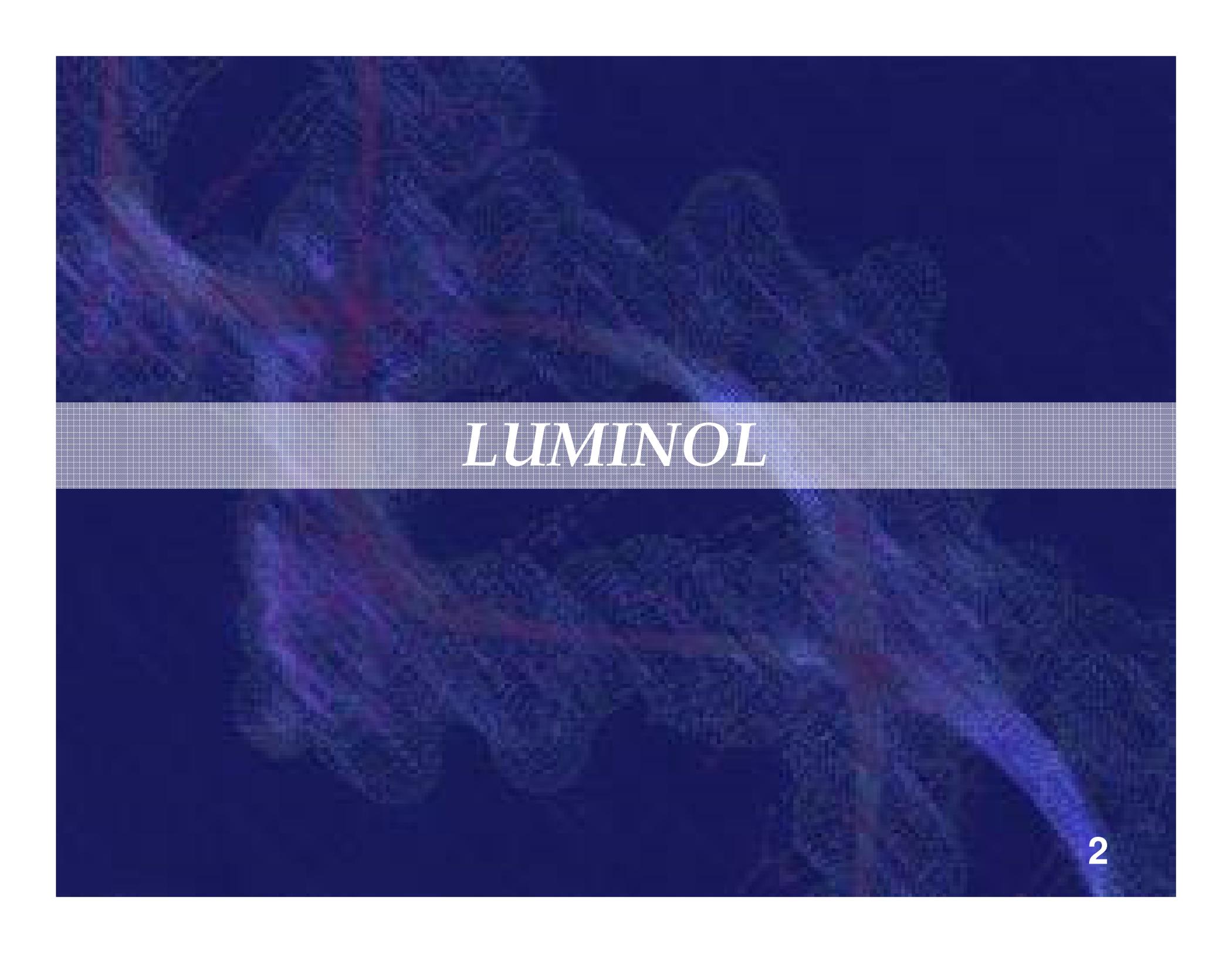




Università degli Studi di Torino  
Dipartimento di Anatomia, Farmacologia e Medicina Legale  
Laboratorio di Scienze Criminalistiche

