



Omicidio di Meredith Kercher.
Considerazioni sui risultati dell'analisi genetica
della traccia 165-B

La nostra analisi è stata effettuata sulla base del profilo elettroforetico **recentemente acquisito**, nel quale sono specificati le altezze, le aree e la denominazione allelica; questo profilo elettroforetico è in particolare più completo del precedente ove invece erano assenti alcune delle suddette caratteristiche.

PREMESSA

L'analisi di una traccia mista deve tener conto di alcuni fattori fondamentali ineludibili:

- Le quantità relative di DNA presenti in una traccia mista.

In presenza di più DNA di cui uno o più di uno presente in quantità 10 volte inferiore una accurata interpretazione di una traccia mista deve assolutamente considerare ed analizzare eventuali "stutter band" (allele di una ripetizione inferiore rispetto all'allele principale N-4, se parliamo di tetranucleotidi) presenti, esse sono degne di nota perché possono rappresentare alleli mascherati. Infatti allorché si analizza un profilo derivante da amplificazione di un unico DNA le stutter band de-



vono rappresentare il 15% o meno dell'area del picco dell'allele principale. Ciò significa che in presenza di una mistura di DNA di cui la componente minore (o le) è presente ad una concentrazione 10 volte inferiore si avrà un'area del picco assolutamente sovrapponibile all'area di un picco di una stutter band sovrapposta ad una eventuale "vera stutter band". I sistemi validati per l'identificazione hanno relativamente a ciascun tipo di allele una percentuale di stutter band prevedibile e certificata dalla ditta produttrice.

La valutazione dell'area del picco è una pratica sicuramente più informativa per valutare quantitativamente i profili di DNA che contribuiscono alla composizione della mistura. In presenza di rapporti di diluizione di DNA significativi (per es. 10:1 Componente maggiore presente ad una concentrazione 10 volte maggiore rispetto a quella minore) il contributo additivo di un allele della componente minore può essere indistinguibile. Si deve considerare in questo caso la possibilità di un mascheramento allelico ogni qualvolta si tenti di interpretare la componente minore in una traccia mista.



- Criteri per la determinazione del numero di individui che contribuiscono alla composizione della miscela

Utili indicatori per assegnare alla traccia mista un numero minimo di individui è quello di contare gli alleli per ogni locus (es D2S1338 o altri). Il numero massimo di alleli che ci si aspetterebbe per una miscela di 2 individui eterozigoti per alleli differenti è 4. La presenza di 5 o 6 alleli ad un locus sono indicativi della presenza nella mistura di tre o più individui

Un modo per individuare le quantità relative dei diversi DNA presenti è osservare attentamente tutti i loci ed in particolare quelli in cui ci sono alleli non condivisi.

IL CAMPIONE IN ESAME

Sulla base di questa premessa l'analisi del profilo della traccia 165-B, a nostro avviso, evidenzia chiaramente:



- La presenza di **almeno** 3 individui (vedi in particolare marcatore D8S1179, D2S1338, D19S433 e D18S51 dove il numero di alleli inequivocabili è maggiore di 4)
- La valutazione delle aree dei picchi dell'Amelogenina evidenzia una o più componenti minori presenti (di cui una maschile) con un rapporto di diluizione di circa 1: 10

N.B.:

L'analisi dettagliata del profilo di ogni marcatore evidenzia in alcuni di essi una scelta arbitraria ed errata dei picchi da considerare utili ai fini della definizione della composizione allelica della traccia in analisi.

Entrando nel dettaglio di ciascuno di essi è possibile osservare per ogni marcatore quanto segue:

D8S1179 : alla traccia è stato attribuito un profilo 13, 15, 16. Sono stati omessi gli alleli 12 e 14 ($RFU > 50$). L'allele 12 avendo un'area di 689 (meno del 15 % dell'area del picco principale prossimo (6239) potrebbe essere considerata una stutter dell'allele principale



13 (la percentuale di stutter per quest'allele varia dal 3 all'8 % come riportato dalla ditta produttrice). Quest'eventualità non si può escludere ma, in presenza di uno o più DNA presenti nella miscela ad una concentrazione di un circa un decimo rispetto alla componente maggiore, una stutter band è assolutamente indistinguibile da un vero allele che pertanto va attribuito. Per l'allele 14 la valutazione dell'area (469 cioè almeno il 45 % dell'area del picco 15 prossimo (1171)) evidenzia come questo picco non considerato nell'analisi ha una percentuale maggiore del 15 % (se consideriamo la definizione di stutter band) e pertanto deve essere considerato a tutti gli effetti un allele definibile ed attribuibile nella miscela.

