

**Ricerca di tracce biologiche latenti e test  
diagnostici per l'attribuzione della natura  
della traccia**

**Bologna - 22 novembre 2014**

**Dott. Luca Salvaderi**

## Principali fonti di DNA

Sangue

Saliva

Tessuti

Urine

Sperma

Capelli

Feci

Fluidi Vaginali

Ossa

Denti

Sudore

Cellule epiteliali



## Caratteristiche delle tracce biologiche



- **TRACCE EVIDENTI:** Si presentano visibili ad occhio nudo quando illuminate con luce bianca o mediante lente di ingrandimento (sangue, liquido seminale, urina, muco, ecc.)
- **TRACCE LATENTI:** non visibili (tracce di sangue sottoposte a lavaggio, liquido seminale in piccole tracce, liquido pre-eiaculatorio, sudore, saliva)

# TRACCE LATENTI

## Rilevazione delle tracce biologiche

- **METODI FISICI** (lampade a lunghezza d'onda variabile, come la lampada Crime-Scope o la lampada UV)
- **METODI CHIMICI** (tests chimici immunologici e/o colorimetrici)

## LA LAMPADA CRIMESCOPE



Le tracce biologiche quali sperma, sudore, saliva, urina, presentano una luminescenza naturale se illuminate a una lunghezza d'onda che varia tra i 415 e i 475 nm.

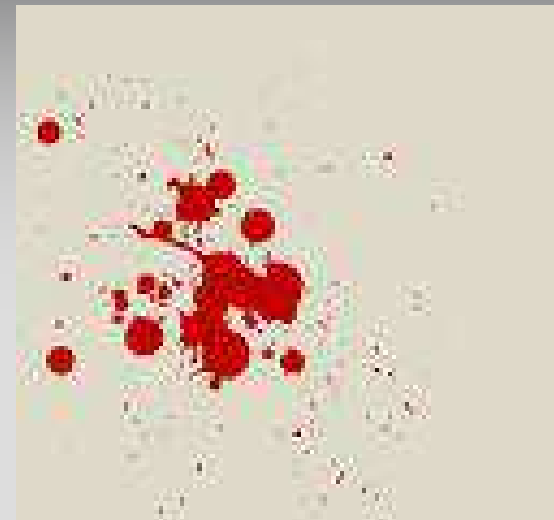
## **Metodi Colorimetrici**

Test generico orientativi che sfruttano una reazione colorimetrica

## **Metodi Immuno-Chimici**

Sono test che si basano su una reazione di precipitazione del complesso antigene-anticorpo ed alcuni sono specifici per la specie umana. Tale metodica quindi oltre a fornire un'indicazione generica sulla natura delle tracce, fornisce anche un'informazione sull'appartenenza alla specie umana.

# SANGUE



# Diagnosi di sangue

1. Ispezione visiva di un reperto
2. Test presuntivi per la diagnosi di sangue (non é sangue?)
3. Test di conferma (è davvero sangue?)
4. Determinazione della specie (è sangue umano?)
5. Identificazione (a chi appartiene?)



# Combur test

- “*Combur2 Test®E*” (Roche Italia), progettato ad uso diagnostico per individuare il livello di eritrociti nelle urine, è un indicatore colorimetrico a base di tetrametilbenzidina, capace di mettere in evidenza l’attività perossidasi dell’emoglobina eventualmente presente tramite una reazione colorimetrica



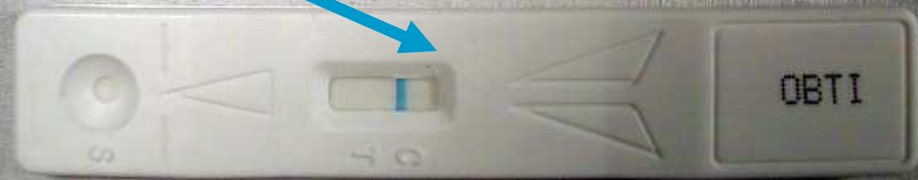
## OBTI TEST: tracce di sangue

Per questo tipo di saggio è stato utilizzato il test “*Hexagon OBTI immunochromatographic rapid test*” della ditta *Human(CIT)*. Esso prevede una procedura analitica specifica per la determinazione della presenza di emoglobina umana e viene comunemente usato per la ricerca del sangue umano occulto nelle feci. Il test è di tipo immunologico, ovvero sfrutta il legame caratteristico tra un anticorpo mobile monoclonale anti-emoglobina umana, coniugato con particelle colorate in blu