# *Genetica Forense*

*Sarah Gino*



# *LUMINOL*

## **A study of common interferences with the forensic luminol test for blood**

**T. I. Quickenden\* and J. I. Creamer**

Department of Chemistry, The University of Western Australia, 35 Stirling Highway, Crawley, WA 6009, Australia

*Received 5 January 2001; accepted 14 March 2001*

## **A comprehensive experimental study of industrial, domestic and environmental interferences with the forensic luminol test for blood**

**J. I. Creamer,<sup>1,2</sup> T. I. Quickenden,<sup>1\*</sup> M. V. Apanah,<sup>1</sup> K. A. Kerr<sup>1</sup> and P. Robertson<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Chemistry, School of Biomedical and Chemical Sciences, University of Western Australia, 35 Stirling Highway, Crawley, WA 6009, Australia

<sup>2</sup>Centre for Forensic Science, University of Western Australia, 35 Stirling Highway, Crawley, WA 6009, Australia

*Received 8 October 2002; revised 31 January 2003; accepted 6 February 2003*

# Risultati analitici complessivi *riepilogo test del luminol*

- **Stanza ROMANELLI:** 2 campionature
  - profilo VITTIMA
  - profilo misto VITTIMA+KNOX
- **Stanza KNOX:** 3 campionature → 3 profili Knox
- **Corridoio:** 4 campionature → 1 profilo misto VITTIMA+KNOX
- **Soggiorno-angolo cottura:** negativo al test
- **Bagno grande:** negativo al test

# Risultati analitici complessivi test del luminol



REPERTO e TRACCE	UBICAZIONE TRACCIA	RISULTATO GENETICO
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L1</b> (stanza Romanelli) Rep.176/A</p>	<p><i>diffusa e intensa fluorescenza nella zona centrale-laterale sx</i></p>	VITTIMA
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L2</b> (stanza Romanelli) Rep.177/A</p>	<p><i>diffusa e intensa fluorescenza nella zona centrale-laterale sx</i></p>	VITTIMA + KNOX
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L3</b> (stanza Knox) Rep.178/A</p>	<p><i>impronta di piede umano nei pressi della finestra, parete ant., sotto al termosifone</i></p>	KNOX
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L4</b> (stanza Knox) Rep.179/A</p>	<p><i>impronta di piede umano nei pressi della finestra, parete ant., sotto al termosifone</i></p>	KNOX
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L5</b> (stanza Knox) Rep.180/A</p>	<p><i>impronta di piede umano nei pressi della porta orientata in uscita</i></p>	KNOX

# Risultati analitici complessivi *test del luminol*

REPERTO e TRACCE	TIPOLOGIA TRACCIA	RISULTATO GENETICO
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L6</b> (corridoio) <b>Rep.181/A</b></p>	<p><i>impronta piede umano dx nei pressi della porta stanza KNOX direz. uscita corridoio</i></p>	<b>NEGATIVO</b>
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L7</b> (corridoio) <b>Rep.182/A</b></p>	<p><i>impronta piede umano dx nei pressi della porta stanza KNOX direz. uscita corridoio</i></p>	<b>NEGATIVO</b>
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L8</b> (corridoio) <b>Rep.183/A</b></p>	<p><i>impronta di scarpa direz.uscita corridoio nei pressi del montante che separa le stanze KNOX- VITTIMA</i></p>	<b>VITTIMA + KNOX</b>
<p>● Camp. di pres. sost. em. denominata <b>L9</b> (corridoio) <b>Rep.184/A</b></p>	<p><i>impronta piede umano davanti alla stanza della vittima direz. ingresso stanza</i></p>	<b>NEGATIVO</b>

