



ME SCENE DO

Polizia
scien  **fica**
del Cantone Ticino



TRACCE BIOLOGICHE DNA

Anno

2012

Autore

Spec SF Ka-Man Pun

*MSc in scienze forensi
PhD stud in genetica forense*

Edizione

Polizia
scientifica
del Cantone Ticino



Cos'è il DNA ?

L'acido desossiribonucleico, comunemente denominato DNA, è un polimero organico composto da monomeri. Tra i vari componenti di questi monomeri troviamo le basi azotate, da cui deriva la nomenclatura delle quattro tipologie di nucleotidi: adenina A, citosina C, guanina G e timina T.

Presente in ogni cellula del corpo umano, il DNA contiene il codice ereditario umano. Ma soltanto 2% circa del DNA racchiude informazioni genetiche, come ad esempio il colore degli occhi o la predisposizione a una malattia, ed è pertanto definito "codificante" o "parlante". Il restante 98% circa del DNA si compone di cosiddette sequenze non codificanti, vale a dire "mute" sul piano genetico, e queste sono appunto quelle che interessano le scienze forensi a scopo identificativo.

Analisi genetiche

Ai fini del perseguimento penale, il profilo di DNA è quindi allestito esclusivamente a partire dalle sequenze non codificanti, non incorrendo quindi in alcun problema di tipo etico.

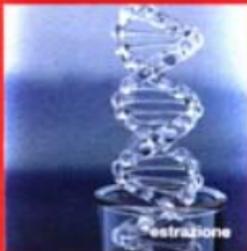
Forse non tutti sanno, ma il merito della scoperta del DNA va al ricercatore svizzero **Friedrich Miescher (1869)**

Solitamente i prelievi DNA vengono effettuati tramite bastoncini ovattati sterili. La prima tappa delle analisi genetiche consiste quindi nell'estrarre da questi bastoncini il DNA prelevato. Questa

operazione viene eseguita usando dei kit commerciali appositi. Alla fine di questa prima operazione, l'estratto è concentrato fino a solitamente 25µl. Qualche µl di questo DNA concentrato viene poi utilizzato al fine di determinare la quantità di DNA a disposizione.

Nel campo della genetica forense, si distinguono due tipologie di tracce biologiche: ricche e povere di DNA.

LE TAPPE DELLE ANALISI DEL DNA



Vengono definite *ricche* quelle tracce caratterizzate da quantità relativamente grandi di DNA, è il caso delle tracce di sangue, sperma e saliva. Infatti, in una minuscola goccia di sangue troviamo già una gran quantità di DNA. Mentre le tracce povere contengono poco materiale biologico, come le tracce di contatto, il che rende anche più difficili le analisi genetiche.

Quantificando il DNA estratto dalla traccia prelevata sui luoghi di reato, possiamo perciò ottenere delle importanti informazioni concernenti la quantità e la qualità del DNA che abbiamo a disposizione. Questi dati ci permettono di ipotizzare la migliore strategia per l'avanzamento delle analisi.

La prossima tappa delle analisi consiste nell'amplificazione del DNA. Questo processo è paragonabile ad una fotocopiatura. In poche parole, si scelgono delle zone nel DNA non codificante, chiamate *loci*. Dopodiché si comincia a copiare queste zone. Lo scopo è ottenere abbastanza copie di queste regioni di interesse per permettere in seguito il passaggio nell'elettroforesi capillare. Ovviamente il numero di copie dipende da fattori come la quantità e la qualità di DNA di cui disponiamo; quindi, se la traccia è ricca di DNA, avremo bisogno di poche copie (generalmente 26-28), mentre se abbiamo raccolto una traccia povera di DNA, saremo obbligati a copiare più volte (di solito 32-34).