D21S11 : *alla traccia è stato attribuito un profilo 30,32.2,33.2. E' stato omissa l'allele 29. Anche in questo caso è impossibile dire, per le considerazioni fatte prima per l'allele 12 del marcatore D8S1179, che l'allele 29 rappresenti unicamente una stutter band, pertanto deve essere definito.*

D7S820 : *alla traccia è stato attribuito un profilo 8,11. E' stato omissa l'allele 10 , anche in questo caso va attribuito in considera-*

W

Prof. Dott. Francesco Vinci

Medico-Chirurgo
Associato di Medicina Legale
Direttore Centro Universitario di Balistica Forense
Specialista in Medicina Legale e delle Assicurazioni



Sezione di Medicina Legale
Centro di Balistica Forense
Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica
Università degli Studi - Policlinico
P.zza G. Cesare - 70124 - BARI
Tel. 080/5478296 - 5478288 (diretto)

Ab. Viale J.F. Kennedy n.91 - 70124 - BARI - Tel. 080/5617512 - Cell. 339/7736646 - E mail:
f.vinci@medicinalegale.uniba.it

zione delle osservazioni fatte per l'allele 12 del marcatore D8S1179.

CSF1PO : *alla traccia è stato attribuito un profilo 10,12. E' stato omesso l'allele 11 , anche in questo caso va attribuito in considerazione delle osservazioni fatte per l'allele 12 del marcatore D8S1179.*

D3S1358 : *alla traccia è stato attribuito un profilo 14,16,17,18. L'analisi dell'area dei picchi evidenzia come l'allele 17 sia presente in proporzione tale da giustificare la condivisione con il DNA di un altro individuo presente nella mistura oltre al DNA di Raffaele Sollecito.*

THO1: *alla traccia è stato attribuito un profilo 6,8,9,9.3. Assegnazione corretta. È da notare che, così come nel marcatore precedente l'analisi delle aree dei picchi evidenzia la presenza di alleli condivisi tra Raffaele Sollecito ed il DNA di un altro individuo presente nella mistura. Infatti , contrariamente al marcatore amelogenina il rapporto di diluizione 1 a 10 non è più rispettato.*

D13S317: *alla traccia è stato attribuito un profilo 8,12,13 correttamente, valgono le stesse considerazioni fatte precedentemente e*

 6



cioè che l'allele 12 potrebbe essere un allele condiviso come esPLICITATO prima.

D16S539: alla traccia è stato attribuito un profilo 10,11,14. E' stato omesso l'allele 13 che per i motivi visti per l'allele 12 del marcatore D8S1179 deve essere attribuito.

D2S1338: alla traccia è stato attribuito un profilo 16,20,23,24. Sono stati omessi gli alleli 19 e 22 per i quali valgono le stesse considerazioni fatte per l'allele 12 del marcatore D8S1179. In aggiunta va rilevato, così come osservato per l'allele 17 del marcatore D3S1358 che le proporzioni degli alleli 16 e 24 del marcatore D2S1338, desunte dalle aree dei picchi, sono visibilmente diverse evidenziando la condivisione dell'allele 16 attribuibile a Raffaele Sollecito con il DNA di un altro individuo presente nella mistura.

D19S433: alla traccia è stato attribuito un profilo 12,13, 15.2, 16. Sono stati omessi gli alleli 14 e 15 per i quali valgono le stesse considerazioni fatte per l'allele 12 del marcatore D8S1179 e quelle fatte riguardo alle proporzioni degli alleli 16 e 24 del marcatore D2S1338.



HumWA3: alla traccia è stato attribuito un profilo 12,14, 15, 16. Si rileva come alcuni picchi accessori non siano stati attribuiti, uno dei quali visibilmente compatibile con una soglia RFU>50 e peso molecolare probabilmente compatibile con un allele 18.

TPOX: alla traccia è stato attribuito un profilo 8,9,11 correttamente.

