

RELAZIONE DI PERIZIA EMATOLOGICA SU UN FAZZOLETTO

Ill.mo Sig. Procuratore della Repubblica di Firenze,  
in data 5 ottobre 1985 perveniva all'Istituto  
di Medicina Legale di Firenze "un fazzolettino di  
carta intriso di sangue con un capello", che il 7.10  
veniva consegnato al sottoscritto.

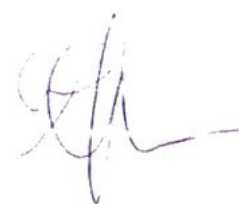
In data 11 ottobre 1985 venivo convocato  
dalla S.V. che mi affidava il seguente incarico:

"Rilevato che appare necessario, allo stato,  
compiere sul reperto ogni accertamento utile tendente  
a rilevare:

- la natura ematica o meno del reperto, in caso positi-  
vo la sua appartenenza alla specie umana, in caso  
positivo il gruppo sanguigno di appartenenza;
- ove possibile l'appartenenza alla specie umana del  
frammento pilifero contenuto nel reperto;

Assegna al Prof. Cagliosi l'incarico di  
rispondere ai quesiti suddetti".

Accettando l'incarico chiedevo un termine  
di 30 giorni per rispondere con relazione scritta.



Descrizione del reperto:

Trattasi di un piccolo fazzoletto di carta bianca sottile, appallottolato e schiacciato, asciutto, per la maggior parte macchiato più o meno intensamente di un colore rosso scuro tendente al marrone. Da una delle pieghe del fazzoletto emerge un'unica formazione pilifera.

Esame della macchia:

Diagnosi generica: allo scopo di accertare se il fazzoletto fosse macchiato di sangue, ne è stato prelevato un frammento presentante il descritto colore rosso scuro, che è stato posto in poche gocce di soluzione fisiologica, lasciando il frammento a macerare finché la soluzione, da limpida, assumesse un colorito analogo a quello della macchia. La soluzione così ottenuta è stata impiegata per l'effettuazione del metodo della benzidina. Per l'esecuzione del metodo è stata preparata una soluzione alcolica satura di benzidina, lievemente acidificata con acido acetico. Una goccia del campione è stata fatta cadere su una

striscia di carta bibula, sulla quale sono state poste anche alcune gocce della soluzione di benzidina. Poche gocce di acqua ossigenata a 20 volumi, fatte cadere sulla carta, sono state sufficienti per fare prontamente apparire una diffusa colorazione azzurra, dimostrando la positività della reazione per il sangue. Il metodo si basa infatti sulla proprietà perossidica del sangue, cioè sulla sua capacità di ossidare in presenza di acqua ossigenata alcune sostanze quali la benzidina che, da incolore, diviene azzurra. La reazione è quindi stata positiva, consentendo di orientare il giudizio verso la natura ematica della macchia.

Diagnosi specifica: dopo aver ottenuto la dimostrazione che si trattava di sangue, si è reso opportuno dimostrare che le macchie erano di sangue umano. A questo scopo si è eseguito il metodo della immunodiffusione su piastre di gel d'agar. Tale metodica si basa sulla proprietà che hanno le sostanze del siero di sangue (antigeni) di indurre la formazione se iniettate in un animale di specie diversa, di sostan





ze (anticorpi) capaci di reagire specificamente con le prime. Le frazioni anticorpali si ritrovano nel siero di sangue dell'animale iniettato (siero immune). Quando la reazione tra l'antigene ed il suo specifico anticorpo avviene su un supporto perfettamente trasparente, quale è il gel d'agar, si forma nel punto di reazione un precipitato opalescente assai ben visibile. Se invece l'antigene non incontra la sua specifica sostanza anticorpale, tale reazione non avviene e non si forma alcun precipitato; si formerà quindi un precipitato visibile solo se il siero umano troverà nel supporto il rispettivo siero immune anti-uomo. Per l'esecuzione del metodo è stata preparata, previo riscaldamento, una soluzione all'1,5% di polvere d'agar in soluzione fisiologica. Pochi ml. di questa soluzione sono stati poi versati a caldo su un vetrino portaoggetti, ottenendo con il rapprendersi di essa, uno strato di gel di circa 2 mm. di spessore. Nello strato del gel sono stati praticati con adatto stampo alcuni pozzetti rotondi del diametro di circa 3 mm., uno