Positivo



Negativo

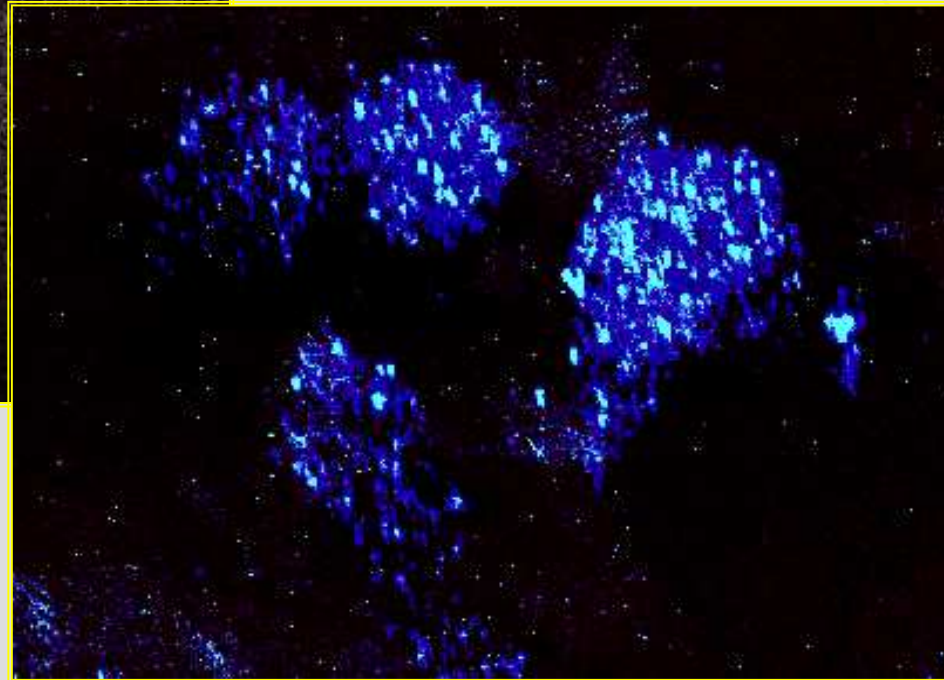


## Test del Luminol

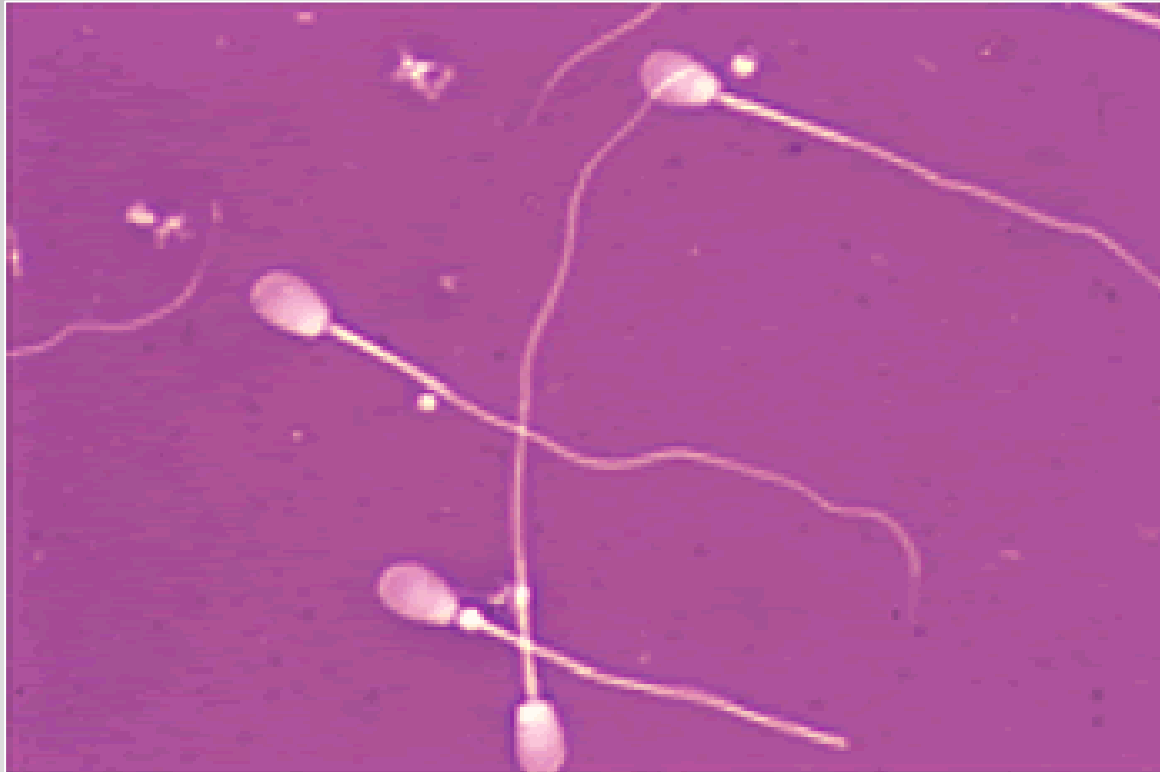
- Individuazione di tracce ematiche latenti
- Luminescenza di colore blu-verde
- Falsi positivi (rame, candeggina, ruggine, piante ed alcuni tipi di terreno)



