



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria



# L'attività del Laboratorio di Diagnostica Molecolare Forense del CeMedForVet

## Diagnosi e Ricerca

*Rita Lorenzini*

Laboratorio di Diagnostica Molecolare Forense  
Centro di Riferenza Nazionale per la Medicina Forense Veterinaria - IZSLT



28-9-2009

GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA

Serie generale - n. 225

## MINISTERO DEL LAVORO, DELLA SALUTE E DELLE POLITICHE SOCIALI

DECRETO 18 giugno 2009.

**Istituzione di nuovi Centri di riferimento nazionali nel settore veterinario.**

### IL MINISTRO DEL LAVORO, DELLA SALUTE E DELLE POLITICHE SOCIALI

Visto il decreto legislativo 30 luglio 1999, n. 300 e ss. mm., recante «Riforma dell'organizzazione del governo a norma dell'art. 11 della legge 15 marzo 1997, n. 59»;

Visto il decreto-legge 16 maggio 2008, n. 85, recante «Disposizioni urgenti per l'adeguamento delle strutture di Governo in applicazione dell'art. 1, commi 376 e 377 della legge 24 dicembre 2007, n. 244, convertito con modificazioni dalla legge 14 luglio 2008, n. 121 e, in particolare, l'art. 1, comma 6;

Visto il decreto legislativo 30 giugno 1993, n. 270, recante «Riordinamento degli Istituti zooprofilattici sperimentali, a norma dell'art. 1, comma 1, lettera h), della legge 23 ottobre 1992, n. 421» e, in particolare, l'art. 2, comma 3, lett. l);

Vista la legge 23 giugno 1970, n. 503, concernente l'ordinamento degli Istituti zooprofilattici sperimentali, e successive modificazioni;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833 e successive

Visto il decreto del Ministro della sanità del 2 novembre 1991, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 265 del 12 novembre 1991, recante istituzione del «Centro di Riferenza nazionale per l'epidemiologia, la programmazione e l'informazione» presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise;

Visto il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 28 febbraio 2003, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 52 del 4 marzo 2003, concernente «recepimento dell'Accordo recante disposizioni in materia di benessere degli animali da compagnia e pet-therapy»;

Vista l'ordinanza del Ministro del lavoro, della salute e delle politiche sociali 18 dicembre 2008, pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 13 del 17 gennaio 2009, recante «Norme sul divieto di utilizzo e di detenzione di esche o di bocconi avvelenati»;

Visto il decreto del Ministro del lavoro, della salute e delle politiche sociali 23 maggio 2008, recante «delega delle attribuzioni del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali, per taluni atti di competenza dell'Amministrazione, al Sottosegretario di Stato on.le Francesca Martini» registrato alla Corte dei conti il 10 giugno 2008, foglio n. 27;

Viste ed esaminate le richieste presentate, ai fini dell'istituzione di nuovi Centri di riferimento nazionali e del cambio di denominazione di Centri di riferimento nazionali







Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana

28-9-2009

GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA

Supplemento n. 275

#### Art. 2.

1. Le principali attività del Centro di riferimento nazionale di cui al precedente articolo riguardano in via prioritaria:

a) la promozione della Ricerca per la standardizzazione di protocolli operativi per il controllo sanitario e comportamentale degli animali impiegati nei programmi di IAA (interventi assistiti con gli animali);

b) il potenziamento delle collaborazioni fra medicina umana e veterinaria per individuare sinergie operative e di ricerca in grado di garantire un miglioramento dei risultati delle attività svolte nel settore di interesse;

c) il miglioramento delle conoscenze circa l'applicabilità di tali interventi in determinate categorie di pazienti (anziani, bambini affetti da autismo, disabili psichici);

d) l'organizzazione e gestione di percorsi formativi;

e) la raccolta di dati e la diffusione di informazioni alla comunità scientifica internazionale.

#### Art. 3.

1. Presso la sede territoriale di Grosseto dell'Istituto zooprofilattico sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana è attivato il «Centro di riferimento nazionale per la medicina Forense Veterinaria».

