

Considerazioni in ordine alle contaminazioni avvenute nelle indagini genetiche relative alla morte di Meredith Kercher.

Alla luce di quanto espresso dalla Corte di Cassazione nelle motivazioni del marzo 2013, la presente relazione prende in considerazione i temi della contaminazione, che ha afflitto le indagini scientifiche relative al decesso di Meredith Kercher, e dei dati di laboratorio: controlli negativi e *raw data*.

La contaminazione sulla scena del crimine.

Chiariamo che la contaminazione non è un mostro mitologico frutto della fantasia, ma un evento reale, realistico e persino frequente ed ineluttabile, a meno di applicare le severe norme per la prevenzione del fenomeno, raccomandate infatti dalla comunità scientifica. Perché enfatizzare a questo punto in tutti i consessi internazionali, in tutte le linee guida e in tutti i protocolli di ogni singolo laboratorio, che peraltro investono grandi somme di denaro, la prevenzione di un fenomeno che non esiste o che è così difficile da comprendere e dimostrare?

L'**evidenza** di un sicuro trasferimento, di vario grado, proviene dai fotogrammi e dalle videoriprese raccolti dai periti dell'Appello. Un guanto sporco di sangue è "*l'origine, il veicolo*" (per usare espressioni della Cassazione, pag. 67) della contaminazione. Spostare oggetti, mobili, coperte ed indumenti prima di repertare una prova biologica, usando lo stesso paio di guanti, rende il guanto stesso il veicolo della contaminazione. Questa è un'**evidenza** di contaminazione!

Ci chiediamo quale possa essere il dilemma della Cassazione, posto che toccare qualcosa con le mani sporche espone certamente alla contaminazione.

Ad esempio, tra le prime regole che un educatore trasmette ad un bambino vi è quella di non mettere le mani in bocca.

Facciamone un altro. I protocolli per estrarre DNA da un osso (sia esso solamente datato o addirittura antico) prevedono l'eliminazione dei primi strati, i più superficiali, di materiale perché le poche cellule estranee che possano essere adese maschererebbero il limitatissimo DNA contenuto negli osteociti (Barta JL, Monroe C, Kemp BM, Further evaluation of the efficacy of contamination removal from bone surfaces, *Forensic Sci Int.* 2013; 231(1-3):340-8). Immaginiamo se al contrario

*Prof. Adriano Tagliabracci
Dott. Valerio Onofri
Sezione di Medicina Legale
Università Politecnica delle Marche*

si operasse abitualmente strofinando un frammento osseo (magari l'unico a disposizione per identificare un soggetto in un disastro di massa o in una fossa comune) sul pavimento di un appartamento frequentato da almeno una decina di studenti universitari, che certo non hanno la consuetudine di indossare tute, guanti, calzari né tantomeno mascherine!

La sentenza di Cassazione riporta nelle sue motivazioni che *“Mai venne evidenziato DNA di Sollecito singolarmente, poiché l'unica traccia repertata ed analizzata fu quella del mozzicone di sigaretta, trovato nel posacenere della cucina della Knox commisto al DNA della Knox, cosicché volendo immaginare per avventura che il DNA fosse trasmigrato (!) dalla cucina alla camera della giovane inglese, si sarebbe dovuto trovare nel gancetto anche quello della Knox”*. Per l'appunto, *“l'unica traccia repertata ed analizzata”*. Ovvero nulla esclude che in altri punti, in altri oggetti, in altre superfici della casa ci fosse il DNA di Raffaele, come è lecito supporre essendo lui un frequentatore di quegli ambienti. Ed allora, come non ammettere che l'eventuale passaggio del DNA di Raffaele sul gancetto sia avvenuto attraverso trasferimenti secondari o terziari ?! Questo scenario non è solo ipotizzabile, ma anche dimostrato attraverso studi sperimentali (Van Oorschot et al. International Congress Series 1288, 2006; Meakin et al., Forensic Sci Int Genet 7(4), 2013).

Il dato scientifico che non dovrebbe essere ancora in discussione, è che sono **sicuramente dimostrati** (anche con videoriprese) eventi di trasferimento di materiale biologico, e quindi di DNA, tra i reperti, e tra operatori e reperti durante i sopralluoghi della Polizia Scientifica; e, a maggior ragione, è plausibile ipotizzarne di altri nei sopralluoghi non registrati effettuati da personale anche meno specializzato.