## IL TEST DEL LUMINOL



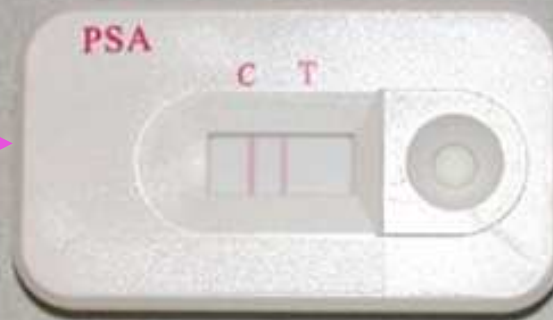
## Presenza di sperma





## Tracce di liquido seminale

**Positivo**



**Negativo**



# SALIVA



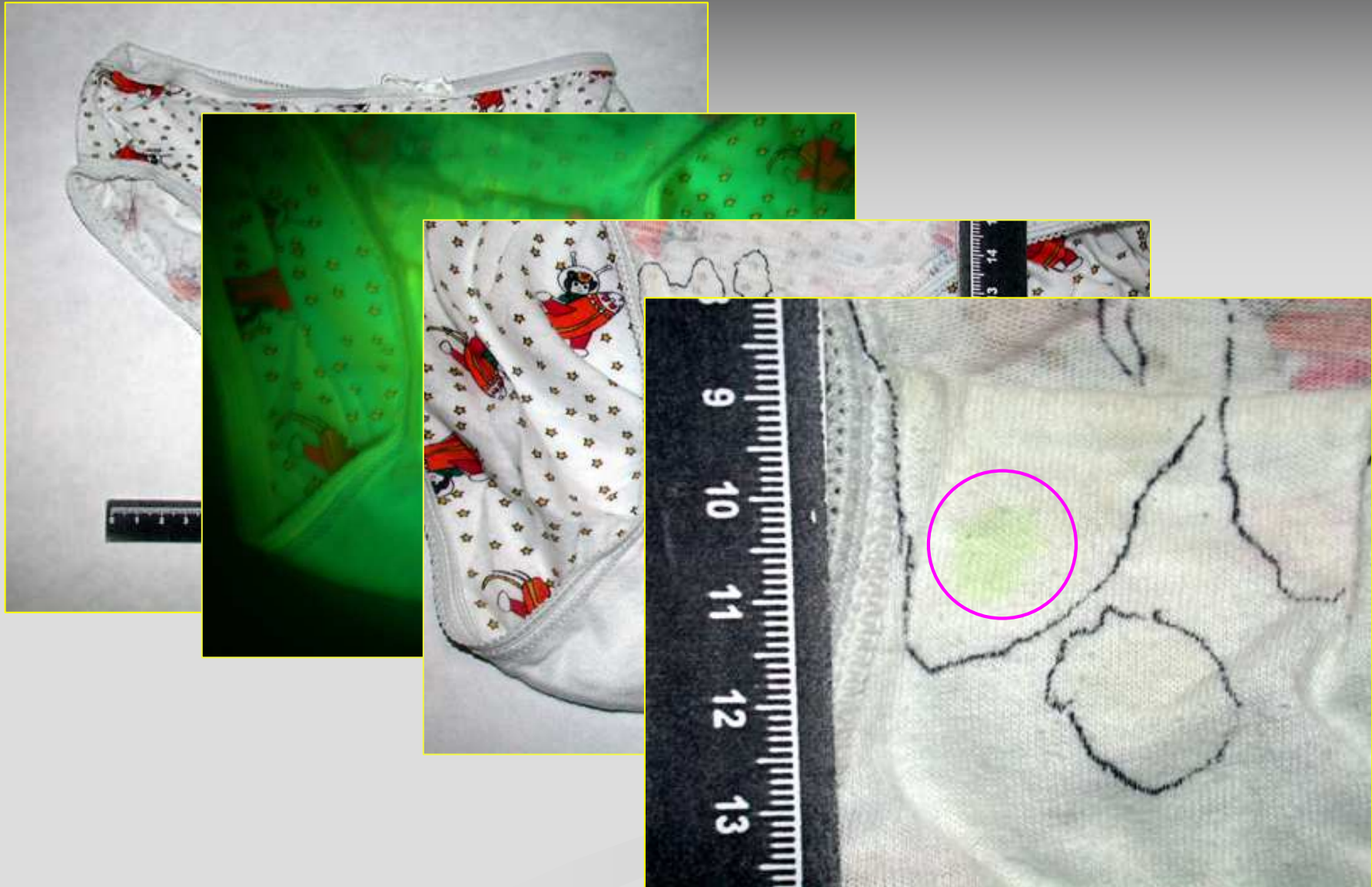
# Amilasi

- *BNP-Amylase (Sclavo Diagnostic, Italia)*, un indicatore colorimetrico capace di mettere in evidenza l'attività dell' $\alpha$ -amilasi.