#### Art. 4.

1. Le principali attività del Centro di riferimento nazionale di cui al precedente articolo riguardano in via prioritaria:

a) lo sviluppo e la standardizzazione di tecniche di laboratorio e di tossicologia forense per:

1) il rilevamento delle sostanze tossiche utilizzate a scopo doloso;

2) la determinazione delle cause di morte per dolo a carico di specie selvatiche, o domestiche, oggetto, a qualsiasi titolo, di misure di salvaguardia e protezione;

3) le analisi comparative di campioni di tessuti freschi o congelati, di sangue, peli o altro materiale organico appartenente a specie selvatiche protette o di interesse venatorio, mediante tecniche di biologia molecolare, per la repressione del bracconaggio;

4) l'identificazione individuale (DNA typing), l'attribuzione della paternità, l'identificazione del sesso, il riconoscimento degli ibridi intraspecifici mediante tecniche di genetica forense per la lotta al commercio clandestino di animali selvatici;

b) l'organizzazione di corsi di formazione per il personale del Servizio sanitario nazionale e degli organi di polizia a livello territoriale per la standardizzazione dei rilievi di campo relativi ad indagini medico legali riguardanti l'uccisione di animali domestici e selvatici.

#### Art. 5.

1. La denominazione del «Centro di riferimento nazionale per l'epidemiologia, la programmazione e l'informazione», attivato presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise con decreto del Ministro della sanità del 2 novembre 1991, è sostituita dalla seguente denominazione: «Centro di riferimento nazionale per l'epidemiologia veterinaria, la programmazione, l'informazione e l'analisi del rischio».

#### Art. 6.

1. Le principali attività del Centro di riferimento nazionale di cui al precedente articolo riguardano in via prioritaria:

a) lo svolgimento di analisi del rischio con particolare riferimento alla sanità animale e alla sicurezza alimentare;

b) l'elaborazione e l'attuazione di programmi operativi finalizzati alla formazione del personale.

#### Art. 7.

1. Alle spese di funzionamento dei centri di riferimento di cui al presente decreto, gli Istituti zooprofilattici sperimentali titolari, provvedono con le quote del Fondo sanitario nazionale annualmente assegnate.

Il presente decreto, inviato alla Corte dei conti per la registrazione, entra in vigore il giorno della pubblicazione nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 18 giugno 2009

p. Il Ministro  
il Sottosegretario di Stato  
MARTINI

Registrato alla Corte dei conti il 21 agosto 2009

Ufficio di controllo preventivo sui Ministeri dei servizi alla persona e dei beni culturali, registro n. 5, foglio n. 314

09A11290



CeMedForVet

Centro di Riferimento Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

28-9-2009

Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana

Serie generale – n. 225

Decreto 18 giugno 2009

#### **Art. 4**

#### **Le principali attività del Centro di riferimento nazionale riguardano in via prioritaria:**

1. la determinazione delle cause di morte per dolo a carico di specie selvatiche, o domestiche, oggetto, a qualsiasi titolo, di misure di salvaguardia e protezione
2. il rilevamento delle sostanze tossiche utilizzate a scopo doloso contro gli animali







Decreto 18 giugno 2009

### **Art. 4**

#### **Le principali attività del Centro di riferimento nazionale riguardano in via prioritaria:**

1. la determinazione delle cause di morte per dolo a carico di specie selvatiche, o domestiche, oggetto, a qualsiasi titolo, di misure di salvaguardia e protezione
2. il rilevamento delle sostanze tossiche utilizzate a scopo doloso contro gli animali
3. le analisi genetiche per:
  - a) l'identificazione di specie selvatiche o di interesse venatorio a partire da tessuti e campioni forensi per la repressione del bracconaggio
  - b) l'identificazione individuale, la paternità, la determinazione del sesso, il riconoscimento degli ibridi intraspecifici per la lotta al commercio clandestino di animali selvatici



28-9-2009

Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana

Serie generale – n. 225

Decreto 18 giugno 2009

## **Art. 4**

### **Le principali attività del Centro di riferimento nazionale riguardano in via prioritaria:**

1. la determinazione delle cause di morte per dolo a carico di specie selvatiche, o domestiche, oggetto, a qualsiasi titolo, di misure di salvaguardia e protezione
2. il rilevamento delle sostanze tossiche utilizzate a scopo doloso contro gli animali
3. le analisi genetiche per:
  - a) l'identificazione di specie selvatiche o di interesse venatorio a partire da tessuti e campioni forensi per la repressione del bracconaggio
  - b) l'identificazione individuale, la paternità, la determinazione del sesso, il riconoscimento degli ibridi intraspecifici per la lotta al commercio clandestino di animali selvatici
4. la formazione per il personale del servizio sanitario nazionale e per gli organi di polizia a livello territoriale





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

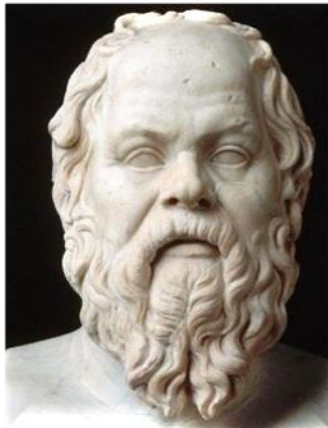






Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Socrate 469-399 a.C.



