

- 5354

**RELAZIONE DI CONSULENZA CHIMICO-TOSSICOLOGICA NEL
PROCEDIMENTO PENALE N. 19738/07 R.G.N.R. MOD. 44
RELATIVO ALLA MORTE DI
KERCHER MEREDITH SUSANNA CARA**

Dott.ssa Paola Melai

PROCURA DELLA REPUBBLICA
di Perugia

DEPOSITATO IN SEGRETERIA

IL 14 MAG 2008

IL SEGRETARIO



**RELAZIONE DI CONSULENZA CHIMICO-TOSSICOLOGICA NEL
PROCEDIMENTO PENALE N. 19738/07 R.G.N.R. MOD. 44
RELATIVO ALLA MORTE DI
KERCHER MEREDITH SUSANNA CARA**

In data 4 novembre 2007, la sottoscritta Dott.ssa Paola Melai, specialista in Tossicologia Forense in servizio presso la Sezione di Medicina Legale e di Medicina Specialistica dello Sport del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Perugia, riceveva incarico dall'Ill.mo Dott. Giuliano Mignini, S. Procuratore della Repubblica presso il Tribunale di Perugia, di eseguire consulenza tecnica tossicologica sui reperti biologici prelevati dal cadavere di Kercher Meredith Susanna Cara, al fine di rispondere ai seguenti quesiti:

“ Presa visione della documentazione del procedimento, effettui analisi tossicologiche sui reperti biologici prelevati in sede autoptica sul cadavere di Kercher Meredith Susanna Cara, nonché su eventuali reperti sequestrati in sede di sopralluogo dalla Polizia Giudiziaria.”.

INDAGINI TOSSICOLOGICHE SU MATERIALE ORGANICO

Le ricerche tossicologiche, esperite sul materiale biologico prelevato dal cadavere di Kercher Meredith Susanna Cara (sangue, bile, contenuto gastrico, polmone, fegato, encefalo, rene, milza e cuore) nel corso dell'esame autoptico effettuato dal Dott. Luca Lalli, sono state orientate all'accertamento della eventuale presenza di sostanze stupefacenti e/o psicotrope.

A tal fine, quale screening generale qualitativo, si è sottoposta la bile ad analisi immunoenzimatica secondo la seguente procedura.

Screening generale sulla bile per la ricerca di sostanza stupefacenti e/o psicotrope mediante tecnica immunoenzimatica: l'indagine è stata effettuata presso il Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche dell'Ospedale di Perugia mediante tecnica immunoenzimatica, utilizzando kits specifici per benzodiazepine, cocaina, oppiacei, amfetamine, metadone e cannabinoidi, utilizzando per ogni singolo esame mcl 25 di bile



preventivamente diluita, centrifugata e filtrata. Nel caso del campione in esame non si è rilevata positività per nessuno dei test eseguiti.

Pertanto, per confermare quanto ottenuto e verificare in particolare l'assenza di sostanze stupefacenti e/o psicotrope su tutti gli altri liquidi biologici ed organi, si sono eseguite ulteriori analisi avendo cura di sottoporre ciascun campione ad una preventiva ed accurata estrazione organica.

Analisi qualitativa delle benzodiazepine, della morfina, della cocaina e dei cannabinoidi mediante tecnica immunoenzimatica (ELISA): 1 grammo di ciascun organo e 1 millilitro di sangue, di bile e di contenuto gastrico sono stati omogeneizzati e diluiti con acqua distillata in modo da ottenere diluizioni 1:10, 1:50 (bile e contenuto gastrico).

Sulle soluzioni così allestite si sono esperite le analisi immunologiche mediante l'impiego di kits specifici per il dosaggio delle benzodiazepine, della morfina, dei cannabinoidi e della cocaina (metaboliti totali) prodotti dalla ditta Cozart. Per la lettura, effettuata presso il Laboratorio di Microbiologia del Policlinico Monteluce di Perugia, è stato utilizzato uno spettrofotometro automatizzato delle piastre per microtitolazione con filtro a 450 nm.

I valori ottenuti, rapportati ad una curva di calibrazione da 0 a 100 ng/ml, espressi in microgrammi di sostanza per millilitro di liquido biologico o grammo di organo (mcg/ml o g), non hanno evidenziato la presenza di morfina, benzodiazepine, di cannabinoidi e/o cocaina (metaboliti totali).