Una recentissima pubblicazione prende in rassegna più di trenta lavori scientifici degli ultimi sei anni in tema di trasferimento di DNA (Meakin G, Jamieson A., DNA transfer: review and implications for casework, Forensic Sci Int Genet. 2013;7(4):434-43).-Gli autori convengono che grazie agli studi sperimentali *“è stato dimostrato che i guanti e gli strumenti utilizzati per esaminare le prove possono venire contaminati non solo da trasferimento diretto di DNA, ma anche da quello indiretto, da altri oggetti esaminati. Prese insieme queste osservazioni identificano la possibilità che nel sopralluogo o nell'esaminare o repertare una prova un operatore può inavvertitamente trasferire DNA da un oggetto ad un altro o a differenti siti sullo stesso oggetto anche se indossa appropriati indumenti protettivi come i guanti. È pertanto cruciale che misure appropriate vengano impiegate, dove possibile, per ridurre il rischio di questi eventi di contaminazione. Le ricerche scientifiche più recenti hanno anche dimostrato che il trasferimento di*

Prof. Adriano Tagliabracci
Dott. Valerio Onofri
Sezione di Medicina Legale
Università Politecnica delle Marche

DNA può avvenire tra differenti siti di un oggetto all'interno del contenitore durante il trasporto tra la scena del crimine ed il laboratorio.

La conclusione degli autori è la seguente:

- *“non è possibile utilizzare la quantità di DNA recuperato dalla superficie per stabilire se il DNA è stato depositato da un singolo tocco o da uso regolare e più intenso”;*
- *“non c'è correlazione tra un profilo completo o parziale e la quantità di DNA”;*
- *“la qualità di un profilo di DNA non può essere utilizzata per stabilire se il DNA appartiene all'ultimo utilizzatore”;*
- *il numero di fattori coinvolti nel trasferimento di DNA, e l'effetto di questi, è sconosciuto”.*

Sul gancetto del reggiseno di Meredith persistono DNA di molti soggetti, non meno di tre di sesso maschile. L'interpretazione errata della Polizia Scientifica stabilisce la presenza di un solo contribuente maschile, Raffaele Sollecito. Queste conclusioni relative a dati scientifici documentati consentono di concludere che due sono le possibilità relativamente al gancetto del reggiseno di Meredith: o si ammette che vi siano stati molti aggressori che hanno insistito sul gancetto oppure si riconosce che il reperto è stato contaminato.

Nell'articolo scientifico “Highlights of the conference *The hidden side of DNA profiles: Artifacts, errors and uncertain evidence*”, pubblicato sulla rivista *Forensic Science International Genetics* gli autori, Vincenzo Pascali dell'Università Roma Cattolica e Mechthild Prinz, presidente dell'International Society of Forensic Genetics (ISFG), riportano la sintesi degli interventi dei nove relatori della conferenza “*The hidden side of DNA profiles*” tenutasi a Roma i giorni 27-28 aprile 2012 ed organizzata dallo stesso Pascali. Buona parte dei relatori ha fatto riferimento al caso Kercher nella propria discussione. Di rilievo:

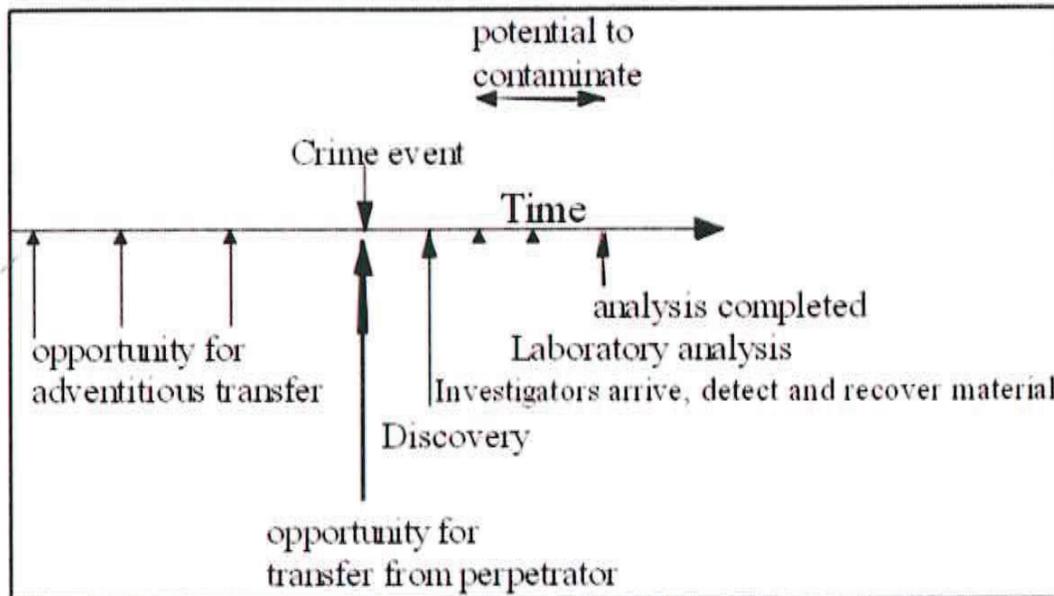
- Prinz: *“tutti i laboratori criminalistici devono usare tecniche validate e ad adottare un efficace sistema di controllo della qualità”* (con riferimento alle imperizie della Polizia Scientifica nel caso Kercher)
- Balding: *“nessuno può conoscere da dove provengono i nuovi alleli classificabili come drop-in”* (ovvero nessuno è in grado di stabilire come si sono creati artefatti di PCR o alleli spuri dovuti a contaminazione)
- Gill: *“oggi la comunità scientifica sa che il trasferimento di DNA è un fenomeno molto più semplice a verificarsi di quanto si credesse in passato”;*

*Prof. Adriano Tagliabracci
Dott. Valerio Onofri
Sezione di Medicina Legale
Università Politecnica delle Marche*

“grande cautela deve essere riposta nel dedurre un’azione, ad esempio l’accoltellamento, semplicemente dalla presenza di DNA sul manico del coltello”;

“la rilevanza della prova e il valore probatorio di un profilo di DNA sono due temi separati e come tali devono essere trattati”.

Altrimenti, spiega, si cade nel cosiddetto “effetto CSI” ovvero della leggerezza con cui si trovano e si valorizzano incautamente alcune prove con effetti altamente scenografici, ma svuotati di ogni valore scientifico. Un grafico proiettato dallo stesso autore mostra anche come gli eventi di trasferimento e contaminazione sono egualmente possibili prima, durante e dopo l’evento delittuoso:



In questa occasione, la preoccupazione ricorrente tra gli scienziati presenti, italiani e internazionali, è stata che, se il gancetto del reggiseno e la traccia sul coltello venissero infine considerati probanti, questo creerebbe un pericoloso precedente nella giustizia italiana che, nella migliore delle ipotesi, giustificerebbe d’ora in avanti la pratica dell’incuria e dell’inosservanza di procedure di qualità nella repertazione delle prove e nella loro analisi, catapultando di fatto le indagini scientifiche indietro di molti anni.

La contaminazione in laboratorio ed i controlli negativi.

A pag. 67 delle motivazioni della Corte di Cassazione, si riporta che, secondo il prof. Novelli consulente del Pubblico Ministero, della contaminazione deve esser dimostrata l'origine, il veicolo. Si stabilisce anche che la dimostrazione del fenomeno contaminazione spetta alla difesa. Questo è indubbiamente il più grave errore scientifico argomentato in queste motivazioni ed abbiamo spiegato, anche con esempi, il perché la contaminazione non può essere dimostrata nella maggior parte dei casi. Ma, anche ammettendo che la difesa debba dimostrare i possibili veicoli e fenomeni che hanno generato i profili contaminati, come può svolgere questa mansione se **a distanza di 6 anni ancora non è stato possibile ottenere i raw data, compresi i controlli negativi ???**

Spieghiamo cosa sono i controlli negativi (o "bianco"): sono provette nelle quali il DNA è deliberatamente escluso. La procedura in un'indagine di genetica forense è la seguente:

- sopralluogo: effettuare un bianco ambientale, cioè un prelievo nelle vicinanze della traccia biologica identificata, così da poter "tarare" il background, il DNA presente nell'ambiente come rumore di fondo; questa fase è documentata con foto e/o videoriprese;
- estrazione del DNA: effettuare un bianco per ogni sessione, inserendo una provetta con i reagenti ma senza DNA, in tal modo si può ricostruire se i reagenti sono inquinati; questa fase è documentata dal registro di laboratorio o dal log file del robot di estrazione;
- quantizzazione del DNA (PCR): analizzare il bianco di estrazione (o bianchi se sono più sessioni di estrazione) ed in più effettuare un bianco per ogni sessione di PCR (NTC, *non template control*), inserendo una provetta con i reagenti ma senza DNA, in tal modo si può ricostruire se i reagenti sono inquinati; questa fase è documentata dal log file della real-time e dallo strumento di *liquid handling* con cui è stata preparata la reazione;
- PCR: effettuare un bianco per ogni sessione di PCR, inserendo una provetta con i reagenti ma senza amplificato: questa fase è documentata dal log file dell'elettroforesi capillare e dai *raw data* risultanti;
- per la certificazione di qualità ISO9001, deve essere documentata l'analisi dei controlli negativi (numero di controlli negativi che non rispettano i criteri stabiliti, ovvero i falsi positivi, diviso il numero dei veri negativi) così da adottare le adeguate azioni correttive: stop delle attività di laboratorio, eliminazione dei presunti reagenti contaminati, decontaminazione di ambienti e strumentazioni.

In nessuno dei processi finora svolti sul decesso di Meredith emergono mai i controlli negativi dell'estrazione di DNA (SWGDM, *Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by*

Forensic DNA Testing Laboratories). Questi avrebbero dovuto essere presenti e sottoposti a quantizzazione al pari dei reperti. Dai report di quantizzazione non è presente nessun controllo. Come risulta possibile pertanto escludere che il laboratorio della Polizia Scientifica non sia affetto da contaminazione di DNA?

Relativamente ai pochi documenti inerenti i controlli positivi e negativi depositati durante l'udienza del 5 settembre 2011 (controllo neg.doc, controllo pos.doc, I Sample Info REP.36-B.doc, II prova 36-B.doc, II Sample Info REP. 36-B.doc, Rep.165-B.doc), si segnala che:

- 1) dal file I Sample Info REP.36-B.doc può essere dedotto che il controllo negativo (ID778) e il controllo positivo (ID777) siano controlli di qualità relativi alla sessione di analisi del reperto ID771 (traccia B del reperto 36, coltello);
- 2) gli elettroferogrammi di questi controlli non sono stati forniti e quindi non è possibile valutarli;
- 3) vengono forniti invece gli elettroferogrammi di un controllo negativo (ID732) ed uno positivo (ID731) di cui tuttavia non è possibile risalire a quale sessione di lavoro si riferiscano né a quale procedimento (potrebbero in realtà essere controlli di un altro caso giudiziario);
- 4) del reperto 165B-gancetto non viene fornito alcun controllo né positivo né negativo: a tutt'oggi non esiste ancora alcuna evidenza che esistano controlli di qualità di PCR relativamente a questo reperto;
- 5) è pur tuttavia improbabile che i controlli 731 e 732 siano riferiti al gancetto, dal momento che, se come si auspica la numerazione dei campioni è progressiva, devono essere precedenti al reperto 36-B (771), quindi precedenti al 13 novembre 2007; il gancetto è stato invece analizzato dal 29 dicembre 2007 in avanti.

Il prof. Novelli, relativamente alla traccia 36-B del coltello, ha dichiarato in Corte d'Appello di aver personalmente controllato 103 profili genetici relativi al caso e conclude di non aver mai trovato l'evidenza della contaminazione, tanto basta per escludere che ci siano state contaminazioni di laboratorio. Tuttavia non spiega quali criteri ha adottato per effettuare questa revisione, ad esempio se abbia controllato i *raw data* delle sole tracce od anche dei controlli negativi. Resta l'interrogativo sul perché il consulente dell'accusa ha avuto accesso a questi dati mentre i consulenti delle difese e persino i periti no. Inoltre, il lavoro del prof. Novelli è lodevole, ma non è assolutamente sufficiente per escludere la contaminazione di laboratorio. Infatti, se le misure di prevenzione della contaminazione in laboratorio sono state le stesse adottate durante i sopralluoghi, è lecito attendersi

*Prof. Adriano Tagliabracci
Dott. Valerio Onofri
Sezione di Medicina Legale
Università Politecnica delle Marche*

che i reperti siano stati manipolati, fotografati, misurati, campionati, testati per la presenza di liquidi biologici e avviati all'estrazione del DNA senza cautele; senza ad esempio cambiare i guanti frequentemente, senza decontaminare pinzette, righelli, microscopi e fotocamere, eccetera eccetera...