## Test enzimatico: tracce di saliva



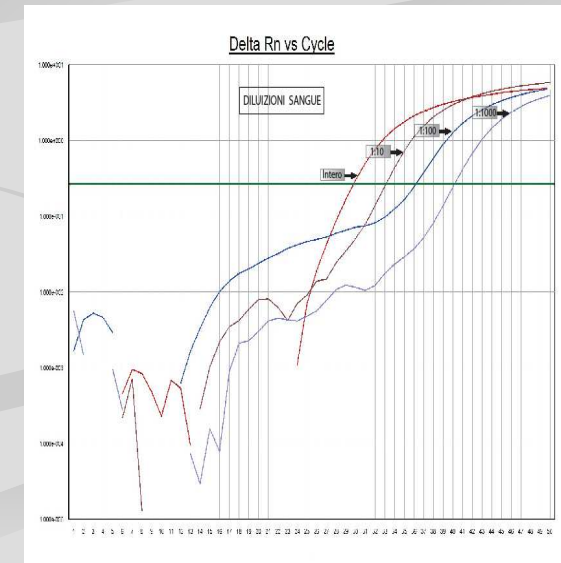
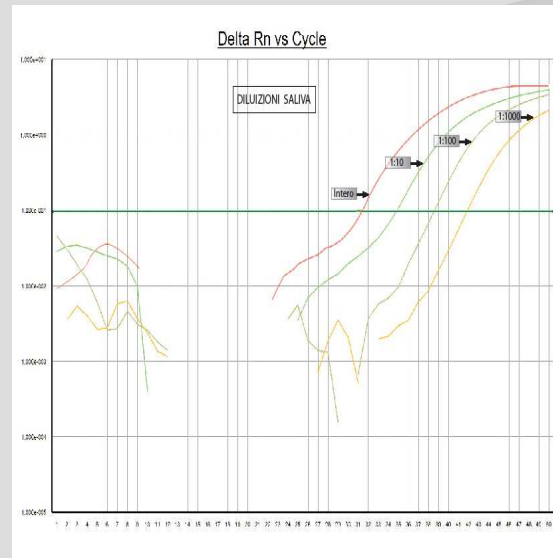
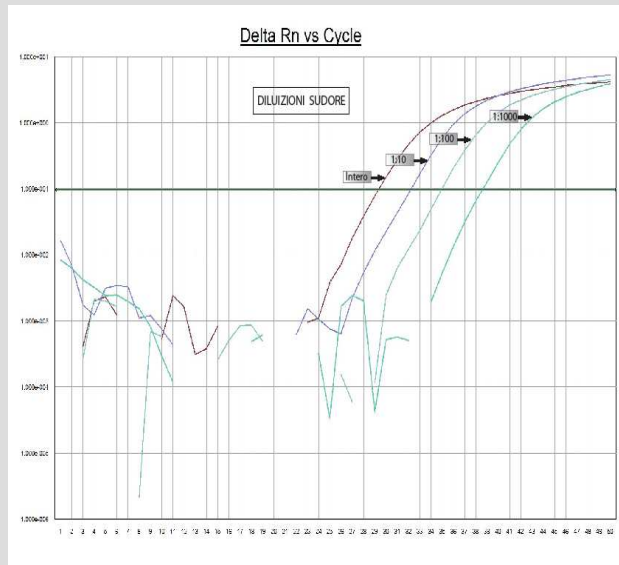
# Metodo Molecolare: Ricerca di mRNA tessuto specifici