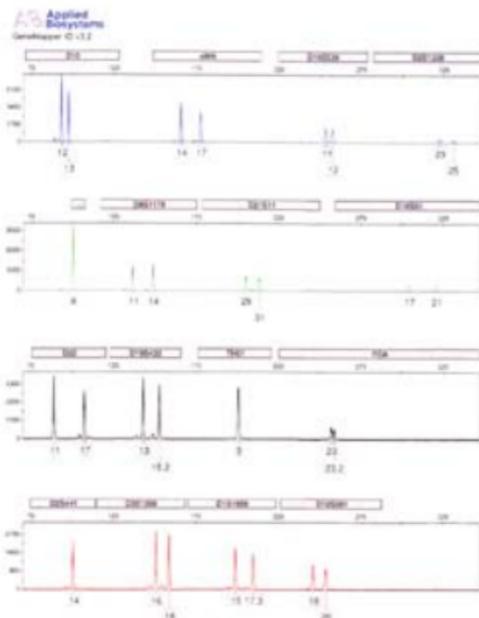
L'ultima operazione è quella dell'analisi tramite un elettroforesi capillare, come già anticipato nel paragrafo precedente. Grazie a questo apparecchio e ad un programma specializzato, le zone che abbiamo precedentemente copiato vengono separate.

Per un omozigote, la zona di interesse presenterà solo un picco, denominato allele. Un eterozigote avrà invece due alleli.

È più che probabile che più persone possono presentare gli stessi alleli per una data zona di interesse. Ma analizzando in parallelo un numero maggiore di loci, diminuiranno drasticamente questa probabilità fortuita fino al miliardo.

Qui a lato un esempio di profilo genetico di una donna. L'amplificazione è stata eseguita con l'ausilio di un nuovo kit commerciale della ditta Applied Biosystems, denominato *AmpFISTR* NGM PCR Amplification kit.

Questo kit analizza in contemporanea 15 loci e l'amelogenina, che ci fornisce pure l'informazione sul sesso della persona all'origine della traccia prelevata sui luoghi.



TERMINOLOGIA

Profilo completo o parziale

Si definisce completo, un profilo che presenta tutti gli alleli dei loci analizzati nell'elettroferogramma (dal 2013, in Svizzera, 15 loci + l'amelogenina che indica il sesso del donatore del DNA), in caso contrario si parla di profilo parziale.

Profilo misto

Quando due o più persone sono all'origine di una traccia (per esempio, quando più persone bevono dalla stessa bottiglia o guidano lo stesso veicolo), si parla di profilo misto.

Se la quantità di materiale biologico trasmesso alla traccia dai due donatori è differente, si parla allora di frazione maggioritaria (o principale) la parte di DNA in quantità maggiore presente nella traccia, e di frazione minoritaria (o secondaria) per la parte inferiore.

Profilo non interpretabile

Il profilo della traccia è stato estratto con successo, ma la qualità del profilo non è sufficiente a fini di comparazione. Generalmente, si ottengono profili non interpretabili per le tracce degradate e/o contenenti troppo poco materiale biologico. Oppure, in occasione di profili misti complessi, quando più di due o tre persone sono all'origine di una traccia, non è più possibile determinare con certezza ogni singolo profilo donatore di DNA.

Profilo atto solo a confronto locale

Il profilo della traccia è stato estratto con esito positivo, ma non è stato inserito in banca dati EDNA poiché la qualità del profilo non soddisfa i criteri di immissione nell'EDNA, tuttavia è possibile effettuare un confronto mirato, se nel corso delle indagini gli inquirenti nutrono sospetti in una cerchia ristretta di persone.

ESEMPI DI TRACCE BIOLOGICHE



urina e feci



TECNICHE DI PRELIEVO DELLE TRACCE BIOLOGICHE

INTRODUZIONE

Esistono diversi tipi di tecniche di prelievo per le tracce biologiche. Ciò nonostante il principio resta il medesimo ed è relativamente semplice. Tra le tracce di natura biologica, quelle ematiche sono senza dubbio gli indizi più facili da raccogliere grazie alla loro colorazione rossastra.

Attualmente, la tecnica più efficace ed applicata da tutti i servizi di polizia mondiali resta il *bastoncino ovattato* (in inglese, *swab*) *leggermente umidificato*.

Le ricerche forensi ambiscono tuttavia alla scoperta di nuove tecniche di prelievi, novità in grado di "rivoluzionare" il tasso di successo delle analisi soprattutto delle tracce difficili come quelle di contatto.