# Risultati analitici complessivi

Appartamento in uso a **SOLLECITO Raffaele**

Sopralluogo tecnico eseguito in data 13 Novembre 2007

<b>REPERTO e TRACCE</b>	<b>TIPOLOGIA TRACCIA</b>	<b>RISULTATO GENETICO</b>
<b><i>Cucina-ingresso</i></b>		
Spugnetta di colore azzurro Rep.90/A	sostanza ematica <i>neg</i>	SOLLECITO
Sifone sotto al lavello Rep. 91/A/B	sostanza ematica <i>neg</i>	<i>NEGATIVO</i>
<b>REPERTO e TRACCE</b>	<b>TIPOLOGIA TRACCIA</b>	<b>RISULTATO GENETICO</b>
<b><i>Camera da letto</i></b>		
Maniglia esterna porta Rep. 92/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>
Camp. pavimento Rep.93/A	presunta sostanza ematica	SOLLECITO + KNOX (parziale)
Camp. pavimento Rep.94/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>



# Risultati analitici complessivi

Appartamento in uso a **SOLLECITO Raffaele**

Sopralluogo tecnico eseguito in data 13 Novembre 2007

<b>REPERTO e TRACCE</b> <i>stanza da bagno</i>	<b>TIPOLOGIA TRACCIA</b> <i>evidenziazione al luminol</i>	<b>RISULTATO</b> <b>GENETICO</b>
Camp. pavimento Rep.95/A	presunta sostanza ematica	SOLLECITO + KNOX
Camp. pavimento Rep.96/A	presunta sostanza ematica	KNOX
Lato inf. tappetino doccia Rep.97/A	presunta sostanza ematica	NEGATIVO
Piatto doccia Rep.98/A	presunta sostanza ematica	NEGATIVO
Maniglia interna porta Rep.99/A	presunta sostanza ematica	NEGATIVO
Maniglia esterna porta Rep.100/A	presunta sostanza ematica	NEGATIVO

# Risultati analitici complessivi

Appartamento in uso a **SOLLECITO Raffaele**

Sopralluogo tecnico eseguito in data 13 Novembre 2007

<b>REPERTO e TRACCE</b> <b>Cucina-ingresso</b>	<b>TIPOLOGIA TRACCIA</b> <b>evidenziazione al luminol</b>	<b>RISULTATO</b> <b>GENETICO</b>
Tappetino superf. superiore Rep.101/A	presunta sostanza ematica	Individuo di sesso maschile UOMO #6
Camp. pavimento Rep.102/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>
Camp. pavimento Rep.103/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>
Camp. pavimento Rep.104/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>
Camp. pavimento Rep.105/A	presunta sostanza ematica	<i>NEGATIVO</i>

# CONSIDERAZIONI SUL LUMINOL

Il luminol mette in evidenza tracce latenti che potrebbero essere di sangue; il sospetto (che effettivamente di sangue si tratti) deve sempre essere confermato usando test specifici per questo tipo di fluido biologico.

Le tracce identificate come reperto 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183 e 184 sono positive al luminol. Esse potrebbero, perciò, contenere sangue. Se, però, consideriamo che, come abbiamo prima sottolineato, molti altri materiali diversi dal sangue possono fornire dei "falsi positivi" è chiaro che considerare quelle tracce come di sangue è del tutto arbitrario e fuorviante.

Si può soltanto dire, se in modo scientifico si affronta la questione, che si tratta di tracce luminol - positive contenenti, alcune, materiale genetico umano; null'altro, mancando una conferma della loro natura ematica eseguita con test specifico.

# *CONSIDERAZIONI* SUL LUMINOL

Inoltre le tracce, sono state repertate su di un pavimento, ove si può trovare materiale trasportato da chiunque e da luoghi diversi; esse non sono in alcun modo databili.

Le medesime tracce qualora abbiano fornito dei profili genetici sono caratterizzate dalla presenza di extra picchi che non sono stati interpretati: può trattarsi di commistione di DNA proveniente da diverse persone o di degradazione di parte del materiale biologico raccolto.