D18S51: alla traccia è stato attribuito un profilo 14,15,16,17. E' stato omesso l'allele 13 che per i motivi visti per l'allele 12 del marcatore D8S1179 deve essere attribuito.

D5S818: alla traccia è stato attribuito un profilo 11,12. E' stato omesso l'allele 13 che per i motivi visti per l'allele 12 del marcatore D8S1179 deve essere attribuito.

HumFGA: alla traccia è stato attribuito un profilo 20,21 correttamente.

Le nostre osservazioni, per quanto sopra premesso ed in particolare in relazione alla nostra diversa interpretazione dei picchi definiti dalla Dott.ssa Stefanoni quali "stutter bands" portano a ritenere:



- per il marcatore **D8S1179**, la definizione degli alleli 11 (pur essendo di poco al di sotto della soglia), 12 e 14, farebbe emergere la compatibilità con i genotipi della **Knox** (11/12) e di **Guede** (14/14);
- per il marcatore **D21S11**, la definizione dell'allele 29 in aggiunta a quelli definiti nel profilo indicato dalla Dott.ssa Stefanoni, identifica la compatibilità con i genotipi della **Knox** (29/30) e di **Guede** (29/29);
- per il marcatore **CFS1P0**, la nuova definizione del profilo evidenzia la compatibilità con il profilo della **Knox** (11/12);
- per il marcatore **D3S1358**, la nuova definizione del profilo evidenzia la compatibilità con i genotipi di **Guede** (15/16, sebbene il 15 sia di poco al di sotto della soglia di 50 RFU) e della **Knox** (15/18, sebbene il 15 sia di poco al di sotto della soglia di 50 RFU);
- per il marcatore **TH01**, la nuova definizione del profilo evidenzia la compatibilità con il genotipo della **Knox** (6/8) e di quello del **Guede** (7/9, ove però l'allele 7 può essere solo ipotizzato perché mancano le caratteristiche relative all'area, alla definizione allelica ed all'altezza del picco);
- per il marcatore **D13S317**, si evidenzia la compatibilità con i genotipi della **Knox** (11/13, ove però l'allele 11 può essere solo ipotizzato per-



ché mancano le caratteristiche relative all'area, alla definizione allelica ed all'altezza del picco);

- per il marcatore **D16S539** si evidenzia la compatibilità con il genotipo della **Knox** (10/11) e con il genotipo di **Guede** (9/11, ove però l'allele 9 può essere solo ipotizzato perché mancano le caratteristiche relative all'area, alla definizione allelica ed all'altezza del picco);
- per il marcatore **D2S1338**, l'analisi del nuovo profilo evidenzia compatibilità con il genotipo del **Guede** (16/23) e con il genotipo della **Knox** (18/20, ove il 18 può essere solo ipotizzato perché al sotto della soglia di 50 RFU);
- per il marcatore **D19S433**, l'analisi del nuovo profilo evidenzia compatibilità con quello della **Knox** (13/16,2, sebbene quest'ultimo possa essere solo ipotizzato perché mancante delle informazioni necessarie alla sua definizione) e con quello del **Guede** (13/14,2, sebbene quest'ultimo possa essere solo ipotizzato perché mancante delle informazioni necessarie alla sua definizione);
- per il marcatore **TPOX**, l'analisi del nuovo profilo evidenzia compatibilità con quello della **Knox** (8/8) e con quello di **Guede** (8/9);

W



- per il marcatore **D18S51**, l'analisi del nuovo profilo evidenzia compatibilità con quello dello della **Knox** (13/17) e con quello di **Guede** (14/15);
- per il marcatore **D5S818**, l'analisi del nuovo profilo evidenzia compatibilità con il genotipo della **Knox** (13/13) e di **Guede** (12/13);

SINTESI CONCLUSIVA

Sulla base di quanto osservato si sottolinea la superficialità nell'attribuzione degli alleli e la complessità intrinseca dell'interpretazione di una mistura costituita, a nostro avviso, **da almeno 3 diversi DNA**, oltre a quello della Kercher.

Nel considerare gli alleli e le aree sottese per ciascun picco è evidente come esse siano l'espressione di svariate combinazioni genotipiche in aggiunta a quelle ritenute compatibili.

