



Le tracce genetiche in una scena d'incendio

✦ Dott. Eugenio D'Orio, Ing. Marcello Mangione

► L'abstract

In un contesto investigativo-forense, le tracce genetiche hanno un'importanza centrale nella ricostruzione della dinamica degli eventi avvenuti nella scena d'incendio per identificare i soggetti responsabili del fatto reato. Tuttavia, spesso, con il preciso fine di cancellare le tracce, molti criminali usano il fuoco come strumento per indebolire l'iter investigativo, rendendo meno fruibili e disponibili le tracce biologiche potenzialmente presenti su una data *scena criminis* o su dei reperti.

Uno dei maggiori meriti di Salvatore Ottolenghi, padre della scuola di scienze forensi italiana, fu quello di intuire come l'indagine di polizia dovesse essere ricondotta nel più generale ambito delle scienze naturali.

Le tracce biologiche presenti sul luogo del delitto sono, infatti, "segni naturali", nel senso di cose, parti della realtà dotate, in quanto tali, di fisicità.

Non a caso i criminalisti inglesi parlano di *physical evidence* per intendere la prova indiziaria.

Dunque i luoghi e le cose che hanno avuto a che fare con un delitto, se opportunamente esaminati, hanno molto da rivelare, sull'identità della vittima, su quella dell'aggressore, sui loro rapporti e più in generale sulle più labili o profonde interrelazioni tra l'agire umano e l'ambiente.

Le tracce genetiche in uno scenario d'incendio

Un contesto investigativo di una scena d'incendio con presenza di tracce genetiche/biologiche è sicuramente complesso, in quanto necessita esperienze e competenze di diversi professionisti: da un lato, i biologi forensi, dall'altro, gli ingegneri forensi.

Infatti, per una idonea analisi investigativa in questi casi, solo il lavoro sinergico tra queste due figure professionali potrà, di fatto, far scaturire un'indagine forense che abbia delle ottime possibilità oggettive di successo.

Nello specifico, in tali indagini vi è la sinergia tra i biologi forensi, appunto *specialist* delle tracce biolo-

giche, e gli ingegneri forensi, *fire investigator, specialist* degli scenari di incendi confinati.

I dati della bibliografia scientifica su tale argomento sono presenti ma non in quantità considerevole. È tuttavia noto che, anche a seguito di incendio, le tracce biologiche hanno discrete possibilità di conservarsi ed essere idonee per l'uso investigativo.

Infatti la degradazione delle tracce biologiche è "focolaio-dipendente", ovvero nel luogo in cui avviene la propagazione dell'incendio e/o eventualmente anche una successiva esplosione le tracce biologiche, essendo particolarmente esposte al fenomeno del fuoco, subiscono considerevoli danni strutturali. Tali danni che le cellule biologiche ricevono causano fenomeni di lisi cellulare e genetica, portando spesso all'impossibilità di ottenere un profilo genetico idoneo per il futuro utilizzo investigativo.

Inoltre, alcuni studi descrivono come, in caso di incendio, le tracce biologiche hanno una degradazione "substrato-dipendente", ovvero ad incidere profondamente sullo stato delle tracce biologiche è il materiale sul quale esse poggiano.

È infatti stato ben descritto che tracce biologiche presenti su substrati quali il "Nylon" hanno una notevolissima degradazione in caso di incendio.

La stessa cosa non si verifica, invece, per le tracce biologiche presenti su substrati quali il "poliestere", principale componente di molti vestiti.

Inoltre, si evidenzia anche che tracce ematiche assumono, a seguito di incendio, caratteristiche fenotipiche (ossia visibili) differenti a seconda del tessuto corporeo considerato. Infatti si è dimostrato che tracce di sangue, a seguito di incendio, assu-

● Marcello Mangione, PhD

Laurea e dottorato di ricerca in Ingegneria Strutturale, ricopre il ruolo di Ufficiale Tecnico dell'Arma dei Carabinieri. Progettista antincendio su strutture a destinazione civile e militare e variegate docenze, anche universitarie, nel settore della progettazione e dell'investigazione prestazionale sugli incendi. Attualmente si occupa di *Ingegneria Forense*, svolgendo diversi incarichi per varie Procure in qualità CTU quali: tragedia della discoteca di *Corinaldo*, incendio stabilimento *Tontarelli*, omicidio con incendio su autovettura a Benevento, ecc.

● Eugenio D'Orio, MSc forensic Biologist

Laureato in Biologia molecolare e perfezionato in "Forensic science & DNA analysis". Già ricercatore di biologia forense presso l'Università di Copenaghen; già Professore Aggiunto di "biologia forense" presso l'Università di Milano "UNISED"; già Direttore del Master in "biologia forense e investigazioni scientifiche" offerto dall'ISF. Perito e Consulente Tecnico presso l'Autorità Giudiziaria. Docente di genetica forense presso l'Università di Napoli "Federico II". Presidente della Associazione Unione dei Biologi Forensi Italiani (UniBioFor), direttore scientifico del corso di alta formazione in "biologia e genetica forense" offerto dall'Ordine Nazionale dei Biologi, ONB, e membro della Commissione di studio per la "biologia forense" della delegazione per Campania e Molise dell'ONB.

mono una colorazione che va tra il marrone-scuro ed il nero; invece tracce di sperma restano invariate nella loro colorazione.

Ciò, di fatto, si verifica per via della particolare composizione proteica del sangue. Infatti le cellule ematiche sono ricche della proteina "emoglobina", la quale ha in sé un pigmento rosso.

In caso di incendio, ovvero esposizione prolungata nel tempo ad elevate temperature, avviene un viraggio colorimetrico; il pigmento rosso dell'emoglobina, per denaturazione calore-indotta, va verso colori più scuri, quale appunto il marrone scuro.

Tali caratteristiche colorimetriche talvolta sono rilevabili dagli operatori ad occhio nudo, talvolta invece sono rilevabili grazie all'utilizzo di particolari luci forensi che sono in grado di esaltare e esaltare le tracce latenti ovvero non più visibili all'occhio umano per ridotta dimensione o elevata degradazione. Altri studi di settore, inoltre, hanno simulato uno scenario di incendio in una abitazione a più stanze. Nelle diverse stanze sono state poste una serie nota di tracce biologiche.