Non ci si meravigli, non sarebbe la prima volta. Stando a quanto riporta la stampa infatti, la Polizia Scientifica di Roma avrebbe già contaminato parte di un reperto utilizzando delle pinzette contaminate da un campione di un altro caso giudiziario analizzato poco tempo prima:

la Repubblica PALERMO.it

Mafia, la Scientifica contamina il Dna dei misteri Stop alle indagini sul fallito attentato a Falcone

Una manovra errata in laboratorio sulla muta da sub ritrovata nell'89 accanto all'esplosivo ha compromesso l'inchiesta dei pm di Caltanissetta sui servizi deviati. Tutta colpa di una pinzetta non sterilizzata: così, il codice genetico di un feto si è sovrapposto a quello del misterioso attentatore
di SALVO PALAZZOLO

I raw data.

Sono i *files* strumentali dell'elettroforesi capillare con i risultati dell'analisi genetica. Essendo imm modificabili costituiscono il dato **oggettivo** che può essere poi sottoposto a interpretazioni diverse se analizzato attraverso criteri o operatori differenti. Essi devono essere importati in un software di analisi che li traduce in picchi allelici colorati, diventando così elettroferogrammi. Elenchiamo i motivi per cui essi devono essere messi a disposizioni di tutte le parti in un processo:

- per poter effettuare, seguendo le raccomandazioni delle società scientifica internazionale, un'analisi **indipendente** e verificare così che l'interpretazione non sia viziata da inesattezze involontarie ovvero dolose;
- per poter zoomare su picchi allelici di interesse ed appurare, ad esempio, che una traccia ritenuta originata da un singolo contributore non sia al contrario una traccia mista;
- per verificare le condizioni dello strumento e desumerne l'efficienza e la riproducibilità tra *run* diverse (tra campione e campione);
- per verificare la presenza e la sequenza dei campioni iniettati e la corrispondenza con i report di laboratorio;

Prof. Adriano Tagliabracci
Dott. Valerio Onofri
Sezione di Medicina Legale
Università Politecnica delle Marche

- per controllare se siano presenti i picchi dei *primers* (inneschi di reazione) e quindi che non siano state fatte concentrazioni o post PCR *clean up* (purificazione dell'amplificato), operazioni queste che magnificano il dato già esistente ma che sono fortemente soggette alla contaminazione post-PCR.

Nel caso di specie, i *raw data* relativi gli accertamenti svolti dalla Polizia Scientifica sono stati richiesti motivatamente ed ininterrottamente dal giugno 2008 ma mai consegnati, neanche durante la perizia della Corte d'Appello. Senza giri di parole, **la mancata consegna dei *raw data* e degli altri report di laboratorio costituisce il maggiore ostacolo per la ricerca della verità su questo orrendo omicidio.**

Forse i controlli negativi semplicemente non sono mai stati realizzati.

Forse i *raw data* sono stati gettati.

Forse alcuni elettroferogrammi sono stati omessi e trattenuti.

A distanza di cinque anni dalle prime richieste di poter avere lettura di questi dati tecnici ancora discutiamo sui "forse" che affliggono l'operato della Polizia Scientifica.

La conclusione è che la "possibile" contaminazione citata nella sentenza di Appello, ovvero il fatto che, per i motivi **scientifici** finora esposti, **non può essere escluso** che il DNA di Raffaele, se a lui appartiene, sia presente sul gancetto per **contaminazione** o per trasferimento e non per apposizione volontaria, è una condizione sufficiente per svuotare il gancetto del reggiseno 165B da qualunque valore probatorio limitatamente all'aspetto genetico-forense. Il tema che dovrebbe guidare le considerazioni finali su questo caso è di riconoscere onestamente che esistono dei limiti che affliggono le prove del DNA e questo è anche il caso dell'omicidio di Meredith Kercher.

Ancona, 27 settembre 2013

Prof. Adriano Tagliabracci



Dott. Valerio Onofri