*"Saevitia in bruta est  
tirocinium crudelitatis  
in homines"*

la Repubblica

14 Ottobre 2021



OMICIDIO WILLY

**Fratelli Bianchi,  
allenati per uccidere:  
"Per divertirsi  
torturavano a morte  
gli animali"**

*di Clemente Pistilli*



CeMedForVet

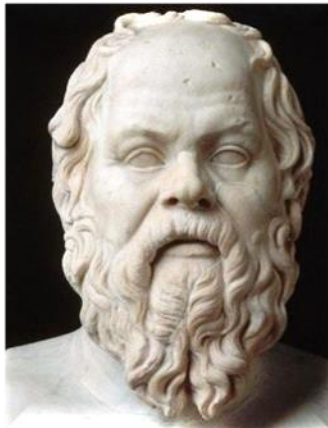
Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Socrate 469-399 a.C.



*"Saevitia in bruta est  
tirocinium crudelitatis  
in homines"*

la Repubblica

14 Ottobre 2021



OMICIDIO WILLY

Fratelli Bianchi,  
allenati per uccidere:



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

la Repubblica

9 Novembre 2022

**I fratelli Bianchi  
maltrattavano gli animali.  
"Spari contro una pecora  
solo per farla soffrire"**

di Clemente Pistilli



*L'indagine partita dall'esame dei cinque cellulari dei 'gemelli', attualmente in carcere per l'uccisione di Willy. Negli smartphone scoperte immagini e video di sevizie*

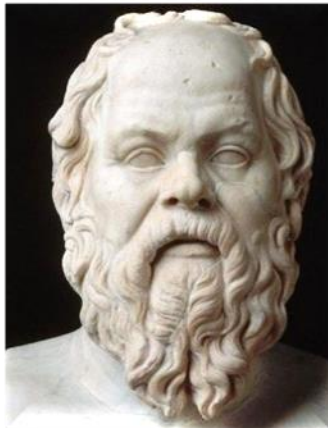
09 NOVEMBRE 2022 AGGIORNATO ALLE 10.31

2 MINUTI DI LETTURA

**f** Picchiatore e **pure sadico con gli animali**. La Procura di Velletri, concluse le indagini preliminari, ha inviato un nuovo avviso di garanzia a Marco Bianchi, condannato in primo grado all'ergastolo per l'omicidio di Willy Monteiro Duarte. L'accusa è quella di maltrattamento di animali. E con la stessa accusa il sostituto procuratore Francesco Brando ha inviato avvisi di garanzia anche a Ruggiero Bianchi, padre di Marco e Gabriele, e a due amici dei "gemelli", come erano noti i due fratelli per la loro somiglianza.



Socrate 469-399 a.C.



*“Saevitia in bruta est  
tirocinium crudelitatis  
in homines”*

René Descartes 1596–1650

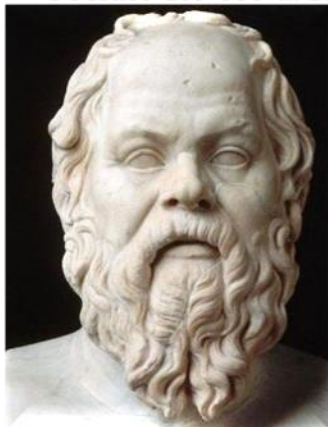
*“pare ragionevole. . . che la natura debba produrre i propri  
automi («autómata» = macchine) assai più splendidi di  
quelli artificiali. Questi automi naturali sono gli animali.”*

*Lettera del 1649 a Henry More*

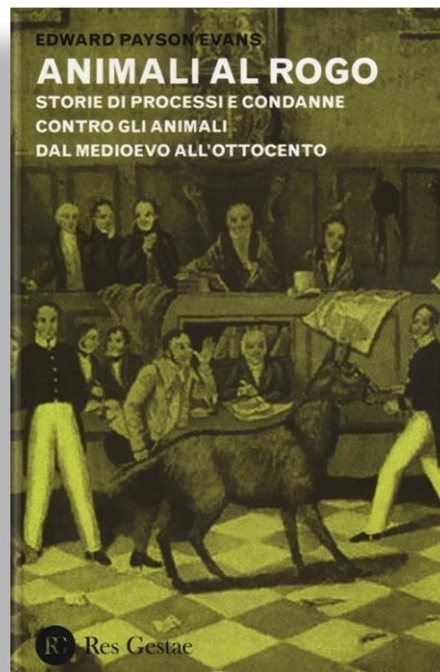




Socrate 469-399 a.C.



