Stato Avanzamento Lavori (SAL)

Stato Avanzamento Lavori (SAL)

SERVIZIO POLIZIA SCIENTIFICA
DIV.III
AREA INDAGINI BIOLOGICHE

FUNZIONARIO DTP STEFANONI

N. Fascicolo / N. Trattazione	Cod. BIO	Inizio Oper.	Isp./Per. Coordinatore	Unità Operativa	In Comune con	Num. Reperti	Data alla Scrittura
28669-01	100010747	12/11/2007			9D-BA (Balistica),9D-E (Impronte Latenti)	229	12/06/2008

Elenco Reperti

Ubicazione colli
3C; 3B 2 plichi; box 2 H 3 plichi; box

Codice Reperto	N. Tracce	Descrizione Reperto
L10747-01-000	1	presunta S.E. prelevata dalla finestra lato esterno

Elenco Tracce

Codice Traccia	Codice Sample ID	Tipo di Traccia	Descrizione Traccia	Quantità Estratto	Ubicazione Estratto
L10747-01-000-01	200047029	PRESUNTA TRACCIA EMATICA	PRESUNTA TRACCIA EMATICA	50	260/D4

TETRAMETILBENZIDINA: POSITIVO
LUMINOL
CROMATOGRAFIA GEL SILIC
IMMUNOELETTROSINERESI
METODICHE IMMUNOLOGICH
SPECIE ANIMALE: GATTO

Data 1^ Estraz.	Data 2^ Estraz.	Data 3^ Estraz.	Data 1^ Quantif.	Data 2^ Quantif.	Data 3^ Quantif.	Data 1^ Amplif.	Kit Commerciale	Data 2^ Amplif.	Kit Commerciale	Data 3^ Amplif.	Kit Commerciale	N. Run 1 Strumento	N. Run 2 Strumento	N. Run 3 Strumento
05-11-07	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?

Quantizzazione del DNA estratto

Fluorimetro Qubit™ → **Nella Relazione Tecnica della PS non è mai riportata questa tecnica di quantizzazione**

Se possibile accertarsi che la temperatura del laboratorio sia 20-22 oC
Lasciare circa 15' fuori dal frigorifero il kit di analisi.

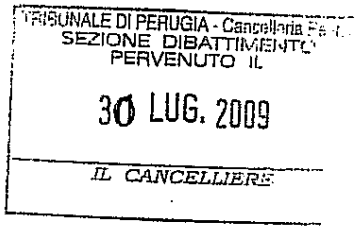
Kit: **dsDNA HS** "INVITROGEN"

Preparare una **soluzione madre**:
per ciascun campione: 199 µl di Buffer e 1 µl di reagent

per ciascun **standard** (1 e 2)
190 µl di soluzione madre e 10 µl di standard

per ciascun campione
199 µl di soluzione madre e 1 µl di campione

Vortexare 1-2 '' i campioni da analizzare e incubare 2' a temperatura ambiente



CAMPIONE	VALORE µgr/mL 1 µl	CONCENTRAZIONE CAMPIONE ng/µl
Standard 1	ok	
Standard 2	ok	
1 %47326	Too low	—
2%47327	Too low	—
3%47328	0,57	0,114
4%47329	0,4	0,08
5%47330	Too low	—
6%47331	Too low	—

13 novembre 2007

dsDNA

10 pg/µl - 100 ng/µl

Non specifico per DNA umano

Quantizzazione del DNA estratto

Applied Biosystems

Sequence Detection Systems 1.7

File Name:7700_RUN_NR_569
User:
Date:Ven, 28 dic 2007
Comments:

Plate Type:7700 Single Reporter
PCR Volume:25

TRIBUNALE DI PERUGIA - Cancelleria Penale
SEZIONE DIBATTIMENTO
PERVENUTO IL
30 LUG. 2009
IL CANCELLIERE

Thermal Cycle Conditions

Cycle	Temperature	Time	Repeat	Ramp Time	Auto Increment
Hold		2:00		Auto	
Hold		10:00		Auto	
Cycle	95.00	0:15	50	Auto	
		1:00		Auto	

Non previsto dal manuale

40 secondo il manuale

Standard Curve

Slope: -3.00
Intercept: 27.76
Fit R: 0.99

Threshold: 0.10
Baseline Range: (3 , 15)