# *CONCLUSIONI* SUL LUMINOL

L'interesse di queste tracce ai fini della comprensione dell'accadimento dei fatti è praticamente nullo



*REPERTO 36: IL COLTELLO*

# Approfondimento

## alcuni risultati biologici più significativi

### Rep.36: coltello lungo 31 cm con manico nero



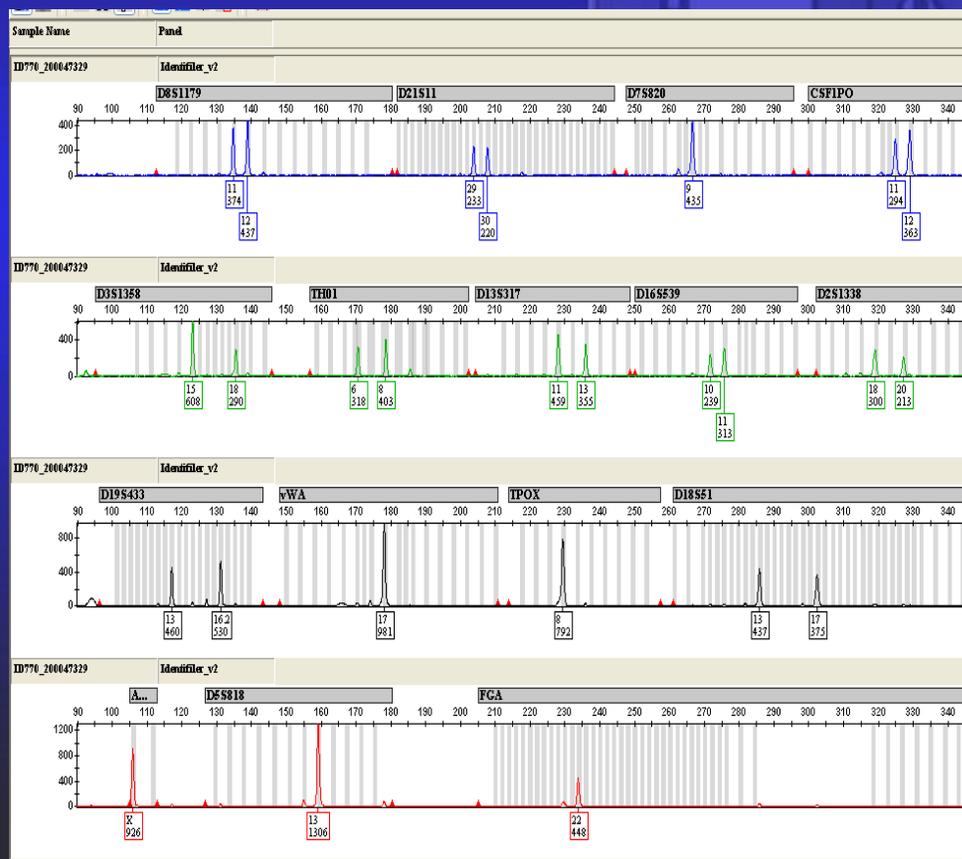
# Approfondimento

alcuni risultati biologici più significativi

**Rep.36 tracce A/B: coltello lungo 31 cm con manico**

**nero**

(tracce A/B: negative al test per *sangue umano*)