*“Saevitia in bruta est  
tirocinium crudelitatis  
in homines”*



Le pagine di E.P. Evans, .... non ricostruiscono solamente una storia ora agghiacciante, ora ridicola di animali, ma restituiscono una significativa e scomoda immagine dell'uomo: innanzitutto la sua ineliminabile necessità di "proiettare" il male e le colpe su una vittima da sacrificare e il bisogno di esorcizzare ciò che teme con formule e procedimenti intrisi di razionalismo e di superstizione al contempo

*“È ridicolo negare una verità evidente, così come affaticarsi troppo a difenderla. Nessuna verità sembra a me più evidente di quella che le bestie son dotate di pensiero e di ragione al pari degli uomini: gli argomenti sono a questo proposito così chiari, che non sfuggono neppure agli stupidi e agli ignoranti”*

**Gli animali provano gioia e dolore. Per questo gli umani, nei confronti degli animali, devono limitarsi alle azioni che procurano gioia**

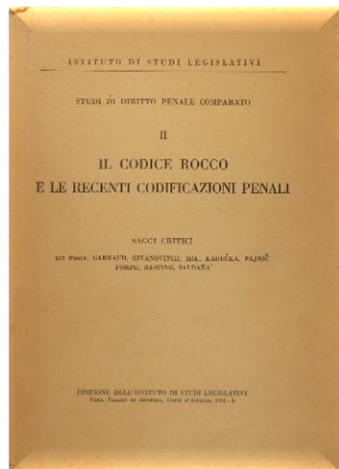
David Hume 1711-1776



## Codice Zanardelli 1889

### Art. 491

“Chiunque incrudelisce verso gli animali o, senza necessità, li maltratta, ovvero li costringe a fatiche manifestamente eccessive, è punito con ammenda (...) Alla stessa pena soggiace anche colui il quale per solo fine scientifico o didattico, ma fuori dei luoghi destinati all'insegnamento, sottopone animali ad esperimenti tali da DESTARE RIBREZZO»



## Codice Rocco 1930

### Art. 638 - Uccisione o danneggiamento di animali ALTRUI

“Chiunque senza necessità uccide o rende INSERVIBILI o comunque DETERIORA animali che appartengono ad altri è punito, a querela della persona offesa, con la reclusione fino a un anno o con una multa fino a Lire seicentomila. La pena è della reclusione da sei mesi a quattro anni (...) se il fatto è commesso su tre o più capi di bestiame raccolti in gregge o mandria (...)



## **Leggi a tutela degli animali**

- ☞ 281/91 Legge quadro in materia di animali di affezione e prevenzione del randagismo**
- ☞ 157/92 Legge Protezione della fauna selvatica omeoterma e prelievo venatorio**
- ☞ 150/92 Disciplina dei reati relativi all'applicazione in Italia della Convenzione sul commercio internazionale delle specie animali e vegetali in via d'estinzione**
- ☞ 189/2004 Art. 727 comma I Divieto di abbandono di animali**
- ☞ 189/2004 Art. 544-bis Divieto di uccisione di animali**
- ☞ 189/2004 Art. 544-ter e quinquies Divieto di maltrattamenti e di combattimenti**
- ☞ 532/92 Attuazione della direttiva 91/628/CEE relativa alla protezione degli animali durante il trasporto**
- ☞ D.L. 15/3/2010 n. 47 Recepimento Regolamento CE 1523/2007 Divieto di utilizzo e commercializzazione di pelli e pellicce di cani e gatti**
- ☞ Ordinanza 8/8/2022 Ministero della Salute. Norme sul divieto di utilizzo di esche o di bocconi avvelenati**







## Leggi a tutela degli animali

👉 281/91 Legge quadro in materia di animali di affezione e prevenzione del randagismo

👉 157/92 Legge Protezione della fauna selvatica omeoterma e prelievo venatorio

**8 febbraio 2022**

La Camera dei deputati approva la seguente integrazione all'articolo 9 della Costituzione Italiana, nella parte dei principi fondamentali della Repubblica:

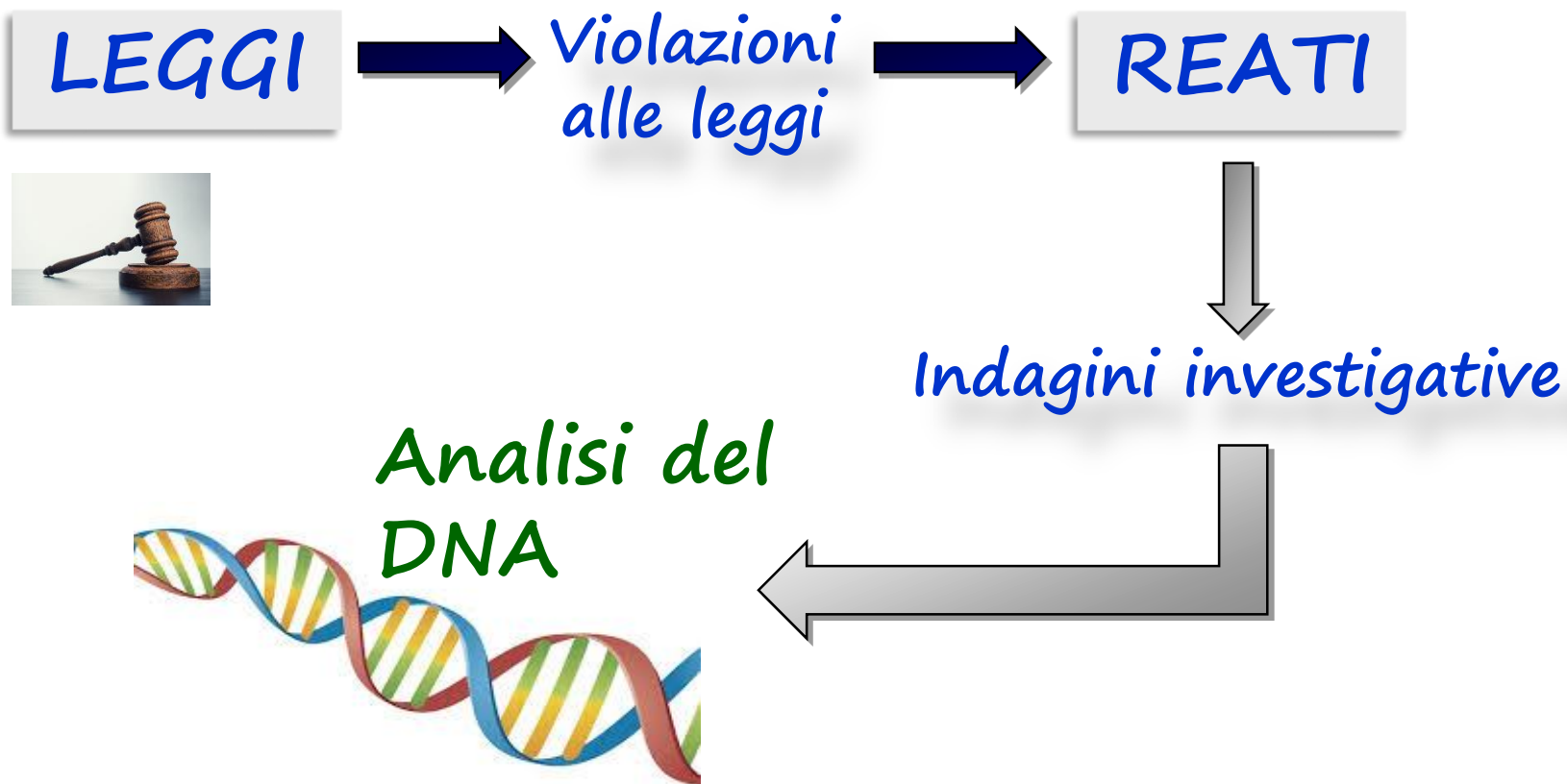
*“(La Repubblica) tutela l'ambiente, la biodiversità e gli ecosistemi,  
anche nell'interesse delle future generazioni.*

*La legge dello Stato disciplina i modi e le forme di tutela degli animali”*

👉 D.L. 15/3/2010 n. 47 Recepimento Regolamento CE 1523/2007 Divieto di utilizzo e commercializzazione di pelli e pellicce di cani e gatti

👉 Ordinanza 27/7/2021 Ministero della Salute. Norme sul divieto di utilizzo di esche o di bocconi avvelenati