Sample Information

Well	Type	Sample Name	Replicate	Ct	Quantity	Std. Dev.	Mean
A1	STND	A1		24.08	1.7e+01	0.00	16.70
A2	STND	A2		24.01	1.7e+01	0.00	16.70
A3	STND	A3		23.92	1.7e+01	0.00	16.70
A4	STND	A4		25.52	5.6e+00	0.00	5.56
A5	STND	A5		25.51	5.6e+00	0.00	5.56
A6	STND	A6		25.44	5.6e+00	0.00	5.56
A7	STND	A7		27.02	1.8e+00	0.00	1.85
A8	STND	A8		27.14	1.8e+00	0.00	1.85
A9	STND	A9		27.04	1.8e+00	0.00	1.85
A10	STND	A10		28.39	6.2e-01	0.00	0.62
A11	STND	A11		28.25	6.2e-01	0.00	0.62
A12	STND	A12		28.46	6.2e-01	0.00	0.62
B1	STND	B1		29.75	2.1e-01	0.00	0.21
B2	STND	B2		29.58	2.1e-01	0.00	0.21
B3	STND	B3		30.13	2.1e-01	0.00	0.21
B4	STND	B4		31.60	6.8e-02	0.00	0.07
B5	STND	B5		31.43	6.8e-02	0.00	0.07
B6	STND	B6		31.42	6.8e-02	0.00	0.07
B7	STND	B7		31.66	2.3e-02	0.00	0.02
B8	STND	B8		32.96	2.3e-02	0.00	0.02
B9	STND	B9		32.71	2.3e-02	0.00	0.02
C1	UNKN	29272-01	2%48906	50.00	2.4e-04	0.00	0.00
C2	UNKN	29272-01	2%48906	50.00	4.1e-05	0.00	0.00
C3	UNKN	29272-01	2%48907	37.24	6.9e-04	0.00	0.00
C4	UNKN	29272-01	2%48907	50.00		0.00	0.00
C5	UNKN	29272-01	2%48908	36.15	1.6e-03	0.00	0.00
C6	UNKN	29272-01	2%48908	36.13	1.6e-03	0.00	0.00
C7	UNKN	21574-01	2%48866	25.08	7.8e+00	0.00	7.83
C8	UNKN	21574-01	2%48866	24.99	8.4e+00	0.00	8.40
C9	UNKN	22381-03	2%48864	50.00		0.00	0.00
C10	UNKN	22381-03	2%48864	50.00		0.00	0.00

Specifico per DNA umano (primati superiori)

No cross-reattività con gatto, cane ed altri organismi

Dalla documentazione prodotta non è possibile ricavare le seguenti informazioni:

- **Composizione del mix di reazione**
- **Quantità di DNA utilizzata per la PCR**
- **Eventuali variazioni di protocollo rispetto al manuale**
- **Eventuali concentrazioni effettuate sul DNA estratto**

Reperti presenti nella Relazione Tecnica NON presenti nel SAL

- Reperto 3
- Reperto 14
- Reperto 29
- Reperto 58
- Reperti 148-151
- Reperti 154-163
- Reperti 203-222

Reperto 165
Reperto 165B

Applied Biosystems — Sequence Detection Systems 1.7

File Name:7700_RUN_NR_570 — Plate Type:7700 Single Reporter
User: — PCR Volume:25
Date:Gio, 3 gen 2008
Comments:

Thermal Cycle Conditions

Well	Type	Sample Name	Replicate
C5	UNKN	28669-01-2%48896	
C6	UNKN	28669-01-2%48896	

Standard Curve

Slope: -2.89 — Threshold: 0.13
Intercept: 28.96 — Baseline Range: (3 , 15)
Fit R: 0.99

