



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

Genetica Forense

Sarah Gino

SAL
(STATO AVANZAMENTO LAVORI)

CONSIDERAZIONI

Informazioni presenti e informazioni mancanti

Personale che esegue le analisi

N. Fascicolo

Cod. BIO

Inizio delle operazioni: **si segnala incongruenza tra data inizio 12/11/2007 e data estrazione di alcuni reperti (reperto L10747-01-000 indicata come 05-11-07)**

In comune con ... Balistica ... Impronte Latenti

Num. Reperti 229

Data alla scrittura 12/06/2008: **che cosa significa?**

CONSIDERAZIONI

Informazioni presenti e informazioni mancanti

Elenco reperti

Codice reperto

N. Tracce

Descrizione reperto

CONSIDERAZIONI

Informazioni presenti e informazioni mancanti

Elenco delle tracce

Codice traccia

Codice Sample ID

Tipo traccia

Descrizione traccia

Quantità estratto (risulta pari a 50 senza indicazione dell'unità di misura, si presume μl)

Esito diagnosi di natura

Data 1[^], 2[^], 3[^] estrazione

Data 1[^], 2[^], 3[^] quantificazione (manca l'indicazione della data che possiamo eventualmente desumere dai report depositati; non è indicato il metodo utilizzato, che abbiamo scoperto solo ora non essere sempre Real-time PCR, ma anche fluorimetro Qubit)

Data 1[^], 2[^], 3[^] amplificazione Kit commerciale (mancano entrambe le informazioni)

N. Run 1 Strumento, N. Run 2 Strumento, N. Run 3 Strumento (mancano le informazioni in parte ricavabili dagli elettroferogrammi)

CONSIDERAZIONI

Alla mancanza delle informazioni previste dalle schede SAL, si aggiungono altre lacune, non certo prive di importanza:

- per l'estrazione sono riferiti data, volume finale e nella relazione tecnica depositata viene indicata la metodica. Non sappiamo però quali campioni sono stati concentrati, in quale volume;
- nell'udienza davanti al GUP la dott.ssa Stefanoni afferma che il campione 36B (campione di interesse per la difesa Knox), ha subito una concentrazione dopo l'estrazione ed una dopo la quantificazione. Di tutto ciò non vi è traccia nei documenti a nostra disposizione;
- il non aver indicato la data dell'amplificazione non ci permette di capire quali campioni sono stati trattati insieme, quindi non ci permette di escludere l'eventuale contaminazione di cui abbiamo trattato nel corso della scorsa audizione;
- non sono stati riportati i volumi di reazione per l'amplificazione, né i numeri di cicli impiegati. Non sappiamo dunque se si è proceduto in condizioni standard;
- alcuni campioni, che hanno fornito un profilo genetico, non sono contenuti nei SAL a nostra disposizione (es. reperto 29 tamponi buccali Lubumba; reperto 58 (spazzolino da denti sequestrato in casa Guede ...)).

Dobbiamo pensare che ancora oggi non abbiamo tutta la documentazione relativa alle indagini di genetica forense svolte?



QUANTIFICAZIONE

CONSIDERAZIONI

Sono stati depositati i report per due diverse tipologie di quantificazione:

➤ Fluorimetro Qubit (Invitrogen) utilizzato con il kit commerciale “Quant-IT DNA Assay Kit, High Sensitivity 0.2-100 ng”, prodotto dalla stessa ditta.

Questo kit è altamente selettivo per il DNA a doppio filamento, ma non è specifico per il DNA umano.

E' in grado di quantificare DNA a doppia elica in un range compreso tra 0,2 (200 pg) e 100 ng, che corrispondono ad una concentrazione iniziale di DNA nel campione compresa tra 10pg/ μ l e 100ng/ μ l ;

➤ Real-time PCR utilizzata con il kit commerciale “Quantifiler” (Applied Biosystems).

Detto kit è pressoché specifico per l'uomo (può dare cross-reazione solo con i primati).

La sua sensibilità è pari a 10pg/ μ l

CONSIDERAZIONI

Nella relazione depositata e nelle udienze in cui è stata sentita la dott.ssa Stefanoni, sia davanti al GUP che davanti a questa Corte, mai si era fatto cenno ad una metodica di quantificazione differente rispetto alla Real-time PCR.

Dalla documentazione depositata a fine luglio 2009 risulta che il 6, 13, 14 novembre 2007 alcuni campioni, tra cui i prelievi effettuati sul reperto 36, sono stati quantificati con il fluorimetro Qubit. Il risultato per alcuni di questi campioni è stato definito “too low”: che cosa significa? Il buon senso ci direbbe che la concentrazione di DNA era inferiore al valore soglia del kit ($< 10\text{pg}/\mu\text{l}$) e dunque poteva essere anche pari a 0, ossia assenza di DNA umano e non.

Questi campioni sono stati amplificati ugualmente, alcuni dopo concentrazione. Solo due hanno fornito un profilo genetico: il campione 36B (attribuito alla vittima) e il campione 33A (coltello a serramanico di colore nero – costituito da una commistione di materiale biologico di Sollecito e Knox).

Se la concentrazione di DNA era inferiore a $10\text{pg}/\mu\text{l}$, siamo sicuramente in presenza di LCN DNA e, senza entrare nel merito della questione ampiamente discussa nella mia precedente audizione, ribadiamo che non sono state seguite le linee guida per poter considerare scientificamente validi i risultati ottenuti.

CONSIDERAZIONI

In ultimo per quanto attiene il campione 36B, la dott.ssa Stefanoni affermava davanti al GUP, che la metodica utilizzata per la sua quantificazione era la Real-time PCR e che la quantificazione era “... nell’ordine di qualche centinaio di pg ...” (pag.178 della trascrizione): nella documentazione messa a nostra disposizione non risulta -nei report della quantificazione con Quantifiler- detto campione.

Dobbiamo pensare che ancora oggi non abbiamo tutta la documentazione relativa alle indagini di genetica forense svolte?

Inoltre la quantificazione con fluorimetro ha dato come esito ribadiamo “too low” e nella relazione tecnica depositata si dice (pag. 78): “... le tracce risultate positive alla quantificazione (tracce A e B), sono state sottoposte ad amplificazione e successiva elettroforesi capillare. Le tracce negative alla quantificazione (tracce C,D,E,F,G) sono state analizzate previa concentrazione mediante impiego di strumentazione Speed-Vac SC110 marca “Savant” ...”. Anche per queste ultime il risultato della quantificazione con fluorimetro Qubit è stato “too low” e sembra che solo dette tracce siano state concentrate ... non la traccia 36B come invece affermato davanti al GUP.

Si noti come la traccia 36B nella relazione risulti positiva alla quantificazione!

Ma se la quantificazione del reperto 36B è negativa, non è sbagliato pensare -in base anche al tracciato elettroforetico ottenuto- che vi possa essere stata contaminazione del campione durante l’amplificazione.