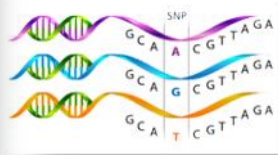
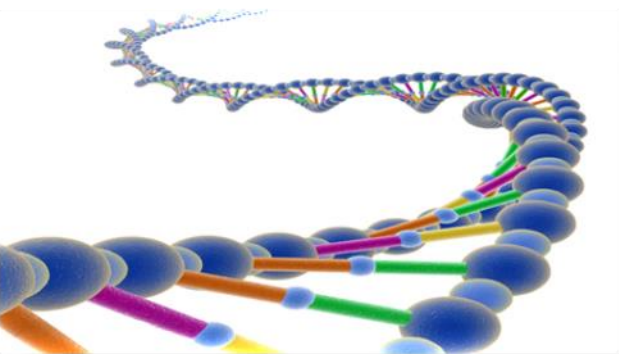




# Genetica Forense Animale

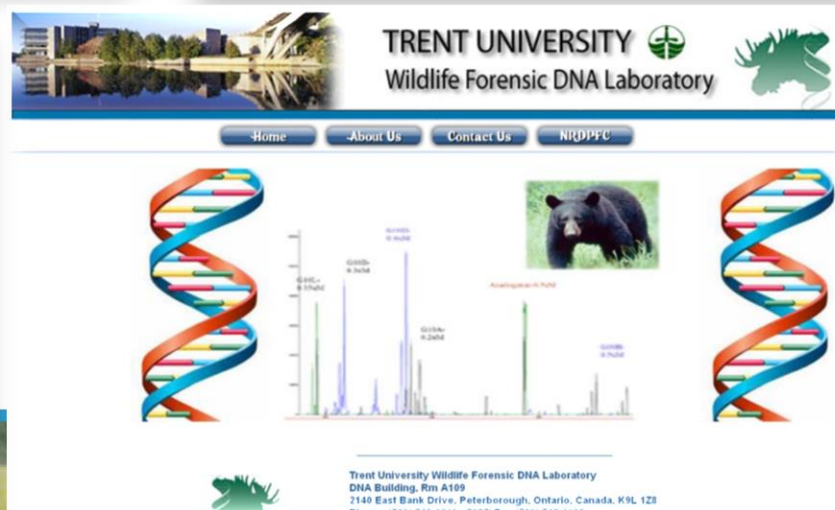
## Analisi del DNA

Tecniche di analisi del DNA  
a supporto delle indagini investigative  
nei crimini a danno degli animali





## Il DNA nella forense animale





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

## CORRIERE DELLA SERA



A GROSSETO E RIETI

# Ecco i biologi-detective Nasce il Ris degli animali

GROSSETO - I killer degli animali hanno un nemico in più. Un po' detective e un po' scienziato. Fa parte della neonata unità speciale, con sede a Grosseto e a Rieti, già ribattezzata il Ris degli animali.

L'Unità specialistica di medicina forense veterinaria marina e terrestre di intesa firmato da ministero dell' Ambiente, regioni Toscana e Lazio, e sperimentale - è la prima struttura pubblica in Europa specializzata nell'accertare la morte violenta degli animali. Ci lavorano veterinari e biologi nazionali a disposizione delle autorità di polizia giudiziaria, servirà tutti «Utilizziamo quasi tutte le tecniche già impiegate da Ris e polizia scientifica coordinatore dell' unità - come l' analisi del Dna, le perizie balistiche, l' impronte digitali, le analisi comparative dei tessuti». Le indagini del Ris risolvere casi complicati. Come sono stati l' avvelenamento degli orsi abrapaci protetti e lo sterminio di lupi (150 in dieci anni). Ma la «squadra» analizzare uno spezzatino non identificato servito in un ristorante e stabproibita cacciata da un bracconiere. Tra i massimi sostenitori dell' Unità presidente della Commissione sanità della Toscana, primo firmatario deavvelenamenti degli animali: «Questo Ris è un balzo in avanti, dopo la le carcere sugli animali».

Gasperetti Marco



### HOME

#### TEMATICHE

Determinazione delle cause di morte riferibili a malati contro gli animali  
Avvelenamenti dolosi degli animali  
Genetica forense

#### PROGETTI

PUBBLICAZIONI

#### FORMAZIONE

CONTATTI

AREA RISERVATA

### CENTRO DI RIFERENZA NAZIONALE PER LA MEDICINA FORENSE VETERINARIA

Il Centro è stato istituito, presso la sezione di Grosseto dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, con il D.M. del 18 giugno 2009, pubblicato nella G.U. n. 225 del 28 settembre 2009.