Tra le proposte scientifiche spicca senza dubbio il nastro adesivo capace di fissare senza rischi di perdite l'insieme

delle cellule epiteliali depositate su una superficie dal malfattore.

Malgrado l'entusiasmo collettivo, recenti studi realizzati dal gruppo di ricerca di DNA dell'Istituto di Polizia Scientifica dell'Università di Losanna incoraggiano a non invertire la tendenza, limitando l'utilizzo di nastri adesivi "speciali" unicamente in rare situazioni e con l'approvazione del laboratorio di genetica forense.

Confrontando tutte le marche di nastri adesivi proposte con la tradizionale tecnica del bastoncino ovattato, i risultati sottolineano che gli scotch esigono infatti tappe più elaborate durante le fasi dell'estrazione del DNA.

Il tutto è accompagnato da sostanziali rischi di contaminazioni a causa dei contatti diretti tra i guanti indossati dagli specialisti e le superfici dello scotch al momento del prelievo.

3 regole per prelevare una traccia biologica :



Evitare ogni genere di contaminazione.

Prelevare la traccia.

Conservare il prelievo nelle migliori condizioni.



SEMPLICI PRECAUZIONI PER EVITARE LE CONTAMINAZIONI

La tecnologia attuale ci offre la possibilità di estrarre profili genetici a partire da semplici tracce di contatto venutesi a creare tra le mani di una persona ed una data superficie. Questo passo in avanti è sì un vantaggio per la polizia scientifica, ma aumenta in parallelo anche i rischi di contaminazioni delle tracce da parte degli agenti durante i sopralluoghi.

Esistono semplici consigli per evitare questo genere di contaminazione: portare i guanti e la mascherina!



Indossare guanti monouso
cambiarli da un luogo all'altro o
da una persona all'altra.

Evitare i guanti personali
sui quali vi è un accumulo del nostro DNA
dovuto all'utilizzo continuo.

Una volta indossati i guanti,
evitare contatti con parti del proprio corpo
(volto, capelli, vestiti, ...)
e di altre persone.



Se non si dispone di mascherine,
evitare di parlare
prima e durante il prelievo
in prossimità della traccia.

Indossare mascherine
limita notevolmente i rischi di
contaminazione anche in presenza di
reazioni incontrollabili del corpo
(tosse, starnuti, ...).



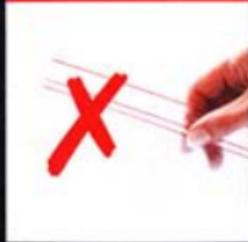
TRACCE SECCHHE (sangue, sperma, saliva, contatto)

SU SUPERFICI TRASPORTABILI

imballare l'oggetto
in un sacchetto di carta



evitare di utilizzare
i sacchetti in plastica



SU SUPERFICI NON TRASPORTABILI DUE TECNICHE POSSIBILI

staccare la traccia dal sup-
porto (incisione, taglio, ...)