dei quali al centro e gli altri, disposti a stella, tutti intorno al primo. Nel pozzetto centrale è stata posta una piccola quantità di siero anti-uomo, mentre in uno dei pozzetti circostanti è stata messa una goccia del materiale ematico da esaminare. Si sono contemporaneamente effettuate anche delle prove in bianco per controllo, cimentando il materiale in esame con semplice soluzione fisiologica per saggiare l'eventualità di precipitazioni aspecifiche ed il siero anti-uomo con siero sicuramente di sangue umano per assicurarsi dell'effettivo potere precipitante del siero anti-uomo utilizzato. La piastra così preparata è stata messa in camera umida, allo scopo di evitarne l'essiccamento per circa 48 ore, lasciando che i materiali diffondessero nello spessore del gel d'agar. Al termine di tale periodo si è potuta evidenziare la formazione di una banda di precipitazione tra il pozzetto nel quale era stato posto il materiale ematico in esame e quello contenente siero immune anti-uomo. Non si è reso visibile alcun precipitato tra il pozzet-





to contenente la sola soluzione fisiologica e quello contenente il materiale in esame. Chiaramente positiva è risultata, invece, la reazione tra il pozzetto contenente il siero umano di controllo e quello contenente il siero anti-uomo. Si è così ricavata la dimostrazione che il materiale ematico costitutivo della macchia è di provenienza umana.

Diagnosi individuale: dimostrato che si trattava di traccia di sangue umano, si è proceduto alla determinazione su di essa del gruppo sanguigno. A tal fine è stata eseguita la metodica di assorbimento-eluzione, mirante ad individuare gli antigeni del sistema ABO, cioè quelle sostanze organiche che sono rappresentative del gruppo sanguigno individuale. Gli individui appartenenti al gruppo A, infatti, possiedono l'antigene o agglutinogeno A sulla membrana dei globuli rossi e l'agglutinina beta nel siero sanguigno. Gli individui appartenenti al gruppo B possiedono l'agglutinogeno B sui globuli rossi e l'agglutinina alfa nel siero. Gli appartenenti al gruppo AB hanno



entrambi gli agglutinogeni A e B, ma non possiedono alcuna agglutinina. L'inverso si ha negli individui di gruppo 0 che non possiedono alcun agglutinogeno eritrocitario, ma hanno entrambe le agglutinine alfa e beta nel siero. La tecnica di assorbimento-eluzione per la ricerca di agglutinogeni consta di due fasi: in una prima fase, di assorbimento, il materiale in esame viene posto in contatto a bassa temperatura con siero agglutinante; nel caso che ad esempio tale materiale contenga agglutinogeni (sia cioè di gruppo A) e sia posto a contatto con il siero agglutinante contenente agglutinine alfa, queste ultime verranno assorbite sul materiale in esame. Analogamente avverrà per il siero contenente agglutinine beta che verranno assorbite solo da materiale nel quale è presente l'agglutinogeno B (sangue di gruppo B). Il materiale provvisto di entrambi gli agglutinogeni (sangue di gruppo AB) sarà capace di assorbire entrambi i sieri agglutinanti, mentre quello sprovvisto di entrambi gli agglutinogeni, sangue di gruppo 0, non avrà alcun potere









che nessuna agglutinina era stata precedentemente assorbita e che quindi trattasi di materiale di gruppo O.

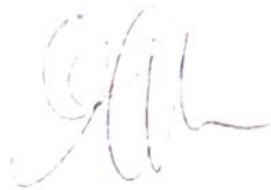
Per l'esecuzione del metodo sono stati ritagliati due piccoli frammenti uguali di fazzoletto macchiato, ciascuno dei quali è stato posto separatamente in una provetta. Successivamente, in una delle due provette, sono state aggiunte poche gocce di siero anti-A e nell'altra, poche gocce di siero anti-B opportunamente diluito in soluzione fisiologica. Le provette sono state lasciate ad incubare a 4°C per 24 ore. Si è quindi proceduto ad effettuare sette lavaggi con soluzione fisiologica fredda, rinnovando il liquido di lavaggio ogni 15 min.', al fine di rimuovere tutto il siero anti-A ed anti-B eventualmente non assorbito. Dopo l'ultimo lavaggio è stata aggiunta una piccola quantità di soluzione fisiologica e si è quindi proceduto alla eluizione a caldo delle agglutinine eventualmente fissate sul materiale, mediante bagnomaria a 56°C per un adeguato periodo di tempo.