Analisi qualitativa di conferma mediante tecnica gascromatografica con rilevatore di massa (GC/MS): allo scopo 2 ml di sangue, 2 ml di bile (preventivamente sottoposta ad idrolisi enzimatica con 50 microlitri di beta-glucuronidasi mantenuta a temperatura ambiente per una notte) e 2 ml di contenuto gastrico sono stati sottoposti ad estrazioni organiche operate in condizioni di pH basico e acido.

L'estrazione dell'analita a natura basica è stata eseguita mediante l'utilizzo di colonnine "IsoluteTM" SPE Column del tipo HCX 130 mg/10 ml, seguendo il protocollo suggerito per l'estrazione di sostanze basiche da Urine per analisi GCMS, suggerito dalla ditta Stepbio s.r.l. di Bologna che ha fornito il

materiale. In particolare la procedura di estrazione è stata caratterizzata da un pretrattamento dei campioni che vengono portati a pH 6 per aggiunta di tampone fosfato 0,1 M. Nel frattempo la colonna viene condizionata mediante 2 ml di metanolo, successivamente 2 ml di acqua distillata e quindi 2 ml di tampone fosfato 0,1 M (pH 6.0) senza che aria venga aspirata. Dopo la solvatazione della colonna si applica il campione per gravità e comunque in modo tale che il flusso non sia superiore a 2 ml/min.

Quindi si eliminano le interferenze attraverso il lavaggio della colonna con 6 ml di acqua deionizzata e successivamente con 3 ml di acido cloridrico 0,1 M. Si asciuga la colonna per 5 minuti sotto vuoto spinto e quindi si esegue un secondo lavaggio con 9 ml di metanolo asciugando la colonna di nuovo per 5 minuti sotto vuoto spinto (10-15" Hg). Infine si eluiscono 2 ml di una miscela 80/20 v/v di diclorometano/isopropanolo alcalinizzato con ammoniaca al 2%. L'eluato viene portato completamente a secco sotto flusso di azoto a temperatura ambiente e quindi ricostituito con 0,5 ml di cloruro di metilene e successivamente portato di nuovo a secchezza sotto azoto e derivatizzato a 70 °C per 15 minuti con 20 µl di reagente BSTFA contenente 1% di TMS.

Per le sostanze a natura acida si è proceduto ad estrazione diretta con solventi organici. Allo scopo, 1 ml di sangue, di bile e di contenuto gastrico sono stati aggiunti di 2-3 gocce di acido acetico diluito, quindi sono stati estratti con 3 ml di una miscela esano-etilacetato (75:25) acidificata con acido acetico diluito (2%).

L'estratto organico è stato ripreso, portato a secco sotto corrente di azoto e addizionato con 50 microlitri di BSTFA contenente 1% di TMS e quindi derivatizzato a 70 °C per 15 minuti.

Per la ricerca dei Cannabinoidi si sono utilizzati 1 ml di sangue ed 1 ml di bile che sono stati trattati preventivamente con 300 microlitri di KOH 10M per 15 minuti a 60°C. Dopo raffreddamento si porta a pH 4.5-6.5 con 165 microlitri di Acido acetico glaciale, si aggiunge lo Standard Interno (alfa -colestano 1 mcg/µl) e 2 millilitri di tampone acetato a pH 4-6.

L'estrazione dell'analita è stata eseguita mediante l'utilizzo di colonnine "IsoluteTM" SPE Column del tipo HAX 200 mg/3ml, seguendo il protocollo suggerito per l'estrazione del metabolita Delta-9-THC-COOH da urine per analisi GC/MS, suggerito dalla ditta Stepbio s.r.l. di Bologna che ha fornito il materiale. In particolare la procedura di estrazione è stata caratterizzata da un pretrattamento della colonna che viene condizionata mediante 2 ml di metanolo, successivamente 2 ml di acqua distillata e quindi 2 ml di acetato di ammonio 50 mM senza che aria venga aspirata. Dopo la solvatazione della colonna si applica il campione per gravità e comunque in modo tale che il flusso non sia superiore a 2 ml/min.