imballare il supporto
in un sacchetto di carta



due bastoncini ovattati :
uno umidificato + uno secco



prelevare la traccia
sul supporto



FECI, SIRINGHE

imballare
in recipienti sterili



PELI, CAPELLI

prelevare
con pinza



imballare
in un sacchetto di carta



TRACCE ANCORA LIQUIDE

ANALISI GENETICHE

due bastoncini ovattati
secchi **NON** umidificati



prelevare parte
della traccia liquida



ANALISI TOSSICOLOGICHE

prelevare la parte restante
della traccia liquida



trasferire
in recipienti sterili



RECIPIENTI

due bastoncini ovattati :
uno umidificato + uno secco



prelevare le tracce sulle zone
di contatto con le labbra



trasferire i liquidi
in un recipiente sterile



PER ANALISI
TOSSICOLOGICHE



imballare il recipiente
in un sacchetto di carta

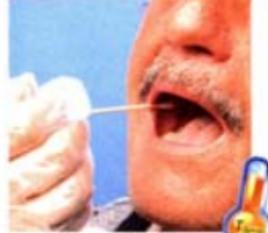


PRELIEVI SU PERSONE

sotto le unghie
della persona



striscio di mucosa orale
SMO

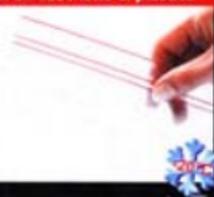


ALIMENTI

UMIDI



Imballare l'oggetto
in un sacchetto di plastica



SECCHI



Imballare l'oggetto
in un sacchetto di carta



PRESERVATIVI

IMPORTANTE

Impedire la fuoriuscita del liquido seminale dal preservativo al fine di salvaguardare le cellule vaginali collocate sulla superficie esterna.

Scegliere una delle seguenti tecniche di prelievo.

Ricorrere alla tecnica del nodo **UNICAMENTE** se non vi sono altre possibilità di applicazione.

avvolgere una minima parte del preservativo all'estremità del tubo e fissare chiudendo il coperchio per bloccare il reparto



chiudere il preservativo con l'aiuto di un clip ombelicale e trasferire poi il reparto in un recipiente sterile

effettuare un doppio nodo sulla parte superiore del preservativo e trasferire poi il reparto in un recipiente sterile



SE POSSIBILE, PRELEVARE IL LIQUIDO SEMINALE

prelevare il liquido seminale tramite pipetta o siringa



trasferire il liquido seminale in recipienti sterili



SUL LUOGO DEL REATO

Durante i sopralluoghi della Scientifica, gli specialisti realizzano una ricerca minuziosa di indizi, utilizzando opportuni accorgimenti tecnici, quali illuminazioni dotate di filtri di diverse lunghezze d'onda, con lo scopo di esaltare il contrasto fra le tracce eventualmente presenti in una scena del crimine e le superfici su cui sono depositate.

Una volta evidenziato un indizio sospetto, di forma ed aspetto compatibile ad una traccia di natura biologica, avvengono le tappe della numerazione, del rilievo descrittivo, della fissazione fotografica ed eventualmente planimetrica, operazioni necessarie per consentire la ricostruzione fedele della scena del crimine ed assicurare la corretta catena di custodia della traccia. In altre parole, si cataloga la traccia in relazione al luogo di rinvenimento attribuendole un numero unico di prelievo, a garanzia della "tracciabilità". Si procede in seguito alle riprese fotografiche mediante un riferimento metrico alfa-numerico, procedendo dal generale fino ai minimi dettagli.

Per determinare la natura biologica della traccia in questione, si utilizzano dei test indicativi in grado di reagire in presenza di fluidi biologici del corpo umano. Attualmente, esistono test indicativi unicamente per il sangue, lo sperma, la saliva e l'urina.

A questo punto, si procede al prelievo vero e proprio. Esistono diverse metodologie ideate per il prelievo di una

traccia biologica su una scena del crimine, in funzione delle caratteristiche della traccia e del substrato su cui essa è stata depositata.

La tecnica più ricorrente è raccogliere la traccia effettuando dei movimenti rotatori sulla superficie tramite un bastoncino umidificato con l'ausilio di qualche goccia di acqua sterile, in seguito si ripete la medesima operazione utilizzando un secondo bastoncino generalmente secco.

I due bastoncini ovattati vengono poi fissati e sigillati in una scatola di cartone, ad esempio CDS Swab Kit®, tale da permettere la corretta conservazione ed aerazione dei prelievi al suo interno.

Le informazioni relative alla traccia sono iscritte negli spazi appositi presenti sulla scatola: il numero del caso e del prelievo, la descrizione della traccia, il luogo, la data e l'ora del prelievo, la sigla dell'agente responsabile, il numero dei bastoncini contenuti all'interno dell'imballaggio.

I prelievi si conservano nei locali della Scientifica, il cui accesso è garantito unicamente al personale di servizio.

A parte rare eccezioni, i prelievi delle tracce biologiche sono in genere conservati a temperatura ambiente, al riparo di fonti di calore e di luce: l'umidità, il calore e la luce favoriscono infatti la degradazione del DNA potenzialmente contenuto all'interno delle tracce prelevate.