Le principali attività assegnate al Centro di Riferenza Nazionale di cui il D.M. in oggetto riguarda in via prioritaria:

«la sviluppo e la standardizzazione di tecniche di laboratorio e di tossicologia forense per:

1) il rilevamento delle sostanze tossiche utilizzate a scopo doloso

2) la determinazione delle cause di morte per dolo o colpa di specie selvatiche, o domestiche oggetto, a qualsiasi titolo, di misure di salvaguardia e protezione

3) la analisi comparativa di campioni di tessuti freschi o congelati, di sangue, urini o altro materiale organico appartenente a specie selvatiche protette o di interesse venatorio, mediante tecniche di biologia molecolare, per la repressione del bracconaggio

4) l'identificazione individuale (DNA typing), l'attribuzione della paternità, l'identificazione del sesso, il riconoscimento degli animali interspecifici mediante tecniche di genetica forense per la lotta al commercio clandestino di animali selvatici

5) l'organizzazione di corsi di formazione per il personale del Servizio Sanitario Nazionale e degli organi di polizia a livello territoriale per la standardizzazione dei ritmi di campo relativi ad indagini medico legali riguardanti l'uccisione di animali domestici e selvatici.

## CRONACA Ora i Ris inchiodano chi avvelena e uccide gli animali

Un nucleo specializzato di veterinari che risale ai colpevoli grazie a test del Dna e analisi. Quindicimila i casi denunciati in cinque anni. Nel mirino specie rare e protette, ma anche cani e gatti

di Paola D'Amico 22 settembre 2011



MALTRATTATI FINO ALLA MORTE, uccisi da lacci o da bocconi avvelenati. Ogni giorno si compie una strage di animali nel nostro Paese. Quindicimila i casi denunciati alle autorità giudiziarie in cinque anni. La punta di un iceberg. Nel mirino non solo esemplari di specie rare e protette, ma anche i nostri cani e gatti. E chi agisce si muove esattamente come un **serial killer**, spiegano dal mondo veterinario che ha deciso di rispondere all'attacco. Ricordate gli omini in tuta bianca che si muovono in punta di piedi sulla scena del crimine? Ebbene, da due anni anche gli animali hanno il loro RIS, una piccola ma temibile squadra di veterinari, chimici e biologi che cerca **le prove per inchiodare i colpevoli**.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

## dalla genetica della conservazione....

*Biological Journal of the Linnean Society*, 2006, **88**, 691–701. With 3 figures

### Conservation genetics of the endangered red deer from Sardinia and Mesola with further remarks on the phylogeography of *Cervus elaphus corsicanus*

S. S. HMWE<sup>1</sup>, F. E. ZACHOS<sup>1\*</sup>, I. ECKERT<sup>1</sup>, R. LORENZINI<sup>2</sup>, R. FICO<sup>2</sup> and G. B. HARTL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zoologisches Institut/Haustierkunde, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Olshausenstrasse 40, 24118  
Kiel, Germany

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale 'G. Caporale', Campo Boario, 64100 Teramo, Italy

*Biodivers Conserv* (2008) 17:659–673  
DOI 10.1007/s10531-007-9297-9

ORIGINAL PAPER

### Phylogeography and founder effect of the endangered Corsican red deer (*Cervus elaphus corsicanus*)

Ghaïet M. Hajji · F. Charfi-Cheikrouha · Rita Lorenzini ·  
Jean-Denis Vigne · Günther B. Hartl · Frank E. Zachos

*Italian Journal of Zoology*, 2014, 136–143  
Vol. 81, No. 1, <http://dx.doi.org/10.1080/11250003.2014.895060>



### The unique Mesola red deer of Italy: taxonomic recognition (*Cervus elaphus italicus nova ssp.*, Cervidae) would endorse conservation<sup>#</sup>

F. E. ZACHOS<sup>1\*</sup>, S. MATTIOLI<sup>2</sup>, F. FERRETTI<sup>2</sup>, & R. LORENZINI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Natural History Museum Vienna, Vienna, Austria, <sup>2</sup>Research Unit of Behavioural Ecology, Ethology and Wildlife  
Management, Dept. of Life Sciences, University of Siena, Siena, Italy, and <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle  
Regioni Lazio e Toscana, Centro di Riferenza Nazionale per la Medicina Forense Veterinaria, Rieti, Italy

*Animal Conservation* (2004) 7, 199–209 © 2004 The Zoological Society of London. Printed in the United Kingdom DOI:10.1017/S1367943004001301

