di alleli, esprimendo quanto quel profilo sia unico ed identificativo.

L'analisi del DNA, quale tecnica per l'identificazione personale, grazie ad accordi

internazionali sull'uniformità dei criteri e protocolli di analisi, permette di comparare i profili genetici estrapolati da laboratori di Paesi diversi. Allo scopo sono stati stabiliti criteri unici per l'inserimento dei profili genetici in databases nazionali dopo aver uniformato le metodologie di analisi, il tipo ed il numero dei loci ed applicato un linguaggio interpretativo unico.

Queste decisioni sono state stabilite a livello Europeo e formalizzate dall' European Network of Forensic Science Institute (ENFSI) (c) nel documento "DNA-DATABASE MANAGEMENT Review and Recommendations" pubblicato ad Aprile del 2015 (5); questo documento recepisce le risoluzioni del Concilio Europeo 2001/C 187/01 e 2009/C 296/01, in cui si invitano tutti gli Stati Europei ad utilizzare i loci dell'European Standard Set (ESS) (d) come presupposto minimo per rendere possibile il confronto internazionale fra i profili del DNA.

Fino al 2009 l'ESS conteneva solo 7 loci, anche l'INTERPOL Standard Set of loci (ISSOL) conteneva gli stessi loci più l'amelogenina per la determinazione del sesso. Questo limitato numero di loci era sufficiente per scambi occasionali di profili del DNA tra i vari Paesi. Quando è necessario uno scambio massivo di profili del DNA, l'utilizzo di 7 loci risulta non adeguato, perché la possibilità di trovare match casuali diviene significativa e rende inefficace il processo di ricerca del profilo nel Database.

A fronte di questo l'ENFSI ha raccomandato di incrementare i loci dell'ESS con altri 5 prevedendo così l'utilizzo di 12 loci per la definizione di un profilo genetico: il Concilio dell'Unione Europea adotta a tutt'oggi questa raccomandazione e le aziende produttrici di nuovi kit ad uso forense, hanno validato allo scopo nuovi sistemi. (DNA-DATABASE MANAGEMENT REVIEW AND RECOMMENDATIONS - ENFSI DNA Working Group April 2015).

L'FBI negli Stati Uniti ha recentemente deciso l'incremento del numero dei loci del CODIS (Combined DNA Index System), attualmente 13, per l'inclusione di un "profilo reference" nel database nazionale, mentre l'Inghilterra ha deciso di operare con soli 10 loci (NDNAD - National DNA database).

L'Italia per l'inserimento dei profili di DNA nella Banca dati centrale, ha stabilito di utilizzare 10 loci il cui valore di R.M.P. (Random Match Probability) consente di operare in termini identificativi.

Inoltre la norma stabilisce l'inserimento al secondo livello della Banca Dati della sola componente maggioritaria relativamente ai profili di DNA costituiti da una commistione di più profili solo nel caso in cui è possibile distinguere quantitativamente la componente maggioritaria da q

componente deve essere riconducibile ad un individuo, quantitativamente la componente maggioritaria deve essere superiore di almeno 3 volte la componente minoritaria ed il risultato deve essere confermato da un doppio esperimento con due kit commerciali in cui si devono sovrapporre un numero non inferiore a dieci loci.

(c) ENFSI organismo tecnico di riferimento europeo, sia della Comunità Europea, sia del Gruppo di Cooperazione Europeo delle Polizie nonché dell'Europol e dell'Interpol relativamente alla definizione degli standard tecnici utilizzati dai Laboratori di Polizia Scientifica.

(d) ESS (European Standard Set) pannello di marcatori (loci) utilizzato in Europa.

Il set di marcatori che saranno utilizzati per la tipizzazione del DNA nucleare attraverso i Kit commerciali "GlobalFiler™ PCR Amplification Kit" e "PowerPlex® Fusion" per la contemporanea analisi rispettivamente di 21 e 22 marcatori autosomici, permetterà di aumentare il potere di identificazione e confronto con quanto ottenibile da un reperto biologico proveniente dalla scena del crimine. La probabilità di

identificazione (PI) che si ottiene con i kit citati è circa  $2 \times 10^{-32}$  (2 su 100 000 000 000 000 000 000 000 000) e permette di poter identificare, con assoluta certezza, anche i casi dove i soggetti presentano vincoli di parentela.