L'eluato delle due provette è stato cimentato rispettivamente con una goccia di sospensione in soluzione fisiologica di eritrociti di gruppo A ed una di gruppo B, previamente lavati per tre volte. Dopo un adeguato periodo di incubazione a 4°C, si è proceduto alla lettura dei risultati previa blanda centrifugazione. Al termine delle operazioni non si è osservata alcuna agglutinazione dei globuli rossi contenuti dentro la provetta nella quale era stato inizialmente posto il siero anti-A e successivamente aggiunti globuli rossi di gruppo A, mentre nella provetta in cui all'inizio era stato messo il siero anti-B e successivamente erano stati aggiunti globuli rossi di gruppo B, è comparsa una chiara agglutinazione, dimostrando così la presenza nel materiale in esame del solo antigene B e cioè l'appartenenza del materiale ad un soggetto di gruppo B.

Esame della formazione pilifera:

La formazione pilifera, lunga circa 2 cm.





è stata estratta dal fazzoletto, previamente sgrassata con alcool etilico ed inclusa in balsamo tra vetrino porta-oggetti e vetrino copri-oggetti, per essere quindi esaminata al microscopio. E' apparso trattarsi di una formazione pilifera sottile, di colore castano chiaro, liscia, provvista di cuticola a scaglie sottili e regolari, di corticale a cellule scarsamente pigmentate con pigmento depositato in granuli sottili e di midollare sottile, a tratti mancante o scarsamente rappresentata, senza cellule individuabili, con presenza anche di minute bollicine d'aria. Il frammento pilifero esaminato è privo di formazioni riferibili al bulbo ed entrambe le sue estremità si interrompono secondo una linea trasversale.

L'insieme degli elementi microscopicamente apprezzabili ed in particolare la regolarità e sottigliezza delle scaglie della cuticola, l'omogenea distribuzione dei fini granuli di pigmento della corticale e soprattutto la scarsa rappresentazione della midollare consente di escludere la natura vegetale del reperto

e di orientare decisamente il giudizio verso la provenienza umana della formazione pilifera in questione. La lunghezza del frammento repertato, assieme alla sua complessiva sottigliezza, all'aspetto liscio ed all'assenza di aspetti riferibili a macerazione, consente inoltre di sostenere non inverosimile che trattasi di un capello.

RISPOSTE AI QUESITI

- 1) Il metodo della benzidina per la diagnosi generica, il metodo della immunodiffusione e la ricerca degli agglutinogeni eritrocitari con il metodo dell'assorbimento-eluzione consentono di concludere che il materiale di colore rosso scuro rinvenuto a macchiare il fazzoletto di carta è di natura ematica, è di provenienza umana ed appartiene al gruppo sanguigno B. Trattasi cioè di sangue umano di gruppo B.
- 2) Circa il frammento pilifero riscontrato adeso al fazzoletto, i suoi caratteri morfologici consentono di escluderne l'origine vegetale e di ricono-

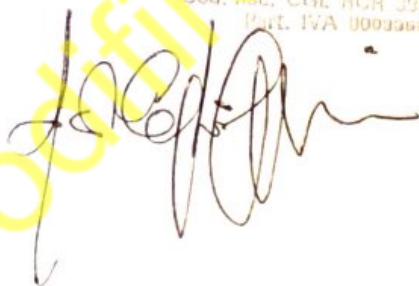




scerne l'appartenenza alla specie umana, potendosi  
non inverosimilmente trattare di un frammento di  
capello.

Firenze, 7 novembre 1985

Prof. Dott. Niccolò Cagliosi Cingolani  
Associato Istituto di Medicina Legale  
e delle Assicurazioni - Università di Firenze  
36: Via Amalia, 35 - 50121 FIRENZE - Tel. 670 211  
Cod. Fisc. CGL RCR 39M92 D6194  
Part. IVA 0002260407



www.mostroutfil.com