Sangue: gene SPTB

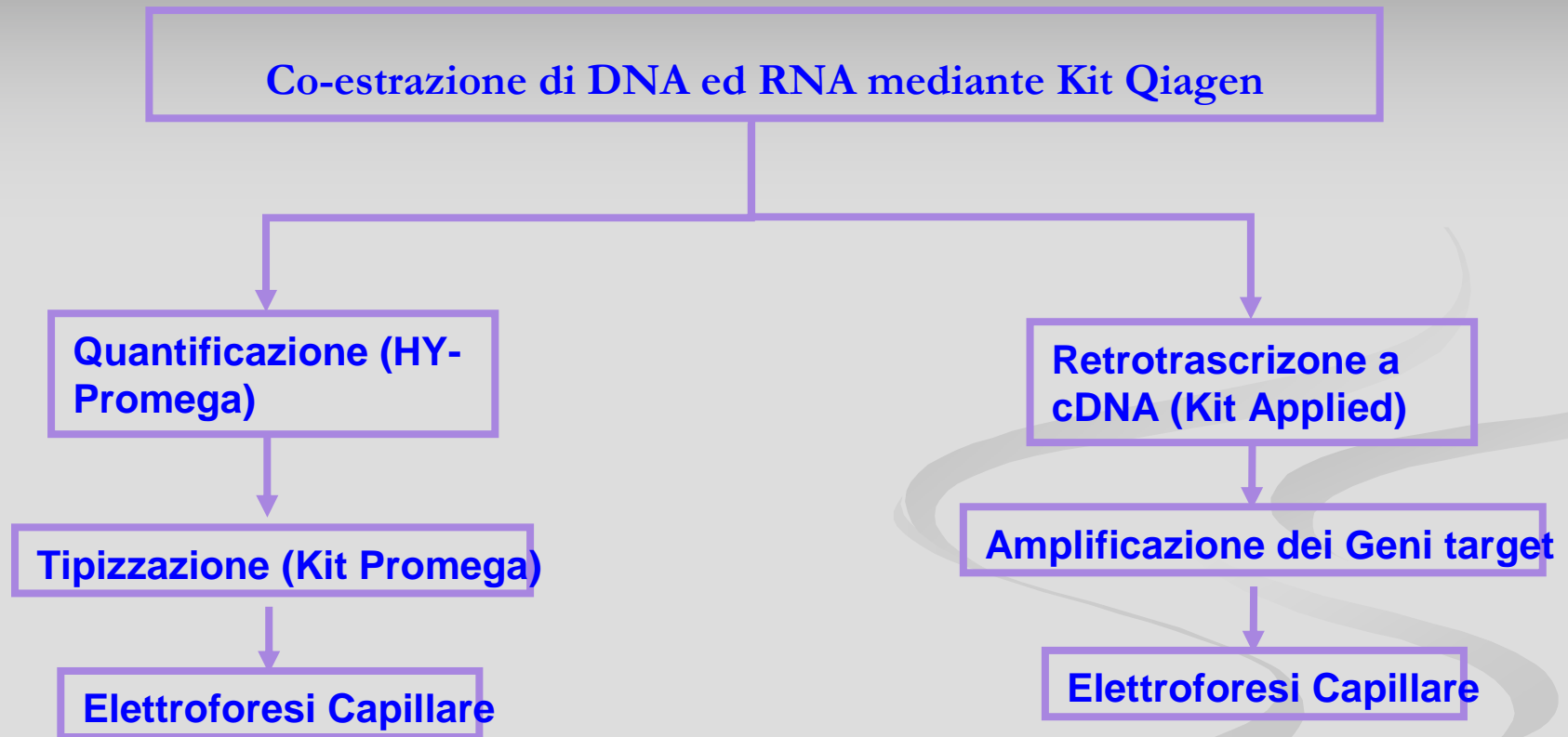
Saliva: gene HTN 3

Sudore: gene DCD (dermcidin)

Sperma: PRM1



# Metodica



# SUDORE







Contents lists available at ScienceDirect

## Forensic Science International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/forensi](http://www.elsevier.com/locate/forensi)



# Detection of dermcidin for sweat identification by real-time RT-PCR and ELISA

Koichi Sakurada<sup>\*</sup>, Tomoko Akutsu, Hisayo Fukushima, Ken Watanabe, Mineo Yoshino

*National Research Institute of Police Science, 6-3-1 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan*