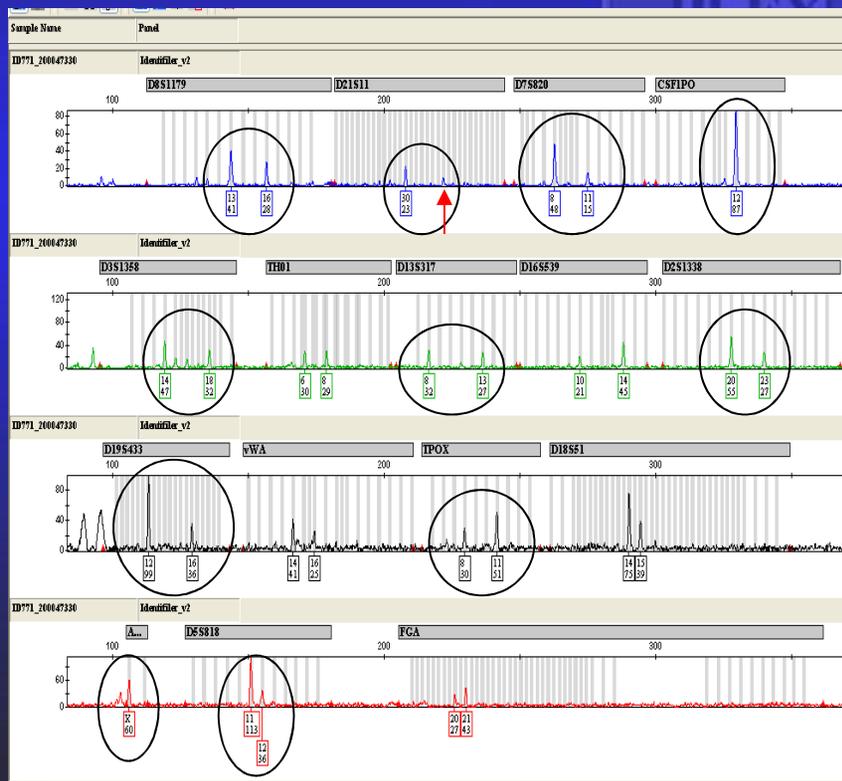
traccia A: profilo **KNOX**

# Approfondimento alcuni risultati biologici più significativi

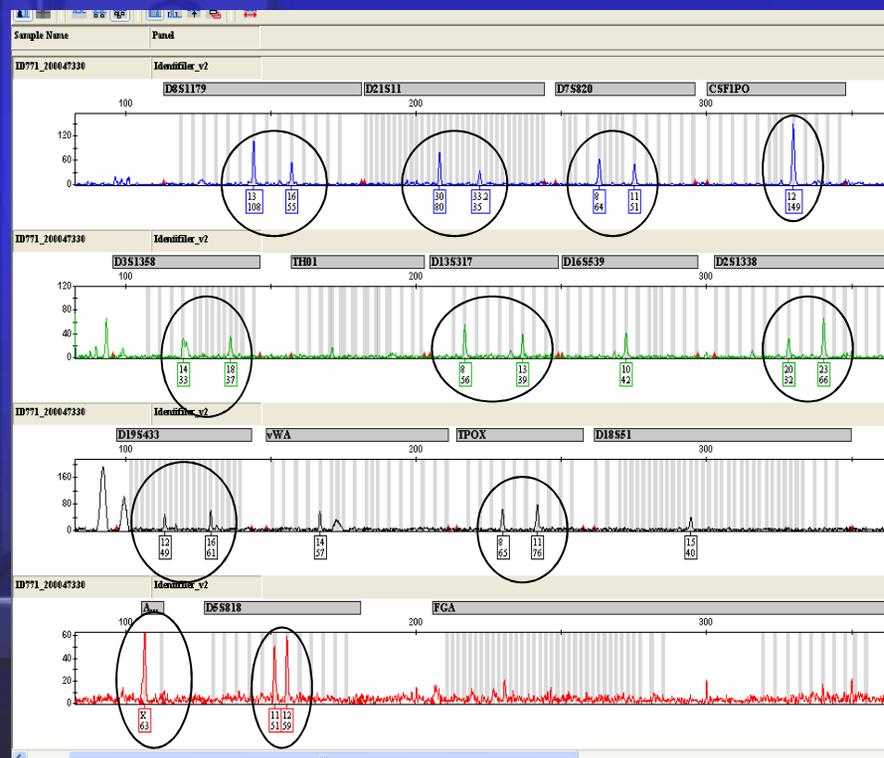
**Rep.36 traccia B: coltello lungo 31 cm con manico nero**

**Loci genici confermati nelle due corse elettroforetiche**

**I° corsa elettroforetica**



**II° corsa elettroforetica**



## *CONSIDERAZIONI SUL CAMPIONE 36B*

L'analisi degli elettroferogrammi riferiti alle due diverse corse elettroforetiche del medesimo amplificato del DNA estratto dal prelievo B eseguito in corrispondenza delle graffiature descritte dalla dott.ssa Stefanoni evidenzia la presenza di picchi sempre inferiori a 100 RFU (talvolta anche sotto i 50 RFU). Di fronte alle loro dimensioni bisogna chiedersi se ci si trovi di fronte a campioni contenenti esigue quantità di substrato genetico (Low Copy Number DNA - LCN DNA) e/o alla degradazione e modificazione del DNA stesso ad opera di fenomeni post-mortali o agenti atmosferici.