Quindi si eliminano le interferenze attraverso il lavaggio della colonna con 10 ml di metanolo/acqua deionizzata al 50%. Si asciuga la colonna per 10 minuti sotto vuoto spinto e quindi si esegue un secondo lavaggio con 9 ml di acetonitrile asciugando la colonna di nuovo per 1 minuti sotto vuoto spinto (10-15" Hg). Infine si eluiscono 3 ml di una miscela 75/25 v/v di esano/etilacetato acidificata con 1% di acido acetico concentrato. L'eluato viene portato completamente a secco sotto flusso di azoto a temperatura ambiente e quindi ricostituito con 0,5 ml di cloruro di metilene e successivamente portato di nuovo a secchezza sotto azoto e derivatizzato a 70 °C per 15 minuti con 20 µl di reagente BSTFA contenente 1% di TMS.

Ciascun estratto sopra ottenuto è stato analizzato mediante gascromatografia/spettrometria di massa utilizzando un sistema GC/MSD 6850/5973 Network della ditta Agilent Technologies.

Alla sorgente ionica è stata connessa una colonna capillare HP5ms, 25 mm ID, della lunghezza di metri 30 avente un film dello spessore di µm 25 posto nelle seguenti condizioni operative:

- temperatura colonna: programmata da 100 a 300°C con incremento di 10°C/min.;
- temperatura iniettore e rilevatore: 280 °C;
- flusso di elio: 1 ml/min.;
- tipo di iniezione: Split-splitless 50 sec.;
- scansione TIC masse: da 50 a 600 a.m.u.



L'impostazione dei programmi analitici e l'elaborazione dei dati sono stati gestiti da un processore computerizzato HED - PC HP Vectra Pentium III dotato di una MS Drug Library: G 1039C - PMW-tox3 per la ricerca o il confronto con 6300 spettri di massa di sostanze stupefacenti e loro metaboliti. Le analisi effettuate hanno confermato l'assenza, su tutti i campioni esaminati di sostanze stupefacenti e/o psicotrope rilevabili gascromatograficamente.

Ricerca dell'alcool etilico nel sangue: per stabilire, inoltre, se la Kercher Meredith Susanna Cara al momento del decesso fosse in stato di intossicazione alcolica si è proceduto, su di un campione di sangue, alla ricerca dell'alcool etilico mediante tecnica gascromatografica (head space) secondo le seguenti modalità: 1 millilitro di sangue, posto in un vial della capacità di 5 ml, è stato addizionato di 1 grammo di cloruro di sodio e di 450 microlitri di isopropanolo come standard interno, utile per il calcolo quantitativo. Quindi il vial, chiuso ermeticamente con una ghiera metallica, è stato posto ad incubare in un bagno maria alla temperatura di 70°C per circa due ore. Contemporaneamente è stata preparata una soluzione standard contenente alcool etilico in concentrazione nota (1g/litro). Successivamente sono state effettuate le analisi gascromatografiche utilizzando un sistema di campionamento automatico collegato ad un gascromatografo Carlo Erba mod. Fractovap 2300 munito di colonna impaccata Carbopak 5% su Carbowax 20M della lunghezza di m 2 e posto nelle seguenti condizioni operative:

- temperatura colonna: 70°C;
- temperatura iniettore: 150°C;
- temperatura rivelatore: 150°C;
- gas di trasporto: azoto 1,5 ml/min.

Il sistema di calcolo adottato è stato quello della standardizzazione interna, elaborato e gestito da un computer IBM.

Le analisi esperite hanno evidenziato, nel sangue di Kercher Meredith Susanna Cara, la presenza di alcool etilico nella concentrazione di 0,46 grammi/litro.



RISPOSTA AI QUESITI

Le analisi tossicologiche esperite sul sangue prelevato dal cadavere di Kercher Meredith Susanna Cara hanno evidenziato la presenza di alcool etilico nella concentrazione pari a 0,46 grammi/litro, in assenza di altre sostanze ad azione stupefacente, psicotropa e/o tossica.

Le ulteriori indagini eseguite sugli altri liquidi biologici (bile e contenuto gastrico) nonché sugli organi prelevati in sede autoptica non hanno rilevato la presenza di altre sostanze psicotrope, stupefacenti e/o tossiche rilevabili gascromatograficamente.

Perugia, 30 gennaio 2008

Dott.ssa Paola Melai