### ARTICLE INFO

#### *Article history:*

Received 9 April 2009

Received in revised form 6 October 2009

### ABSTRACT

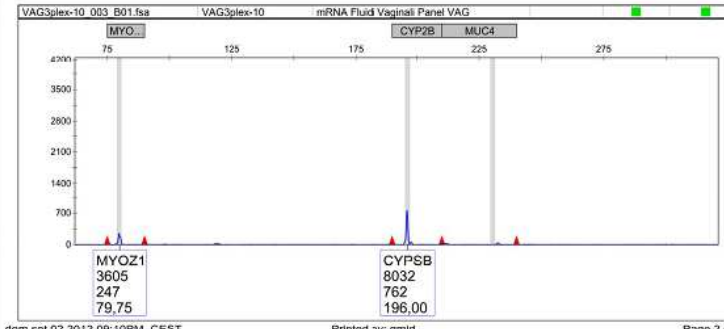
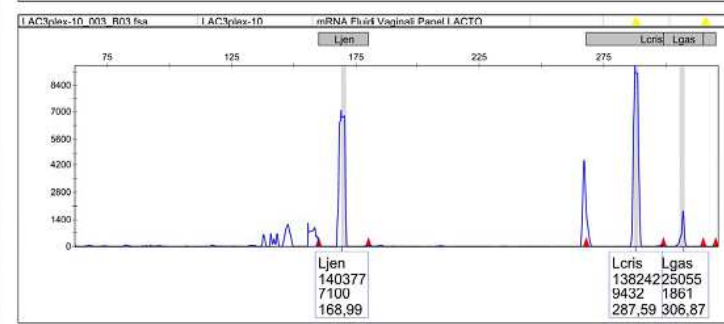
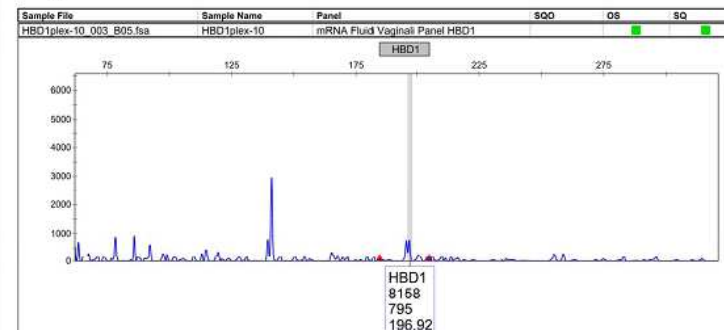
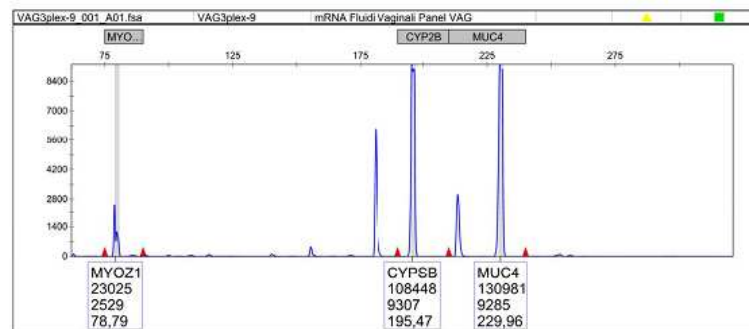
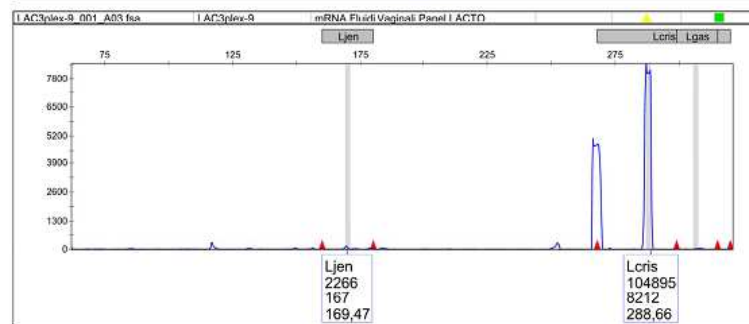
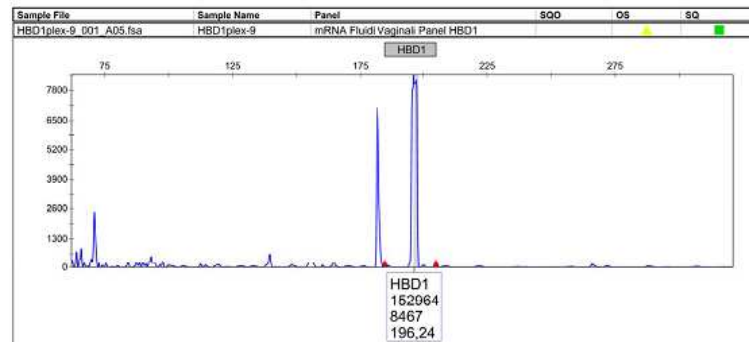
We evaluated the performance of real-time RT-PCR and ELISA assays for detection of dermcidin (DCD) in sweat and body-fluid stains. DCD, a small antibiotic peptide secreted into human sweat, was detected by real-time RT-PCR in 7-day-old stains containing as small as 10  $\mu$ L of sweat, and the assay showed high