A seguito dell'incendio si è potuto apprezzare che nella stanza di innesco, ovvero quella dalla quale le fiamme si sono originate, le tracce biologiche ancora fruibili ed identificabili ammontavano al solo 25% delle tracce totali depositate prima dell'incendio.

Diversamente, nelle altre stanze dell'appartamento, anch'esse interessate dalle fiamme, le tracce biologiche ancora identificabili e fruibili per le indagini ammontavano all'80% del totale delle tracce prima depositate.

Tali dati scientifici danno notevole fiducia agli investigatori, in quanto si evidenzia che la compromissione totale delle tracce biologiche non si verifica (neanche nell'ambiente di innesco) e che negli ambienti pertinenti, seppur interessati dalle fiamme, vi saranno notevoli probabilità di trovare ancora tracce biologiche utili.

Tali dati, sotto il profilo investigativo – scientifico, sono davvero soddisfacenti e soprattutto confermano che, anche se i colpevoli di un dato reato provano, a mezzo di incendio, a cancellare le tracce biologiche su una data scena del delitto, vi sono buone probabilità di rinvenire tracce biologiche degli autori del reato nonostante lo scenario di incendio usato per indebolire l'attività investigativa. Va inoltre sottolineato che la degradazione delle tracce biologiche per danno da fuoco, da un punto di vista biologico, può essere sempre valutata in maniera duplice: infatti la cellula biologica si compone, strutturalmente parlando, di nucleo e di altri



ADV

organelli intra-cellulari, tra cui i mitocondri. Nel nucleo, così come nei mitocondri, è presente materiale genetico che, per prassi, viene analizzato per scopi investigativi.

È tuttavia doveroso specificare che il materiale genetico del nucleo e del mitocondrio è profondamente differente. Infatti, il DNA nucleare è l'unico dei due che permette, tramite l'utilizzo di particolari tecniche di genetica molecolare, di arrivare a definire un profilo genotipico che sia unico ed univoco per ciascun individuo. Il DNA presente nel mitocondrio non ha questa peculiarità perché si trasmette intatto, di generazione in generazione, di madre in figlio. Per tale fenomeno di trasmissione, il DNA mitocondriale, investigativamente parlando, può unicamente dare informazioni circa il ceppo familiare materno del soggetto che ha rilasciato la traccia.

Un'altra importante differenza tra questi due DNA, che certamente è applicabile nella valutazione del progressivo danno biologico causato dall'incendio, è la struttura dei due DNA.

Il DNA nucleare è una molecola composta da 46 cromosomi, un'elica a doppio filamento di basi azotate. Invece, il DNA mitocondriale è un'unica molecola circolare. La conformazione spaziale, circolarità della molecola nel caso del DNA mitocondriale, assicura una maggiore resistenza a tutti i fenomeni di degradazione esterni, tra cui anche il fuoco o il calore associato a questo.

Va inoltre aggiunto che il DNA nucleare è presente in singola copia all'interno di una cellula biologica, mentre il DNA mitocondriale è presente da cento a mille copia per cellula biologica. Dunque, grazie ai fattori di presenza numerica e conformazione della molecola, il danno che progressivamente è prodotto dal calore del fuoco è valutabile riferendosi all'indice di degradazione DNA nucleare/DNA mitocondriale. Uno studio così posto in essere, aiuterebbe certamente a capire anche l'andamento progressivo della degradazione cellulare ed aiuterebbe anche a capire i luoghi ove si sono raggiunte le massime

The most common places to find DNA evidence are:

- Blood
- Saliva
- Hair
- Semen



BLOOD



SKIN



SALIVA



TISSUE UNDER NAILS



HAIR



SEMEN

Also find in:

- Urine
- Bone
- Skin cell

Figura 1 | Overview dei principali reperti biologici che si trovano sulle scene crimini

temperature che hanno poi causato ovviamente il massimo dei danni sul materiale biologico. La figura in alto rappresenta i reperti biologici maggiormente presenti sulle *scene crimini*

Le tracce biologiche

Le prove biologiche nella *Fire Investigation* possono essere di varia natura. Esse al fine di poterle catalogare devono far parte di una metodologia investigativa standardizzata che rappresenta un

potenziale ausilio per la ricerca delle prove nelle attività di *Fire Investigation* applicabile in tutti i casi di incendi confinati.

L'esigenza di codificare le operazioni è molto sentita negli ambienti delle forze di polizia scientifica, ove l'utente, che viene interessato a condurre le indagini investigative, spesso non possiede un chiaro quadro complessivo delle operazioni e controlli da svolgere sulla scena con il rischio di bypassare determinate verifiche e quindi non reperire tracce peculiari in ambito forense.

Di notevole importanza è quindi la raccolta degli eventi significativi della scena da eseguire nell'immediatezza dell'incendio, al fine di consentire il congelamento della scena al momento del reperimento, quando ancora lo stato dei luoghi non è stato modificato da terzi.

A volte, infatti, alcuni particolari possono sfuggire anche all'investigatore più attento e, in seguito, diventare un rilevante "imprevisto" nel prosieguo delle indagini. In questi termini, ad esempio l'intervento dei VV.F., la durata presunta dell'incendio, la fotografia integrata da rapporti descrittivi ecc., possono assumere, a livello forense, un valore di prova. Esistono quindi varie criticità negli scenari di incendio nella ricerca delle evidenze biologiche.

A titolo di esempio le caratteristiche fenotipiche indotte da incendio sulle tracce biologiche si presentano nel seguente rappresentato in figura 2.

Durante il reperimento occorre stare attenti a quegli eventi che potrebbero comportare delle altera-

zioni della scena e degli indizi di natura biologica. Ad esempio le impronte presenti in una scena dolosa spesso possono essere compromesse per effetto del necessario spegnimento che i VV.F. operano per placare la magnitudo dell'incendio.

Dalla prova scientifica a "oltre il ragionevole dubbio"

L'investigazione, presuppone il verificarsi di un evento delittuoso e prende avvio dalla notizia *criminis*, con l'espletamento di indagini dirette e indirette.