## CONSIDERAZIONI SUL CAMPIONE 36B

La presenza di esigue quantità di DNA (in letteratura è ben descritta la possibilità di amplificare e tipizzare con successo anche quantità di DNA <100 pg), deve mettere in guardia l'operatore, in quanto è possibile che compaiano, durante l'amplificazione, degli artefatti, quali l'amplificazione stocastica di solo uno dei due alleli di un eterozigote (*allele dropout*), lo sbilanciamento allelico (*allele imbalance*), la presenza di *stutter bands* che originano da un errore dell'enzima Taq polimerasi che crea artificialmente un'unità ripetuta inferiore rispetto all'allele associato.

# *CONSIDERAZIONI* SU LCN DNA

Quando si lavora su esigue quantità di materiale genetico è necessario essere molto cauti nell'interpretazione dei risultati.

Esistono, in proposito, studi che hanno proposto delle linee guida per la corretta interpretazione dei profili genetici da esigue quantità di materiale genetico.

# CONSIDERAZIONI SU LCN DNA

Gill P., Whitaker J., Flaxman C., Brown N., Buckleton J., "An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA", *Forensic Science International*, 112:17-40, 2000.

In questo lavoro gli autori suggeriscono i seguenti criteri per l'interpretazione di LCN DNA:

- l'amplificazione degli estratti deve in questi casi essere condotta almeno in duplicato;
- un determinato allele dovrebbe essere riportato nel profilo genetico finale unicamente se identificato almeno in due esperimenti differenti;
- è sconsigliabile la concentrazione del campione.

# CONSIDERAZIONI SU LCN DNA

Budowle B., Hobson D.L., Smerick J.B., Smith J.A.L., "Low copy number - consideration and caution" (2001) Twelfth International Symposium on Human Identification. Promega Corporation, Madison, Wisconsin, 2001

In questo lavoro gli autori ribadiscono:

- è sconsigliabile la concentrazione del campione, viceversa è preferibile diluire il campione

... e sottolineano:

- la contaminazione in questo tipo di analisi è da temere in quanto può determinare la comparsa di alleli estranei alla traccia;

- a causa dell'aumentata sensibilità, si devono considerare i contatti casuali. Se la vittima e il sospettato hanno avuto dei contatti precedenti, il risultato può non avere alcuna correlazione con il caso trattato

# CONSIDERAZIONI SU LCN DNA

Tagliabracci A., Domenici R., Pascali V., Pesaresi M., "Indagini di identificazione personale", *Linee guida metodologico-accertative criteriologico-valutative Indagini genetico-forensi di paternità e identificazione personale*, Piccin Nuova Libreria, Padova, 2007, pp. 23-37.

In questo lavoro gli autori suggeriscono i seguenti criteri:

- **amplificare oltre la traccia anche il substrato in diversi punti, per svelare la presenza di eventuali tracce miste;**
- **duplicare le analisi piuttosto che concentrare i campioni (questo solitamente non permette di portare il DNA sopra la soglia stocastica di amplificazione) per individuare la presenza di alleli spuri;**
- **adottare come valore soglia per l'interpretazione dei picchi valori di RFU solidi, che possono variare da laboratorio a laboratorio, comunque non inferiori a 50 RFU.**

# *CONSIDERAZIONI SU LCN DNA*

Recenti considerazioni su LCN DNA:

Superior Court of State of California for county of Los Angeles

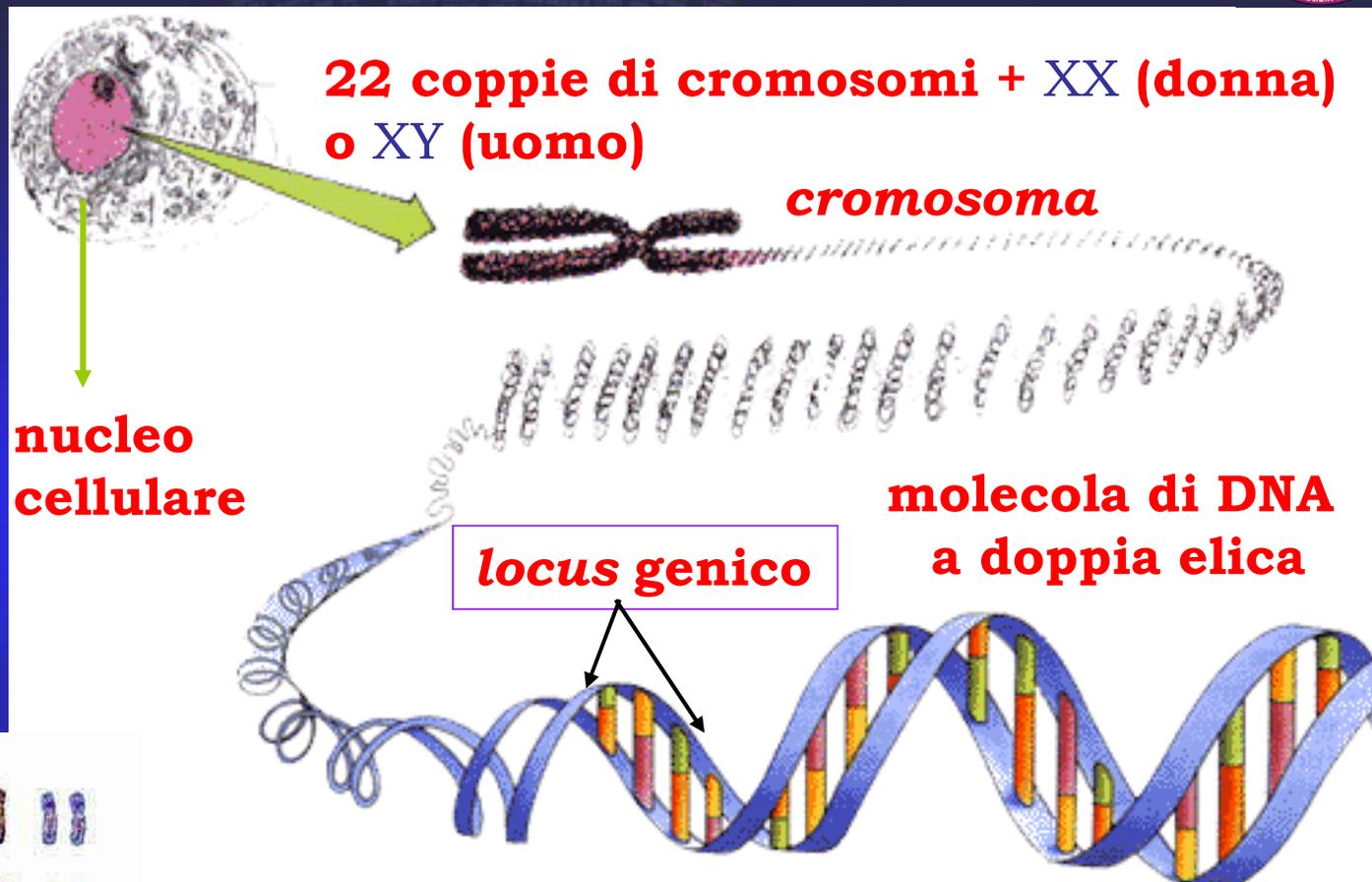
The people of the State of California, Plaintiff vs. Hector Hespino , March 18, 2009 :

The court "... So I think based on the evidence before the court, that there is no general acceptance in the scientific community as to the procedure to be used once you're dealing with low copy number sample, there's no general acceptance as how to interpret the results that you would get when you begin with a low copy number sample, and there's no general acceptance as to the statistics that can be applied to those results. So for all those reasons, the court finds that the results in this test are not admissible ..."