Ct	Quantity	Std. Dev.	Mean
31.43	1.4e-01	0.00	0.14
32.02	8.7e-02	0.00	0.09

Sample Information

Well	Type	Sample Name	Replicate	Ct	Quantity	Std. Dev.	Mean
A1	STND	A1		25.40	1.7e+01	0.00	16.70
A2	STND	A2		25.40	1.7e+01	0.00	16.70
A3	STND	A3		25.38	1.7e+01	0.00	16.70
A4	STND	A4		26.89	5.6e+00	0.00	5.56
A5	STND	A5		26.93	5.6e+00	0.00	5.56
A6	STND	A6		27.17	5.6e+00	0.00	5.56
A7	STND	A7		28.15	1.8e+00	0.00	1.85
A8	STND	A8		28.22	1.8e+00	0.00	1.85
A9	STND	A9		28.20	1.8e+00	0.00	1.85
A10	STND	A10		29.38	6.2e-01	0.00	0.62
A11	STND	A11		29.39	6.2e-01	0.00	0.62
A12	STND	A12		29.41	6.2e-01	0.00	0.62
B1	STND	B1		30.74	2.1e-01	0.00	0.21
B2	STND	B2		31.13	2.1e-01	0.00	0.21
B3	STND	B3		30.55	2.1e-01	0.00	0.21
B4	STND	B4		31.98	6.8e-02	0.00	0.07
B5	STND	B5		32.46	6.8e-02	0.00	0.07
B6	STND	B6		32.23	6.8e-02	0.00	0.07
B7	STND	B7		34.16	2.3e-02	0.00	0.02
B8	STND	B8		33.78	2.3e-02	0.00	0.02
B9	STND	B9		33.76	2.3e-02	0.00	0.02
C1	UNKN	28669-01-2%48894		50.00	9.4e-08	0.00	0.00
C2	UNKN	28669-01-2%48894		37.12	1.5e-03	0.00	0.00
C3	UNKN	28669-01-2%48895		50.00		0.00	0.00
C4	UNKN	28669-01-2%48895		50.00		0.00	0.00
C5	UNKN	28669-01-2%48896		31.43	1.4e-01	0.00	0.14
C6	UNKN	28669-01-2%48896		32.02	8.7e-02	0.00	0.09
C7	UNKN	28669-01-2%48897		31.04	1.9e-01	0.00	0.19
C8	UNKN	28669-01-2%48897		30.80	2.3e-01	0.00	0.23
C9	UNKN	28669-01-2%48898		31.22	1.6e-01	0.00	0.18
C10	UNKN	28669-01-2%48898		30.76	2.4e-01	0.00	0.24

$$\frac{0.14+0.09}{2} = 115 \text{ pg/µl}$$

104,6 pg/µl (DNA vittima)

10,4 pg/µl (DNA contributori)

115 x 50 = 5.750 pg (5.75 ng) di DNA

→ Reperto 165

Reperto 36

Fluorimetro Qubit™

CAMPIONE	VALORE pgr/mL 1 µl	CONCENTRAZIONE CAMPIONE ng/µl
Standard 1	ok	
Standard 2	ok	
1 %47326	too low	—
2%47327	too low	—
3%47328	0,57	0,114
4%47329	0,4	0,08
5%47330	too low	—
6%47331	too low	—

13 novembre 2007

Reperto 36A
Reperto 36B
Reperto 36C

Sulla Relazione Tecnica è riportato che:

"…**le tracce A e B, risultate positive alla quantizzazione, sono state sottoposte ad amplificazione**…"…la traccia C è risultata negativa alla quantizzazione…

All'udienza GUP la Dott.ssa Stefanoni ha testualmente affermato che **nella traccia B il DNA "era nell'ordine di qualche centinaio di picogrammi**" …

Reperto 2

Stato Avanzamento Lavori (SAL)

Codice Reperto	N. Tracce	Descrizione Reperto
L10747-01-002	3	nr.tre tracce di presuta S.E. prelevata dalla prima stanza bilietto

Elenco Tracce

Codice Traccia	Codice Sample ID	Tipo di Traccia	Descrizione Traccia	Quantità Estratto 50	Ubicazione Estratto 260/D7
L10747-01-002-01	200047032	PRESUNTA TRACCIA EMATICA	PRESUNTA TRACCIA EMATICA		

TETRAMETILBENZIDINA	LUMINOL	CROMATOGRAFIA GEL SILIC	IMMUNOELETTROSINERESI	METODICHE IMMUNOLOGICH	SPECIE ANIMALE
POSITIVO					GATTO

Data 1^ Estraz.	Data 2^ Estraz.	Data 3^ Estraz.	Data 1^ Quantif.	Data 2^ Quantif.	Data 3^ Quantif.	Data 1^ Amplif.	Kit Commerciale	Data 2^ Amplif.	Kit Commerciale	Data 3^ Amplif.	Kit Commerciale	N. Run 1/ Strumento	N. Run 2/ Strumento	N. Run 3/ Strumento
05-11-07												/	/	/

Report Quantizzazione

Well	Type	Sample Name	Replicate
C7	UNKN	L10747-01-47032	
C8	UNKN	L10747-01-47032	

Ct	Quantity	Std. Dev.	Mean
26.06	1.2e+00	0.00	1.16
26.13	1.1e+00	0.00	1.10

Nella Relazione Tecnica si afferma che "…**tutte e tre le tracce ematiche appartenenti al reperto 2 sono state attribuite a sangue di gatto…test avvalorato dal risultato negativo per DNA umano ottenuto in quantizzazione**."

CONCLUSIONI

- Documentazione prodotta forse incompleta
- Carenza di tracciabilità di tutte le operazioni analitiche
- Contraddizioni tra quanto riportato nella Relazione Tecnica, nella documentazione di laboratorio e quanto affermato in Udienza
- Low copy number DNA per i minori contributori della traccia 165B