Le indagini dirette sono dette anche **indagini di acquisizione probatoria oggettiva**, dal momento che si svolgono direttamente su cose, luoghi o situazioni pertinenti al reato e comportano un'analisi degli elementi ritrovati sulla scena, per esempio i rilievi planimetrici, fotografici, analisi di laboratorio sui reperti e così via.

Le indagini indirette invece, o **indagini di acquisizione probatoria soggettiva**, esplicate successivamente e in parallelo con quelle dirette.

Diverso ma connesso problema è se il giudicante sia in grado, non essendo "esperto del settore", di capire se la prova scaturita è alterata o di percepirne le eventuali modifiche.

Nella realtà, le indagini compiute vengono messe in discussione solo nel contraddittorio fra le parti, ed è in questo momento che emergono le questioni che formeranno poi i temi per la valutazione della prova. >

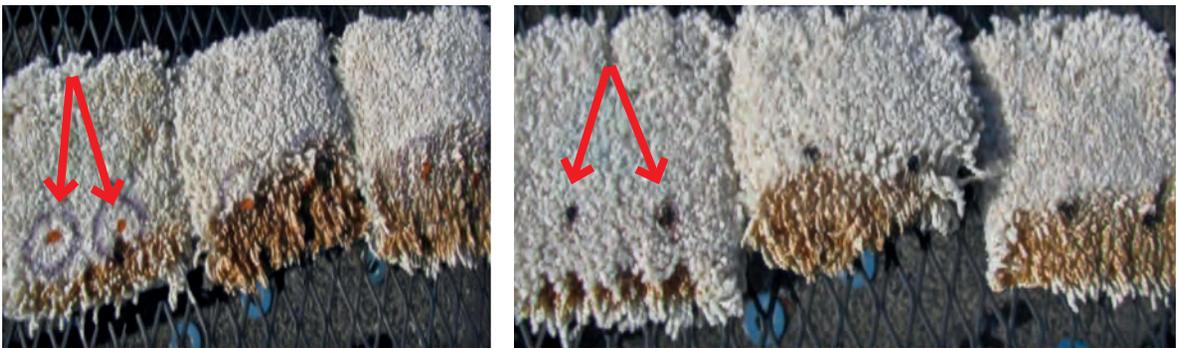


Figura 2 | Modifica colorimetrica di tracce biologiche su medesimo substrato a seguito di incendio

In sintesi, occorre che il controllo del giudice si eserciti sia all'inizio, nel momento dell'ammissibilità della prova, sia alla fine, nella valutazione del risultato. Proprio in merito al controllo del giudice degli atti posti in essere, onde assicurarne qualità oggettiva e il rispetto delle formalità e procedure prescritte, una nuova linea di pensiero in dottrina giuridica, portata avanti dal giudice *G. Francione*, suggerisce l'istituzione di figure di supporto attive proprio in queste fasi preliminari. Nello specifico, si parla della figura del "consulente pro ignoto", alle dipendenze della magistratura giudicante (non inquirente) che affianca la PG nelle indagini sin dai primi atti, ed ha il compito di assicurare la qualità dell'operato e di presentare osservazioni e richieste volte a garantire il massimo dell'efficienza ed il rispetto di tutte le procedure, scientifiche e giuridiche, nello svolgimento dei primi atti tecnici di investigazione.

Così intesa, tale figura professionale è di supporto al corretto svolgimento dell'apparato giudiziario ed anche fonte di garanzia per la PG operante e per l'indagato, anche se questo/i ancora deve essere identificato. Il rapporto di causalità non può rite-

nersi sussistente sulla base del solo coefficiente di probabilità statistica ma deve essere verificato alla stregua di un giudizio di alta probabilità logica.

Il termine ragionevole indica l'insufficienza, la contraddittorietà e l'incertezza probatoria, quindi il plausibile e ragionevole dubbio si fonda su specifici elementi che in base all'evidenza disponibile lo avvalorino nel caso concreto.

La ricerca delle tracce è principalmente volta all'individuazione, alla documentazione e asportazione anche dei frammenti di impronte papillari, che sulla scena del delitto possono essere di due tipi: **impronte visibili e impronte latenti**.

Le **impronte visibili** sono quelle:

- ▶ che si producono per contatto delle superfici digitali imbrattate di sostanze di varia natura (sangue, inchiostro, vernici, ecc.) su superfici rigide generando **impronte per sovrapposizione**;
- ▶ prodotte dalla pressione o affondamento delle creste papillari su sostanze malleabili, come cera, e così via, generando **impronte per modellamento**.



Figura 3 | Estrapolazione di impronte da una porta

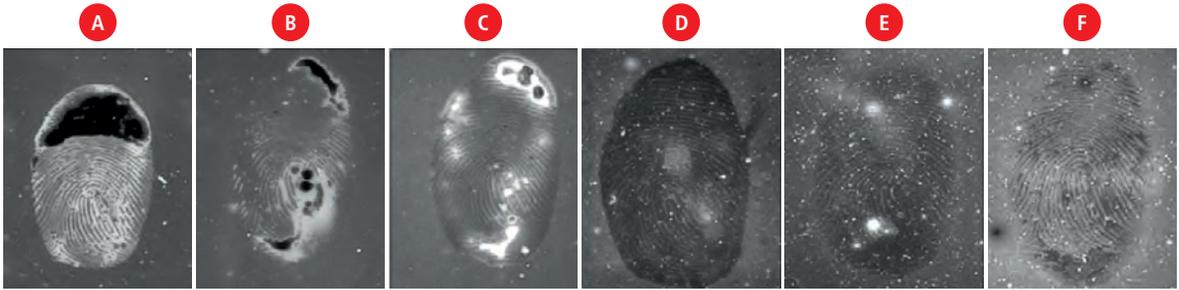


Figura 4 | Impronte su materiale ceramico al variare della temperatura

In genere questi tipi di impronte riguardano superfici che possono essere asportate con l'intero substrato su cui sono impresse e debbono perciò essere fotografate con gli opportuni accorgimenti tecnici, quali filtri, luce polarizzata, luce radente, al fine di esaltare il contrasto con la superficie stessa su cui si trovano.