IN SCIENTIFICA

Al rientro in sede, i prelievi delle tracce biologiche sono inseriti nel sistema di registrazione DNA della Scientifica.

L'iscrizione delle informazioni raccolte sui luoghi nel sistema informatico, consente la creazione di apposite etichette da applicare sulle scatole dei prelievi, su cui figura un codice a barre, generato automaticamente dalla banca dati grazie alla fusione dei dati relativi al numero del caso della Scientifica ed al numero del prelievo, rendendo in questo modo ogni scatoletta unica e inconfondibile.

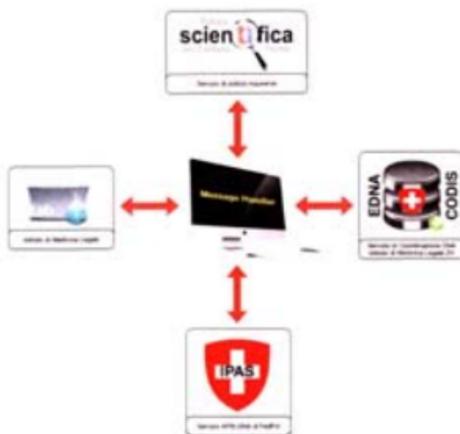
D'intesa con il Magistrato inquirente, si selezionano poi i prelievi più pertinenti e significativi per l'inchiesta da trasmettere al laboratorio di analisi competente per le analisi genetiche.

Ottenuta l'autorizzazione del Procuratore Pubblico, ad ogni traccia viene attribuito un numero di identificazione unico ed anonimizzato, *Process Control Number*, comunemente abbreviato con il termine di PCN.

Le informazioni relative alla traccia da analizzare, accompagnate dal numero PCN, sono immesse nel sistema informatico Message Handler, mezzo di comunicazione allestito tra i servizi di polizia scientifica, gli istituti di medicina legale, il servizio di coordinazione DNA di Zurigo ed il servizio AFIS-DNA dell'Ufficio Federale di Polizia di Berna, quest'ultimo competente per la classificazione centralizzata dei profili genetici di confronto e delle tracce raccolte e compilate dai vari cantoni svizzeri.

Il sistema Message Handler garantisce un trasferimento sicuro dei dati attraverso il portale SSO (Single Sign On).

A questo punto, la polizia Scientifica trasmette per invio postale o brevi manu le tracce biologiche o i prelievi di muco-orale all'Istituto di Medicina Legale competente affinché si allestisca un profilo del DNA.



DALLA SCIENTIFICA ALL'ISTITUTO DI MEDICINA

I mandanti dell'analisi possono incaricare della tipizzazione di campioni o tracce del DNA unicamente i laboratori di analisi del DNA riconosciuti dalla Confederazione e che hanno adempiuto tutti i requisiti sanciti dalle ordinanze pertinenti.

Attualmente, la Scientifica collabora con l'Istituto di Medicina Legale di San Gallo per le analisi delle tracce rinvenute sui luoghi e con il Laboratorio di Diagnostica Molecolare per quanto concerne la determinazione dei profili di autori e di persone sospettate di atti criminali.

Il personale dell'IRM prende in consegna i prelievi ed effettua le analisi genetiche, basate su diverse fasi (l'estrazione del DNA contenuto nella traccia prelevata sui luoghi o nel prelievo della mucosa orale, la quantificazione del materiale biologico estratto, l'amplificazione del DNA grazie ai kit commerciali ed infine la separazione dei frammenti del DNA mediante la tecnologia dell'elettroforesi capillare) che permettono di ottenere il profilo genetico in questione.

I risultati ottenuti sono interpretati e controllati dal responsabile del laboratorio, che a sua volta inserisce nel sistema informatico Message Handler il profilo estrapolato.

Per escludere errori di analisi, i profili sono allestiti mediante una doppia analisi indipendente presso i laboratori di analisi del DNA autorizzati.

L'intero processo fin qui descritto è schematizzato nella figura seguente:

Quanto costa un'analisi DNA?