## **Secrezioni Vaginali**

- 1. Ritrovamento di residui sul corpo del presunto aggressore**
- 2. Ritrovamento di residui su oggetti utilizzati nel corso della violenza**
- 3. Ritrovamento di residui su indumenti di vittima ed indagato**

# Target molecolari

1. **HBD1:** (Human Beta-Defensina) appartiene alla famiglia delle defensine. implicato nella difesa alla colonizzazione microbica delle superfici epiteliali. espressione maggiore nel tratto urogenitale.
2. **MUC4:** (Mucina 4) Le Mucine sono le principali costituenti delle secrezioni viscosi che ricoprono le superfici epiteliali come quelle della trachea, del colon e della cervice.
3. **CYP2B7P12B7P1:** (citocromo P450, Famiglia 2, sottofamiglia B, polipeptide 7 dello pseudo gene 1) Questo gene è apparentemente un RNA non codificante.
4. **MYOZ1:** (miozenina-1) E' un membro della famiglia delle miozenine, le quali potrebbero avere un ruolo come proteine intracellulari.
5. **L.gas – L.Cris – L.jen:** (Lactobacillus Gassery, Lactobacillus Crispatus e Lactobacillus Jensenii) Questi tre specie di microrganismi appartengono alla flora presente nella vagina di donne sane in età pre-menopausa e svolgono un ruolo importante di protezione dell'organismo ospite da infezioni del tratto urogenitale





## RNA/DNA co-analysis from human menstrual blood and vaginal secretion stains: Results of a fourth and fifth collaborative EDNAP exercise



C. Haas<sup>a,\*</sup>, E. Hanson<sup>b</sup>, M.J. Anjos<sup>k</sup>, K.N. Ballantyne<sup>w</sup>, R. Banemann<sup>r</sup>, B. Bhoelai<sup>e</sup>, E. Borges<sup>j</sup>, M. Carvalho<sup>k</sup>, C. Courts<sup>h</sup>, G. De Cock<sup>d</sup>, K. Drobnic<sup>p</sup>, M. Dötsch<sup>r</sup>, R. Fleming<sup>f</sup>, C. Franchi<sup>x</sup>, I. Gomes<sup>n</sup>, G. Hadzic<sup>p</sup>, S.A. Harbison<sup>f</sup>, J. Harteveld<sup>e</sup>, B. Hjort<sup>v</sup>, C. Hollard<sup>i</sup>, P. Hoff-Olsen<sup>g</sup>, C. Hüls<sup>l</sup>, C. Keyser<sup>i</sup>, O. Maroñas<sup>t</sup>, N. McCallum<sup>m</sup>, D. Moore<sup>q</sup>, N. Morling<sup>v</sup>, H. Niederstätter<sup>o</sup>, F. Noël<sup>d</sup>, W. Parson<sup>o</sup>, C. Phillips<sup>t</sup>, C. Popielarz<sup>j</sup>, A.D. Roeder<sup>s</sup>, L. Salvaderi<sup>y</sup>, E. Sauer<sup>h</sup>, P.M. Schneider<sup>n</sup>, G. Shanthan<sup>g</sup>, D. Syndercombe Court<sup>c</sup>, M. Turanská<sup>u</sup>, R.A.H. van Oorschot<sup>w</sup>, M. Vennemann<sup>l</sup>, A. Vidaki<sup>c</sup>, L. Zatkalíková<sup>u</sup>, J. Ballantyne<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Legal Medicine, University of Zurich, Switzerland

<sup>b</sup> National Center for Forensic Science, University of Central Florida, Orlando, USA

<sup>c</sup> Department of Forensic and Analytical Science, King's College London, UK

<sup>d</sup> National Institute for Criminalistics and Criminology, Brussels, Belgium

<sup>e</sup> Netherlands Forensic Institute, The Hague, The Netherlands

<sup>f</sup> Institute of Environmental Science and Research Ltd., Auckland, New Zealand

<sup>g</sup> Department of Forensic Genetics, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway

<sup>h</sup> Institute of Legal Medicine, University of Bonn, Germany