Sempre più frequenti sono le richieste di intervento volte a esaltare frammenti di impronta sui cruscotti di autoveicoli, costruiti in materiale plastico.

La figura 3 mostra una tecnica per la rimozione della fuliggine al fine di individuare **la presenza di im-**

pronte papillari e di tracce di sangue lasciate sulla superficie di una porta prima dell'incendio.

La figura 4 mostra invece delle impronte su ceramica, evidenziate mediante *Vacuum Metal Deposition* (VMD), dopo che le superfici sono state esposte rispettivamente a:

- ▶ A) 500°C 5 minuti
- ▶ B) 500°C 15 minuti
- ▶ C) 700°C 5 minuti
- ▶ D) 700°C 15 minuti
- ▶ E) 900°C 5 minuti
- ▶ F) 900°C 15 minuti

>

ADV

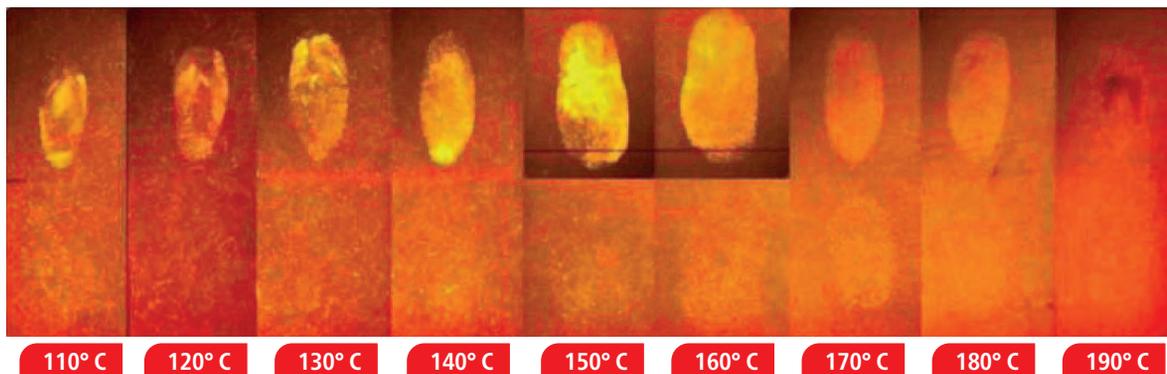


Figura 5 | Tracce papillari al variare della temperatura

Anche nelle condizioni estreme di un incendio è possibile quindi individuare tracce di interesse ai fini forensi. Al riguardo il lavoro svolto da *Harper* nel 1938 ha dimostrato che vi è la possibilità di individuare tracce papillari su oggetti esposti a temperature comprese tra **100 e 200 °C** come meglio mostrato in figura 5.

DNA e incendio

Gli effetti del calore sul DNA non creano solo danni. La ricerca scientifica su *DNA evidence & fire investigation* è in fase di enorme crescita soprattutto all'estero. Attualmente la ricerca scientifica in materia di genetica forense sta tendendo sempre più all'accuratezza ed all'assicurazione della robustezza del dato analitico. Nella fattispecie vi sono attualmente in corso in molteplici università studi sul DNA degradato e studi di interpretazione dei profili misti. Gli studi delle metodologie per l'analisi e l'interpretazione del DNA degradato riguardano molto da vicino anche la Fire investigation. Infatti, con l'implemento delle metodologie analitiche, certamente le informazioni genetiche provenienti da scenari di incendio potranno avere una resa maggiore e, di conseguenza, anche un'applicazione maggiore in campo investigativo. In altri termini, tali metodologie sono volte a recuperare, e rendere fruibili per le analisi, le tracce genetiche che ad oggi risultano essere "perse" perché troppo degradate.

La figura 6 mostra la trasformazione che subisce.

Si nota come il DNA a doppia elica può essere denaturato. Fisiologicamente parlando, il DNA è una molecola composta da una doppia elica tenuta insieme da legami non covalente tra le basi azotate che compongono la struttura genetica.

La cellula, per svolgere le normali funzioni vitali, "impacchetta" e "spacchetta" di continuo il DNA grazie all'utilizzo di particolari enzimi e ad un processo biochimico di reazioni altamente controllato. Si pensi, infatti, che le cellule biologiche normalmente si replicano. Quando si ha il fenomeno della replicazione cellulare la doppia elica del DNA deve aprirsi (e lo fa grazie a specifici enzimi) e deve replicarsi bi-direzionalmente.

Questa fase, la cd. "sintesi del DNA" è la fase basilare del processo di divisione cellulare. Grazie a questa base le due cellule figlie (che saranno uguali tra loro ed uguali alla cellula madre che le ha generate) avranno il medesimo DNA.

Le moderne tecnologie di studi molecolari e genetici hanno portato alla scoperta, anni orsono, della famosa tecnica della PCR (Polymerase Chain Reaction), secondo la quale il DNA, per effetto di somministrazioni controllate di calore, si denatura prima e si riallinea poi. Questo processo (che è valso il premio Nobel allo scopritore) fu utilizzato per la ricerca in ambito diagnostico-sanitario. Successivamente si è visto che la stessa tecnica ha utili applicazioni anche in contesto investigativo – forense.