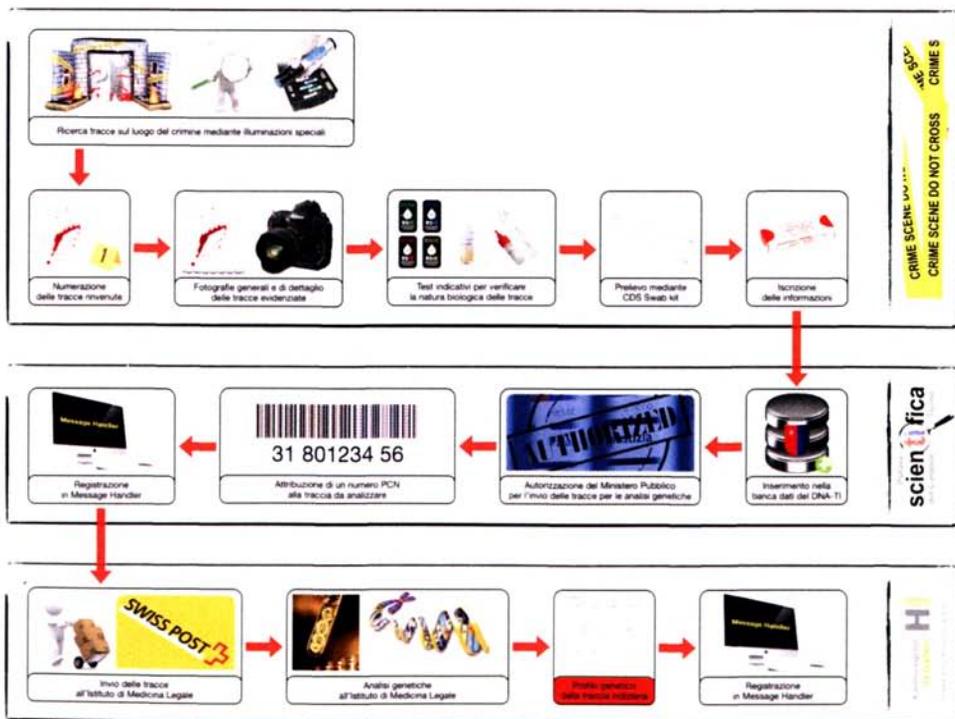
I prezzi possono variare dai Fr. 300 ai Fr. 800 a seconda della qualità del profilo estratto.

A volte, tracce o supporti particolari richiedono fasi di estrazione e/o di amplificazione di DNA supplementari, aggiungendo ulteriori costi.

Per ottenere un profilo di confronto a partire dalla mucosa orale di una persona, il prezzo ammonta invece a "soli" Fr. 200.

Esempi di concentrazione di DNA

1 x cellula umana	6×10^{-12} g
1 ml di sperma	2×10^{-4} g
1 ml di sangue	3×10^{-5} g
1 ml di saliva	2×10^{-6} g
1 x radice di capelli	2×10^{-7} g
1 ml di urina	1×10^{-8} g
1 mg di tessuto muscolare	3×10^{-6} g
1 mg di pelle	3×10^{-6} g