In Italia il regolamento di attuazione dell'art.5 della legge n.85 ha come obiettivo quello di migliorare la qualità delle analisi del DNA svolte nell'ambito di procedimenti penali sull'intero territorio nazionale. Allo scopo è stato introdotto l'obbligo, per i laboratori che effettuano l'analisi per l'autorità giudiziaria, di utilizzare i metodi di prova accreditati secondo la norma internazionale ISO/IEC 17025, uniformando così, di fatto, le attività di valutazione e gestione dei profili genetici.

La ISO/IEC 17025, come recepimento da parte dell'Ente di normazione italiano, UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura" è adottata da tutti i Paesi europei: il passaggio ad un sistema che utilizza tale norma, consente di sviluppare una più efficace cooperazione di polizia e di mettere a disposizione un dato forense che non è contestabile in sede giudiziaria.

Le finalità della ISO/IEC 17025, sono principalmente quelle di promuovere l'innalzamento del livello professionale dei laboratori attraverso la cooperazione fra laboratori ed altri Organismi, agevolare lo scambio di informazioni e di esperienze e di armonizzare norme e procedure.

La Norma è strutturata in due sezioni principali relative a requisiti organizzativi e gestionali che rafforzano la capacità di gestione sistemica dei processi ed una sezione relativa ai requisiti di competenza tecnica che potenziano la capacità del laboratorio di assicurare la validità dei risultati forniti.

I requisiti tecnici sono relativi agli aspetti di formazione del personale, luogo di lavoro e condizioni ambientali; metodi di prova e loro validazione; alle apparecchiature e riferibilità delle misure; agli aspetti legati al campionamento e alla manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova; all'assicurazione della qualità dei risultati di prova ed infine alla loro presentazione.

L'emissione di un profilo genetico, a fronte della implementazione di un sistema che risponda ai requisiti della ISO/IEC 17025, avverrà pertanto, a differenza di quanto precedentemente attuato, con una verifica di Parte Terza (in Italia rappresentata da ACCREDIA) a garanzia delle prassi adottate nei processi gestionali e tecnici. Questi ultimi, particolarmente rilevanti in quanto direttamente correlati ai metodi scelti ed alla loro applicazione, sono messi in atto nel rispetto di criteri accettati dalla Comunità scientifica internazionale, formalizzati nelle linee guida recepite in ambito accreditamento (ILAC G19) e linee guida emesse da Enti ed Organizzazioni scientifiche di settore (Ge.F.I. a livello nazionale italiano, ENFSI e SWGDAM che rappresentano l'approccio condiviso a livello mondiale).

Il fulcro dell'accreditamento è quindi individuabile nel metodo di prova, processo che parte dal campione oggetto di analisi e si completa con l'estrapolazione del profilo genetico. Questo processo prevede che tutte le fasi della prova di tipizzazione del DNA siano descritte e documentate nel sistema qualità del Laboratorio ed abbiano superato complesse verifiche per la validazione, basate su tecniche statistiche: questo modus operandi fa sì che l'analisi risulti inattaccabile sia dal punto di vista tecnico sia procedurale.

L'inserimento in una Banca dati nazionale di profili di DNA estrapolati da reperti acquisiti nel corso di procedimenti penali, consentirà, come dimostrato dagli Stati Membri che utilizzano già questo strumento, di incrementare il potere di identificazione degli autori di reati, correlando eventi delittuosi avvenuti in luoghi e tempi differenti, soprattutto reati a carattere seriale (furti, rapine e violenze sessuali) o

fornire ulteriori elementi investigativi.

Tale prassi può inoltre contribuire a sciogliere casi giudiziari mai risolti (Cold case) ed essere, in considerazione dell'attuale situazione emergente relativa a clandestini, soggetti non identificati, atti terroristici, uno strumento prezioso di indagine.

---

P.I. 00777910159 - © Copyright Il Sole 24 Ore - Tutti i diritti riservati