Il DNA può denaturare a temperature differenti in

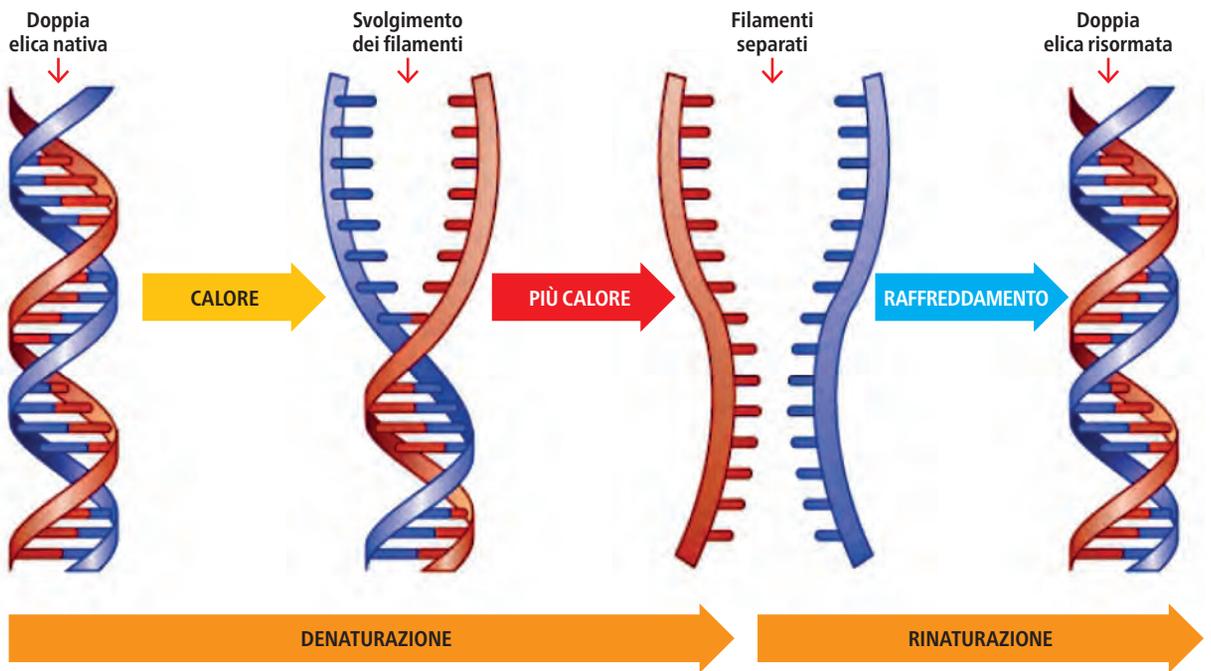


Figura 6 | Processo di denaturazione per effetto del calore del DNA nucleare

base alla sua composizione interna (A-T; C-G) (le basi azotate che compongono il DNA sono quattro, precisamente Adenina, Timina, Citosina e Guanine); queste compongono la struttura del DNA appaiandosi tra loro mediante la formazione di legami non covalenti. Nello specifico, l'Adenina si lega con la Timina e la Citosina si lega con la Guanina. Non sono chimicamente possibili altri legami tra queste molecole.

La figura 7 mostra come un DNA ricco in A-T denatura ad una temperatura media rispetto ad un DNA ricco in C-G. Ciò è spiegabile grazie ad elementari principi di biofisica, infatti la coppia di basi azotate C-G è unita da tre legami non covalenti, mentre la coppia A-T è unita solo da due legami. Ecco perché la denaturazione calore-indotta è relativamente più semplice per tratti di DNA ricchi in A-T.

Ovviamente, tutto ciò conferma il principio secondo il quale il calore, simulato o proveniente da incendio, ha effetti sulla struttura del DNA e, arrivato a certi livelli, causa alterazioni della struttura genetica dapprima riparabili, poi irreparabili a seconda del tempo e della temperatura raggiunta.

A temperature superiori alla T_m il DNA si trova nella forma a singolo filamento

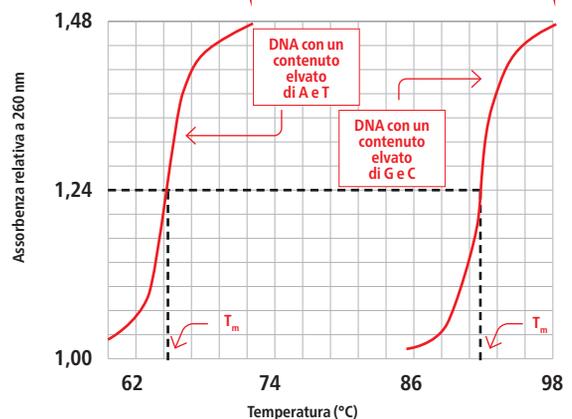


Figura 7 | Temperature medie alle quali avviene la denaturazione delle basi azotate componenti la doppia elica del DNA

In natura esistono due tipi di DNA: nucleare e mitocondriale. Questi DNA si trovano praticamente in tutte le cellule del corpo umano (ad eccezione degli eritrociti, i quali sono privi del nucleo). Questi DNA hanno caratteristiche e peculiarità molto dif- ➤

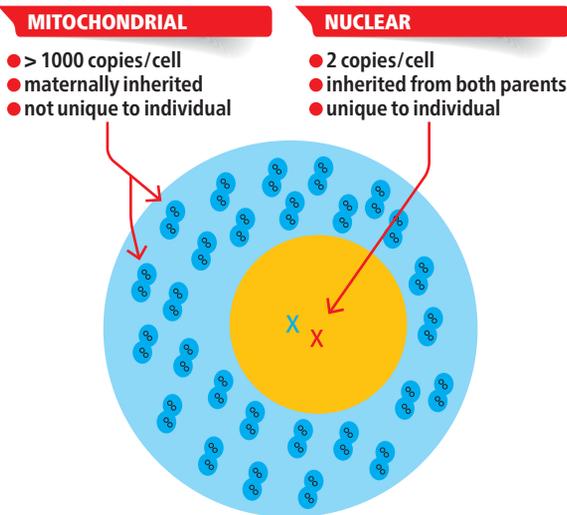


Figura 8 | La cellula biologica. Rapporto tra DNA nucleare e mitocondriale

ferenti tra loro. Fisiologicamente, il DNA nucleare è presente in duplice copia all'interno del nucleo delle cellule umane (ecco perché l'essere umano è geneticamente detto "diploide"); il DNA nucleare è ereditato direttamente dai genitori biologici dell'individuo con equa ripartizione (50% del materiale genetico proviene dal padre biologico e 50% proviene dalla madre biologica); il DNA nucleare si presenta in conformazione "a doppia elica". Il DNA mitocondriale, invece, è presente nel citoplasma

cellulare; è presente, a seconda del tipo cellulare, in numero variabile dalle 100 ad oltre mille copie per cellula; ha una conformazione totalmente circolare; il DNA mitocondriale è ereditato dall'individuo unicamente per via materna (ciò avviene perché, all'atto della fecondazione, per tale intendendosi la fusione tra la cellula dello spermatozoo paterno con quella dell'ovocita materno, il nucleo dello spermatozoo entra nella cellula uovo materna, mentre i mitocondri paterni, presenti nella coda dello spermatozoo, restano al di fuori della nuova cellula che si forma per fusione).