The background of the slide is a dark blue image of a human spine, viewed from the side. A white grid pattern is overlaid on the image, particularly concentrated around the text area. The text 'ACCERTAMENTI UTILI' is written in a white, italicized serif font across the center of the grid.

*ACCERTAMENTI UTILI*

# Il Dna nella cellula



**22 coppie + XY**



# Il DNA mitocondriale - *mtDNA*

- dimensioni ridotte rispetto DNA nucleare (16.569 vs  $3 \times 10^9$  bp)
- possibilità di tipizzare cellule prive di nucleo



- presente in un numero di copie maggiore rispetto al DNA genomico con la possibilità di tipizzare campioni contenenti piccolissime quantità di DNA nucleare
- polimorfismi di sequenza e di inserzione/delezione di una o più basi concentrati nella regione definita "D-loop"
- trasmesso dalla madre alla prole con possibilità di ricostruire rapporti genealogici tra individui imparentati per linea materna

# Risultati analitici complessivi

## 6. stanza ROMANELLI Filomena

REPERTO e TRACCE	TIPOLOGIA TRACCIA	RISULTATO GENETICO
Formazione pilifera cornice inferiore imposta sx finestra effratta  * Rep.198/A	1 f.p. utile	NEGATIVO
Camp. di pres. sost. em. parte lignea finestra effratta  * Rep.199/A	sostanza ematica <i>neg</i>	NEGATIVO
Grosso sasso e nr.2 frammenti ○ presumib. dello stesso  Rep.169/A	presunte cellule epiteliali di sfaldamento	NEGATIVO

# Risultati analitici complessivi

## 1. prelievi dal corpo della vittima



REPERTO e TRACCE	TIPOLOGIA TRACCIA	RISULTATO GENETICO
● Tamponi vaginali Rep.12 A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /B/C	presunte cellule epiteliali di sfaldamento liquido seminale <i>neg.</i>	VITTIMA:A <sub>1</sub> /B/C GUEDE: B(Y) NEGATIVO:A <sub>2</sub> (Dna e Y)/C(Y)
● Tamponi rettali Rep.13 A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /B/C	presunte cellule epiteliali di sfaldamento liquido seminale <i>neg.</i>	VITTIMA:A <sub>1</sub> /B/C NEGATIVO:A <sub>2</sub> (Dna e Y)/B(Y) C(Y)
● Presunte form. pilif. Rep.14	7 fibre tessili, verosimilmente lana	NEGATIVO
● Prelievi sub-ungueali mano sx Rep.15 A/B/C/D/E	presunte cellule epiteliali di sfaldamento	VITTIMA (A/B/C/D/E)
● Prelievi sub-ungueali mano dx Rep.16 A/B/C/D/E	presunte cellule epiteliali di sfaldamento	VITTIMA (A/B/C/D/E)
● Tampone ematico vittima Rep.21/A	sostanza ematica	VITTIMA

# Risultati analitici complessivi

## 2. stanza della vittima

REPERTO e TRACCE	TIPOLOGIA TRACCIA	RISULTATO GENETICO
● Camp. di pres. sost. em. maniglia interna porta <i>Rep.126/A</i>	sostanza ematica	VITTIMA
● Camp. di pres. sost. em. lato interno porta in prossimità serratura <i>Rep.127/A</i>	sostanza ematica	VITTIMA
● Camp. di pres. sost. em. battente porta bocchetta serratura <i>Rep.128/A</i>	sostanza ematica	VITTIMA
● Camp. di pres. sost. em. spalla sx. int. armadio III°inf. <i>Rep.129/A</i>	sostanza ematica	VITTIMA