

Considerazioni in merito ai documenti depositati il 30 luglio 2009

La documentazione depositata il 30 luglio 2009 consiste in:

- schede di avanzamento lavori;
- report di quantificazione eseguita con fluorimetro Qubit;
- report di quantificazione eseguita con Real-time PCR.

Considerazioni su Schede Stato Avanzamento Lavori

Per quanto riguarda le schede avanzamento lavori è possibile rilevare come nella prima pagina vi siano informazioni relative al personale che esegue le indagini, al numero di fascicolo cui queste indagini si riferiscono. Viene indicata la data d'inizio delle operazioni, che risulta essere il giorno 12/11/2007: esiste però un'incongruenza tra questa data e quella riportata per il primo reperto analizzato (reperto L10747-01-000) per il quale la data dell'estrazione è il 5/11/2007. Vi è poi una dicitura "Data alla scrittura 12/06/2008", di cui non si capisce il significato.

Passando all'esame della parte dei SAL dedicata alla descrizione delle tracce è possibile osservare come venga indicata la "quantità estratto", ma non vi sia riportata l'unità di misura, che pare logico essere il microlitro. Non si fa mai cenno in queste schede alla concentrazione degli estratti prima o dopo la quantificazione: procedura che sappiamo essere stata eseguita in quanto se ne parla nella relazione tecnica della Polizia Scientifica e perché riferito anche dalla consulente del P.M. in aula. Mancano le date relative alla quantificazione, all'amplificazione e alla corsa elettroforetica. Per quanto riguarda la quantificazione e la corsa elettroforetica possiamo risalirvi attraverso i report ora depositati e gli elettroferogrammi. Viceversa, per quanto riguarda l'amplificazione, ciò rappresenta una lacuna di una certa importanza: non sappiamo infatti quali campioni sono stati processati insieme, informazione necessaria per poter valutare la possibilità di contaminazione (es. prelievo 36B). Non sono riportati i volumi dei reagenti utilizzati per l'amplificazione, la quantità di DNA utilizzata, il numero di cicli impiegati. Non possiamo dunque sapere se si è proceduto secondo gli standard o se sono state fatte delle modifiche ai protocolli.

Si noti inoltre che per alcuni campioni non sono reperibili le schede SAL (es. reperto 29 - tamponi buccali Lumumba; reperto 58 - spazzolino da denti sequestrato in casa Guede ...).

Considerazioni su Quantificazione

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/μl e 100ng/μl (secondo quanto riferito dalla ditta produttrice);
- 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/ μl.

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. Viceversa dalla documentazione depositata a fine luglio 2009 risulta che il 6, 13, 14 novembre 2007 alcuni campioni, tra cui una parte dei 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 e dunque poteva essere anche pari a 0 (assenza di DNA umano e non). Lo stesso buon senso avrebbe imposto di non andare avanti per questi campioni con le indagini di laboratorio. Detti campioni sono stati ugualmente amplificati, alcuni dopo concentrazione.

Se la concentrazione di DNA era inferiore al limite soglia dello strumento, eravamo sicuramente di fronte a Low Copy Number (LCN DNA) e, senza entrare nel merito della questione ampiamente discussa nella precedente relazione, non possiamo non ribadire che le linee guida per poter considerare scientificamente validi i risultati ottenuti non sono state seguite.

Considerazioni in merito al campione 36B

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 picogrammi ...” (pag.178 della trascrizione): nella documentazione messa a nostra disposizione non risulta - nei report della quantificazione con Quantifiler - detto campione e la quantificazione con fluorimetro ha dato come esito “too low”. Vi è dunque incongruenza tra quanto affermato in aula e quanto presente nei documenti depositati a fine luglio 2009. Inoltre anche nella relazione tecnica vi è un’inesattezza, in quanto si dice sempre relativamente al reperto 36 (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” ...”. E’ possibile inoltre rilevare come solo le tracce C, D, E, F, G siano state concentrate, non la traccia 36B come invece affermato davanti al GUP. Quindi se la traccia non è stata concentrata, come mai non è stata ripetuta l’amplificazione?

Se, come si desume dai report della quantificazione con fluorimetro, la quantificazione del reperto 36B è stata negativa (incongruenza con quanto riportato in relazione), non è sbagliato pensare - in base anche al tracciato elettroforetico ottenuto - che vi possa essere stata contaminazione del campione durante l’amplificazione.

Considerazioni in merito alle tracce luminol positive (rep.176 – 184)

Per quanto riguarda le tracce luminol positive di cui si è ampiamente discusso nel corso della mia precedente audizione, mi riferisco in particolare ai reperti:

- rep.176 (profilo vittima) e rep.177 (profilo misto vittima+Knox) repertati nella stanza ROMANELLI;
- rep.178 (profilo Knox); rep 179 (profilo Knox); rep.180 (profilo Knox) repertati nella stanza KNOX;
- rep. 181 (no profilo); rep.182 (no profilo); rep.183 (profilo misto vittima+Knox); 184 (no profilo) repertati nel corridoio prospiciente stanza vittima

Analizzando le schede SAL si apprende, in contrasto con quanto presente nella relazione tecnica della Polizia Scientifica e con quanto sostenuto in aula, che è stata eseguita la diagnosi generica di sangue mediante l’impiego di tetrametilbenzidina, che sappiamo essere metodica molto sensibile, anche se non specifica. Detta diagnosi ha avuto il seguente risultato:

- esito “negativo” per i reperti da cui è stato possibile ottenere un profilo genetico;

- esito “non interpretabile” per i reperti da cui non è stato ottenuto alcun profilo genetico.

A questo punto pare lecito chiedersi se le tracce Luminol positive possano ancora essere considerate di natura ematica.

Inoltre la quantità di DNA ricavato da queste tracce è risultata essere compatibile con LCN DNA: anche in questo caso è necessario chiedersi, per poter considerare validi dal punto di vista scientifico i profili ottenuti, se l'amplificazione sia stata ripetuta o meno.

Dott. Sarah GINO

Torino, 25 settembre 2009