Sotto il profilo delle peculiarità di analisi, il DNA nucleare e il DNA mitocondriale sono profondamente differenti. Il DNA nucleare, grazie alle sue caratteristiche fisiologiche e a particolari kit analitici, è in grado di essere tipizzato (ovvero analizzato) in maniera altamente specifica. Il DNA nucleare consente, in altri termini, di individuare ed identificare in maniera unica ed univoca un determinato individuo e discriminarlo da tutti gli altri presenti nella popolazione umana. Il DNA mitocondriale, invece, vista la sua eredità matrilineare dovuta al processo fisiologico che si verifica all'atto della fecondazione (su brevemente illustrato) non consente di tipizzare

Marcatori "uniparentali" nelle scienze forensi DNA mitocondriale (mtDNA)		
TABLE 14.1 Comparison of Human Nuclear DNA and Mitochondrial DNA Markers.		
Characteristics	Nuclear DNA	Mitochondrial DNA (mtDNA)
Size of genome	≈3.2 billion bp	≈16,569 bp
Copies per cell	2(1 allele from each parent)	Can be >1000
Percent of total DNA	99,75%	0.25% content per cell
Structure	Linear; packaged in chromosomes	Circular
Inherited from	Father and mother	Mother
Chromosomal pairing	Diploid	Haploid
Generational recombination	Yes	No
Replication repair	Yes	No
Unique	Unique to individual (except identical twins)	Not unique to individual (same as maternal relatives)
Mutation rate	Low	At least 5-10 times nuclear DNA
Reference sequence	Described in 2001 by the Human Genome Project	Described in 1981 by Anderson and co-workers

Figura 9 | Comparazione delle caratteristiche del DNA nucleare e mitocondriale

Sample #	BioFluid	Substrate	Donor	Locus	DNA concentrabon (ng/uL)			Mean	StDev	CSF:TH01
					Repeat 1	Repeat 2	Repeat 3			
24	Blood	Polyester	1	CSF	Q 91	0.76	0.77	0.81	0.06	0.575
				THD1	1.48	1.3	1.47	1.42	0.08	
25	Blood	Polyester	1	CSF	4.90	5.09	5.24	5.1	0.11	0.579
				THD1	907	8.7	8.64	8.8	0.19	
20	Blood	Polyester	1	CSF	1.33	1.38	1.34	1.37	0.02	0.537
				THD1	2.03	2.62	2.38	2.54	0.12	
27	Semen	Polyester	1	CSF	19.99	18.26	21.23	19.83	1.22	1.037
				THD1	19.53	18.15	19.68	19.12	0.69	
23	Semen	Polyester	1	CSF	15.26	16.14	15.75	15.72	0.36	1.128
				TH01	13.63	14.14	14.02	13.93	0.22	
29	Semen	Polyester		CSF	98.55	85.73	93.89	92.72	5.3	0.877
				TH01	111.21	101.36	104.66	105.74	4.09	
52	Blood	Nylon	1	CSF	33.20	30.79	N/A	32.03	1.24	0.68
				THD1	49.15	45.08	N/A	47.12	2.04	
53	Blood 4	Nylon	1	CSF	31.77	26.25	N/A	29.01	2.76	0.638
				THD1	46.77	42.19	N/A	45.48	3.29	
54	Blood	Nylon	1	CSF	35.22	29.37	N/A	32.3	2.93	0.665
				TH01	53.91	43.25	N/A	48.58	5.33	
55	Semen	Nylon	1	CSF	156.23	133.95	N/A	145.09	11.14	0.583
				TH01	270.76	227.3	N/A	249.03	21.73	
50	Semen	Nylon	1	CSF	105.38	97.95	N/A	101.67	3.72	0.555
				TH01	183.36	182.93	N/A	183.15	0.22	
57	Semen	Nylon	1	CSF	143.25	134.7	N/A	138.98	4.28	0.49
				TH01	288.57	279.23	N/A	283.9	4.67	
59	Blood j	Nylon	1	CSF	15.56	12.23	N/A	13.91	1.67	1.188
				TH01	12.56	10.84	N/A	11.7	0.86	
60	Blood J	Nylon	1	CSF	1.51	1.46	N/A	1.49	0.03	2.015
				TH01	0.73	0.74	N/A	0.74	0.01	

Figura 10 | Dati riassuntivi di danni biologico/genetici da incendio (CSF;TH01-target)

in maniera unica ed univoca un determinato individuo, bensì permette di risalire unicamente alla famiglia materna di origine (ciò che si indica come "ceppo materno di origine biologica").

Il DNA mitocondriale è il più resistente. Spesso rappresenta il DNA oggetto di accertamenti forensi se il materiale biologico è particolarmente degradato. Infatti, per via delle caratteristiche della conformazione delle molecole genetiche, e del loro relativo numero di presenza all'interno di ogni singola cellula biologica, il DNA nucleare risulta essere molto

più "fragile" del DNA mitocondriale (sia per questioni di numero di copia che per questioni di conformazione; infatti, da un punto di vista della stabilità chimica, la conformazione circolare della molecola assicura un più elevato grado di stabilità anche e soprattutto in relazione a fenomeni di degradazione ambientale, quali il calore, ad esempio).

Il substrato tessile (non l'istologico) incide sulla degradazione del DNA.

La figura 10 ci indica i risultati provenienti da uno studio nel quale si sono analizzati i danni arrea-

ti al materiale biologico/genetico a seguito di incendio. In tale studio sono stati comparati diversi fluidi biologici per valutare se le cellule biologiche di tessuti diversi (in questo caso cellule ematiche e spermatiche) subiscono danni in modo uguale a seguito di calore o invece hanno una denaturazione disomogenea.