In relazione a quest'ultimo aspetto, è opportuno sottolineare che alla luce del nuovo profilo da noi ottenuto, considerando gli alleli precedentemente omessi, si evidenzia la compatibilità con ulteriori profili genetici diversi da quello di Raffaele Sollecito; in particolare questi profili genetici



risultano compatibili con alcuni marcatori attribuiti a Amanda Knox e Rudy Guede.

Possiamo inoltre affermare che il profilo genetico della traccia 165 B (elettroferogramma Y485-48896) per quanto riguarda i marcatori del cromosoma Y è stato definito superficialmente infatti anch'esso risulta attribuibile ad almeno altri 2 individui di sesso maschile in aggiunta a Raffaele Sollecito. Sebbene nel tracciato fornito manchino i dati relativi alle aree, RFU e definizione allelica (pesi molecolari) definiamo con buona approssimazione che :

per il marcatore DYS456 : in aggiunta all'allele 13 attribuito ci sono gli alleli 15 e 16;

per il marcatore DYS389-I : in aggiunta all'allele 12 attribuito ci sono gli alleli 13 e 14;

per il marcatore DYS390 : in aggiunta all'allele 22 attribuito ci sono gli alleli 21 23 e 24;

per il marcatore DYS389-II : in aggiunta all'allele 29 attribuito c'è l'allele 28;

per il marcatore DYS458: in aggiunta all'allele 15 attribuito ci sono gli alleli 14 16 e 17;



Medico-Chirurgo
Associato di Medicina Legale
Direttore Centro Universitario di Balistica Forense
Specialista in Medicina Legale e delle Assicurazioni

Ab. Viale J.F. Kennedy n.91 - 70124 - BARI - Tel. 080/5617512 - Cell. 339/7736646 - E mail:
f.vinci@medicinalegale.uniba.it

per il marcatore DYS19: in aggiunta all'allele 14 attribuito ci sono gli alleli 13 e 15;

per il marcatore DYS385: in aggiunta agli alleli 13-14 attribuiti ci sono gli alleli 15 e 16;

per il marcatore DYS393: in aggiunta all'allele 13 attribuito ci sono gli alleli 12 e 14;

per il marcatore DYS391: in aggiunta all'allele 10 attribuito ci sono gli alleli 9 e 11;

per il marcatore DYS635: in aggiunta all'allele 12 attribuito ci sono gli alleli 20 e 22;

per il marcatore Y GATA H4: in aggiunta all'allele 11 attribuito ci sono gli alleli 10 e 12;

per il marcatore DYS437: in aggiunta all'allele 15 attribuito c'è l'allele 14;

per il marcatore DYS438: in aggiunta all'allele 10 attribuito c'è l'allele 9;

per il marcatore DYS448: in aggiunta all'allele 20 attribuito ci sono gli alleli 19 e 21;



Sulla base di questa nuova definizione del profilo dei marcatori del cromosoma Y si evidenzia la compatibilità della traccia mista con il profilo di Guede ed anche altri individui di sesso maschile allo stato ignoti.

In definitiva, attesa la **estrema complessità interpretativa** della traccia in oggetto che risulta costituita da una mistura di diversi DNA, ove oltre ad una componente maggiore (quella della vittima) esistono altre componenti minori maschili e femminili (a loro volta presenti in concentrazioni differenti), è quindi impossibile o quanto meno estremamente aleatoria una univoca interpretazione; **pertanto è da ritenersi che questa traccia non sia assolutamente utilizzabile ai fini probatori.**

Riferimenti Bibliografici

"Interpreting simple STR mixtures using allele peak areas"

Gill, P.; Sparkes, R.; Pinchin, R.; Clayton, T.; Whitaker, J.; J., Buckleton pp. 41-53 Forensic Sci Int. **2006** Mar 10;157(2-3):187-97.

"Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling "

Clayton, T.M.; Whitaker, J.P.; Sparkes, R.; Gill, P. pp. 55-70 Forensic Sci Int. **1998** Jan 9;91(1):55-70. Review.

"Identification and separation of DNA mixtures using peak area information"

Cowell, R.G.; Lauritzen, S.L.; Mortera, J. pp. 28-34 Forensic Sci Int. **2007** Feb 14;166(1):28-34.

(Prof. Francesco Vinci)