CONFRONTO CON LA BANCA DATI NAZIONALE EDNA

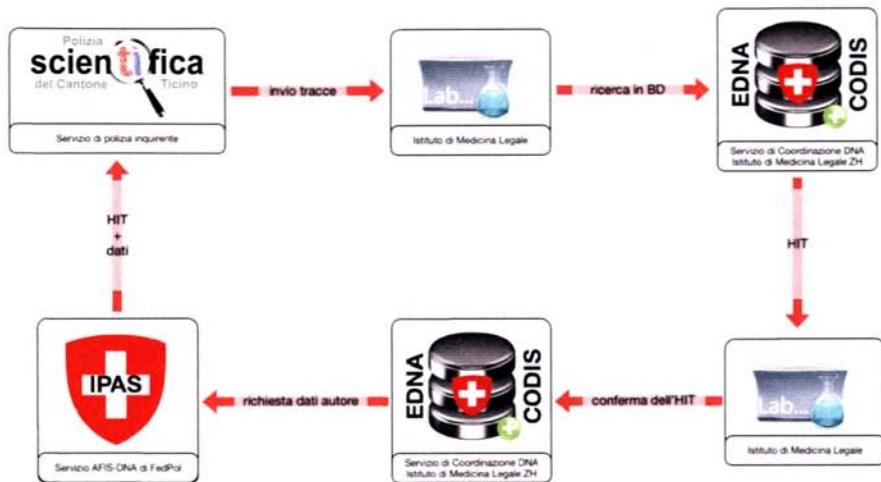
Il Servizio di coordinazione DNA dell'IRM di Zurigo registra il profilo del DNA trasmesso dal laboratorio di analisi competente nella banca dati nazionale, denominata EDNA o SIDNA, in funzione dal 2000 e basata sul sistema CODIS (Combined DNA Index System), creato dall'FBI.

In questa banca dati si registrano profili genetici di persone sospettate di reati e delle tracce rinvenute sul luogo di un reato. Il sistema consente in tal modo confronti automatici ad ampio raggio fra i profili del DNA, che permettono di individuare reati commessi da autori seriali, recidivi e da gruppi che operano in modo organizzato.

Il Servizio di coordinazione DNA di Zurigo confronta il profilo indiziario con quelli già registrati e rinvia poi al la-

boratorio di analisi competente i risultati dei confronti: profilo sconosciuto in banca dati o corrispondenza tra il profilo della traccia e quello di una persona. Ricevuta la risposta, al laboratorio effettua una verifica dell'hit segnalato.

Una volta confermato l'hit, il Servizio di coordinazione DNA di Zurigo trasmette la corrispondenza al gestore della banca dati sul DNA, ossia ai Servizi AFIS-DNA di Berna, i quali mettono in relazione il risultato anonimo con i relativi dati alla persona contenuti nel sistema informatizzato IPAS, trasmettendo infine, sempre tramite Message Handler, un rapporto in merito alla polizia scientifica.



La banca dati con le informazioni sui profili del DNA, per delle questioni di protezione della privacy, è quindi separata dal punto di vista materiale e organizzativo da quella con i dati sulle persone e sui casi. Non da ultimo, per gli stessi motivi, la legge sancisce che i dati devono essere

cancellati e le tracce distrutte d'ufficio non appena non sussistono più i motivi per conservarle, ad esempio in caso di abbandono del procedimento. Alla fine del 2010, nella banca dati EDNA erano registrati 123'293 profili di persone e 30'356 tracce rinvenute sul luogo del reato.

BIBLIOGRAFIA

Confederazione Svizzera, Dipartimento Federale di Giustizia e di Polizia, UFP. <http://www.fedpol.admin.ch/content/fedpol/it/home/themen/sicherheit/personenidentifikation/dna-profil.html> (stato del 29.7.2011).

Girod A, Ribaux O, Margot P, Walsh S. Base de données ADN: un potentiel peu exploité de mises en relations d'événements criminels. *RICPTS* 2004; 2: 131-147.

Haas C, Voegeli P, Hess M, Kratzer A, Bär W. A new legal basis and communication platform for the Swiss DNA database. *International Congress Series* 2006; 1288: 734-736.

Ordinanza sull'utilizzo di profili DNA nel procedimento penale e per l'identificazione di persone sconosciute o scomparse del 3 dicembre 2004 (stato del 5 dicembre 2008), RU 2004 5285.

Picozzi M, Intini A. Scienze Forensi. Teoria e prassi dell'investigazione scientifica. Utet Giuridica: Torino, 2009.

Port NJ, Bowyer VL, Graham EAM, Batuwangala MS, Ruttly GN. How long does it take a static speaking individual to contaminate the immediate environment? *Forensic Science, Medicine and Pathology* 2005; 2(3): 157-163.

Pun KM. Interprétation des profils génétiques obtenus à partir des traces de contact. Mémoire de thèse de doctorat. Institut de Police Scientifique, Ecole des Sciences Criminelles, Université de Lausanne, 2008.