Lo studio, inoltre, ha utilizzato e valutato substrati chimicamente diversi con il fine di valutare se la composizione del substrato può incidere sui danni biologico/genetici. Per la valutazione del danno genetico sono stati utilizzati classici marcatori del genoma (che correntemente si utilizzano nella genotipizzazione) quali CSF e TH01; di questi due marcatori, per la valutazione del danno genetico, è stato utilizzato il reciproco rapporto.

Il rapporto tra i loci genetici selezionati non cambia significativamente tra sangue e sperma a seguito di alte temperature.

I seguenti istogrammi (figura 11) mostrano che il rapporto tra specifici loci genici (o marcatori, per intendersi) denominati "CSF" e "TH01", appositamente scelti per lo studio della degradazione comparativa del materiale genetico, mostrano che, a seguito di danni da incendio, tracce biologiche provenienti da tessuto ematico o da sperma patiscono danni genetici in eguale misura.

Ciò, informativamente parlando, è un aspetto interessante, perché assicura che i due tessuti biologici sono ugualmente resistenti ai danni ambientali.

Se si associa ciò al fatto che, specie per le tracce di sperma, talvolta si è in condizione di traccia minima, questa informazione riguardo ai danni ambientali è particolarmente utile perché assicura che la traccia subisce una degradazione "controllata", ovvero non difforme da quanto avviene con tracce provenienti da altri tessuti biologici. Ciò, dal punto di vista investigativo, rafforza le speranze e le probabilità di eseguire campionamenti genetici di successo seppur in condizioni ambientali critiche a causa di incendio.

La comparazione e discussione dei dati di cui sopra, sia quelli tabellari che quelli relativi agli istogrammi, conferma che il danno genetico che le cellule subiscono a seguito di calore/incendio è "omogeneo", per tale intendendosi che le tracce biologiche si denaturano tutte alla stessa maniera.

Nella fattispecie, si sottolinea che tracce biologiche provenienti da tessuti biologici differenti (in questo caso sangue e liquido seminale) hanno il medesimo grado di degradazione calcolato tramite il rapporto tra i marcatori genetici selezionati CSF e TH01.

Tali dati, ancora, dimostrano dunque che, per quanto studiato, la denaturazione cellulare ed il danno

Blood CSF: TH01 distribution

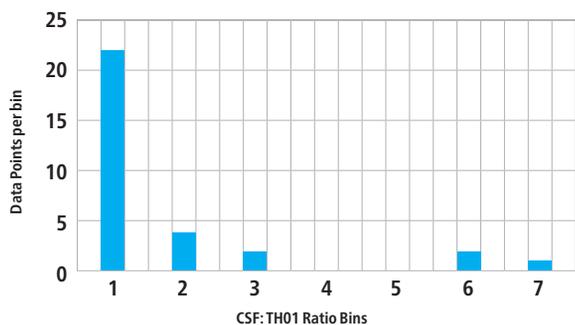


Figure 5: Histogram showing the non-normal distribution of CSF: TH01 ratios for blood samples (n=31). Each bin includes the ratios equal to or less than the bin number (e.g. bin 2 includes all ratios greater than 1 and less than 2).

Semen CSF: TH01 distribution

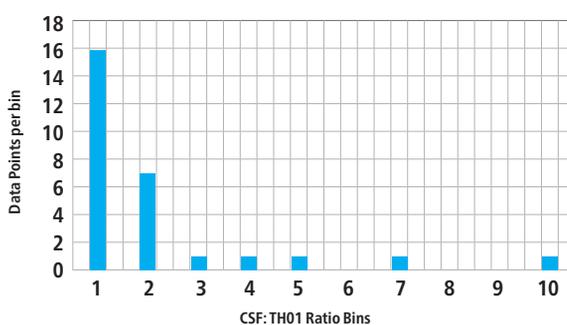


Figure 5: Histogram showing the non-normal distribution of CSF: TH01 ratios for semen samples (n=28). Each bin includes the ratios equal to or less than the bin number (e.g. bin 2 includes all ratios greater than 1 and less than 2).

Figura 11 | Rapporto tra i marcatori genici CSF e TH01 a seguito di danno indotto da incendio/calore in cellule provenienti da sangue e sperma

Comparison	t	t _{xxxx}	Sig Dif.	More Degraded
Blood vs. Semen				
Blood vs. Semen	0.11	2.021	No	N/A
Donor 1 Blood vs. Semen	0.347	2.131	No	N/A
Donor 2 Blood vs. Semen	0.356	2.066	No	N/A
Nylon Blood vs Semen	1.497	2.08	No	N/A
Polyester Blood vs Semen	1.899	2.11	No	N/A
Nylon vs. Polyester				
Nylon vs. Polyester	3.191	2.06	Yes	Nylon
Bood Nylon vs Polyester	2.503	2.131	Yes	Nylon
Semen Nylon vs Polyester	2.411	2.306	Yes	Nylon
Donor 1 Nylon vs. Polyester	1.725	2.201	No	N/A
Donor 2 Nylon vs. Polyester	2.761	2.179	Yes	Nylon
Donor 1 vs Donor 2				
Donor 1 vs Donor 2	1.02	2.026	No	N/A
Blood Donor 1 vs. Conor 2	0.421	2.131	No	N/A
Semen Donor 1 vs Donor 2	0.712	2.08	No	N/A
Nylon Donor 1 vs. Donor 2	1.429	2.08	No	N/A
Polyester Donor 1 vs. Donor 2	0.069	2.131	No	N/A

Figura 12 | Comparazione della denaturazione di tracce biologiche poste su diversi substrati tessili

genetico non è assolutamente “tessuto biologico-dipendente”.

Tali dati, inoltre, dimostrano quanto la natura chimica del substrato su cui le tracce biologiche sono adese influenzi la degradazione. Nello specifico, è evidente come tutte le tracce biologiche presenti sul substrato “Nylon” incorrano in maggiore denaturazione rispetto a quelle presenti sul substrato “Polyester”.

In altri termini, ciò dimostra che il danno biologico/genetici sono assolutamente dipendenti dalla tipologia della composizione chimica del substrato sul quale le tracce biologiche sono adese.

Per completezza, è bene specificare che, allorquando si parla di valutazione del danno genetico a seguito di incendio, lo standard al quale ci si riferisce per le valutazioni è l’elettroferogramma che scaturisce dalla tipizzazione del DNA mediante l’uso di un numero di loci (marcatori) compreso tra 16 e 24. Sotto si mostra un esempio di un elettroferogramma su 23 loci.

Considerazioni finali

Con l’avvento delle sofisticate tecnologie ad oggi la prova scientifica diventa una prova certa; ciò in virtù sia delle moderne metodologie sia delle figure di controllo preposte al controllo del rispetto delle regole, delle procedure e dei protocolli scientifici.

Nella scienza quindi, così come nell’investigazione e nel processo, il metodo è rivolto principalmente a scoprire principalmente l’errore che conduce alla verità. La presenza di tracce genetiche in una scena di incendio la rende sicuramente più complessa ma l’investigazione, se ben progettata, porta ad una conclusione.

Mentre, infatti, il sistema inquisitorio procedeva dalla pretesa di conoscere già tutta la verità calandola dall’alto nel processo sotto forma di prove già accertate, il sistema accusatorio prende in considerazione le prove regolarmente formate (cioè rese meno incerte) nel contraddittorio tra le parti di fronte a un giudice terzo, dunque l’investigazione, condotta secondo precise regole, costituisce una

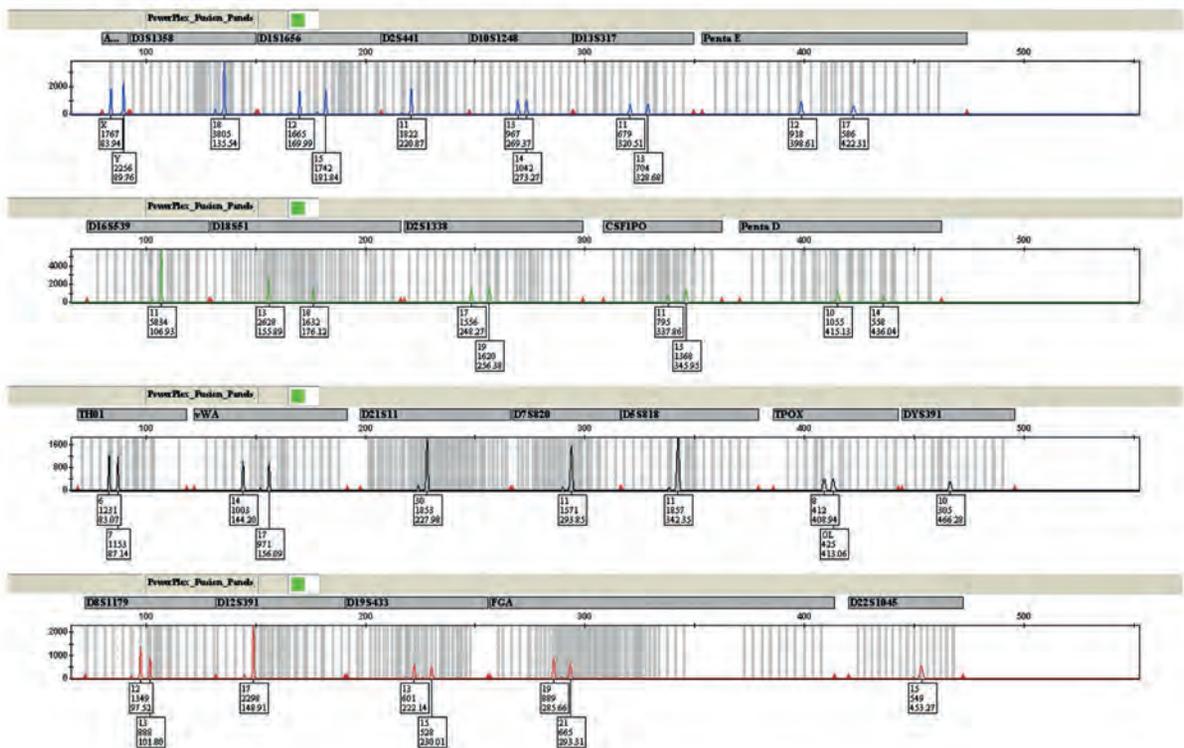


Figura 13 | Esempio di elettroferogramma genetico per scopi forensi

delle idee fondanti del nuovo processo penale. Non esiste quindi una investigazione che non sia naturalmente inserita in un sistema di controlli, pesi e contrappesi.

La disamina di tracce forensi in uno scenario d'incendio è ad oggi oggetto di ricerca scientifica e merita, senza dubbio, studi mirati per la risoluzione di numerosi casi giudiziari. ♦

📖 **Bibliografia**

- Augenti N., Chiaia B. M.: *Ingegneria Forense*, Dario Flaccovio Editore, Ed. 2011.
- Mangione M., F. Bontempi, Crosti C.: *Structural Fire Investigation e Ingegneria Forense – Atti del convegno IF CRASC'15 – 14-16 maggio 2015 – Università La Sapienza – Roma.*
- Mangione M.: *Dalla progettazione antincendio all'investigazione sugli incendi – Rivista Antincendio*, dicembre 2017.
- Mangione M.: *“Investigazione su una scena d'incendio: aspetti forensi” – EPC Rivista Antincendio*, febbraio 2018.
- Monica L. Snyder, Ralph C. Aldredge: *Trial by fire: Comparing DNA degradation in blood versus semen after fire exposure- Journal of forensic research*, USA 2016.
- Sharon Abrams, Anne Reusse, Amy Ward, Janice Lacapra: *A simulated arson experiment and its effect on the recovery of DNA- Canadian Society of forensic science Journal – 2008.*
- Gennaro Francione: *Criminologia Dinamica. La via di Popper al DNA-* Nuova Editrice Universitaria, 2019.
- John Butler; advanced topic in forensic DNA typing: interpretation – Academic press, 2014.
- I. Edward Alcamo; *DNA technology 2nd edition – Academic Press, 2000.*
- CH. Von Beroldingen et al.; *Application of PCR to the analysis of forensic evidence – Heryn A. Erlich editor. 1989.*
- Stella F.: *Leggi scientifiche e spiegazione causale nel diritto penale – Giuffrè Editore, Milano 2000.*

ADV