### Non-invasive genotyping of the endangered Apennine brown bear: a case study not to let one's hair down

Rita Lorenzini<sup>1</sup>, Mario Posillico<sup>2,3</sup>, Sandro Lovari<sup>3</sup> and Annino Petrella<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Campo Boario, 64100 Teramo, Italy

<sup>2</sup> Corpo Forestale dello Stato, Gestione ex Azienda di Stato per le Foreste Demaniali, Via Sangro 45, 67031 Castel di Sangro, Italy

<sup>3</sup> Università di Siena, Dipartimento di Scienze Ambientali, Sezione di Ecologia Comportamentale, Etologia e Gestione della Fauna, Via P. A. Mattioli 4,  
53100 Siena, Italy







Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

... alla *genetica forense  
animale*



## Hindering the illegal trade in dog and cat furs through a DNA-based protocol for species identification

Luisa Garofalo<sup>1</sup>, Alessia Mariacher<sup>2</sup>, Rita Fanelli<sup>1</sup>, Rosario Fico<sup>2</sup> and  
Rita Lorenzini<sup>1</sup>



ELSEVIER

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



Forensic Science International 153 (2005) 218–221

Short communication

## DNA forensics and the poaching of wildlife in Italy: A case study

Rita Lorenzini \*



[www.elsevier.com/locate/forsciint](http://www.elsevier.com/locate/forsciint)

SCIENTIFIC  
REPORTS  
nature research

OPEN

## Matching STR and SNP genotyping to discriminate between wild boar, domestic pigs and their recent hybrids for forensic purposes

Rita Lorenzini<sup>1\*</sup>, Rita Fanelli<sup>1</sup>, Francesco Tancredi<sup>2</sup>, Antonino Siclari<sup>3</sup> & Luisa Garofalo<sup>1</sup>

Forensic Science International: Genetics 5 (2011) 345–349

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics

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



ELSEVIER

Case report

## Wildlife molecular forensics: Identification of the Sardinian mouflon using STR profiling and the Bayesian assignment test

Rita Lorenzini<sup>a,\*,</sup> Pierangela Cabras<sup>b</sup>, Rita Fanelli<sup>a</sup>, Giuseppe L. Carboni<sup>c</sup>





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Int J Legal Med (2005) 119: 295–302  
DOI 10.1007/s00414-005-0545-9

## TECHNICAL NOTE

Bruce Budowle · Paolo Garofano · Andreas Hellman ·  
Melba Ketchum · Sree Kanthaswamy ·  
Walther Parson · Wim van Haeringen · Steve Fain ·  
Tom Broad

## Recommendations for animal DNA forensic and identity testing

Received: 29 November 2004 / Accepted: 29 March 2005 / Published online: 16 April 2005  
© Springer-Verlag 2005



**SOCIETY FOR  
WILDLIFE FORENSIC SCIENCE**  
Providing Standards • Education • Certification

home mission events swfs membership programs news contact donate swgwild follow us on twitter

About SWGWILD SWGWILD Work Products

### ABOUT SWGWILD

The Scientific Working Group for Wildlife Forensic Sciences (SWGWILD) formed in 2011, brings together wildlife forensic science experts to standardize and promulgate best practices across the


### Recent News

SWFS Newsletter January 2016  
University of Florida Wildlife Forensic



**CeMedForVet**

Centro di Referenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria



EUROPEAN NETWORK OF FORENSIC SCIENCE INSTITUTES

Home Contact About ENFSI News Agenda Projects Documents Hall of Fame IFSA

search website search

members login

home > about enfsi > structure > working groups > animal, plant and soil traces

### Animal, Plant and Soil Traces

#### Aims and objectives

The Animal Plant and Soil Traces expert working group (APST) supports the aims and objectives of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) in the area of casework analysis of all kinds of biological traces of non-human origin and soil traces. The activities of APST offers a scientific platform to exchange experiences, to discuss analytical issues concerning morphological and molecular aspects, to plan collaborations in the field of general biology and to generate a network of forensic biological experts. It will provide a forum for the validation, introduction and improvement of morphological, chemical, physical and molecular biological analysis in casework.

2015-6-9 ENFSI Guideline for Evaluative Reporting in Forensic Science  
2015-6-9 ENFSI Annual Meeting 2015  
2015-6-9 Final Reporting of ENFSI Monopoly Programme 2010  
2015-5-5 ENFSI Annual Report 2014  
More news

Short Summer Course in

## SWGILD Standards and Guidelines

(Version 2.0-Accepted by SWGWILD December 19, 2012)

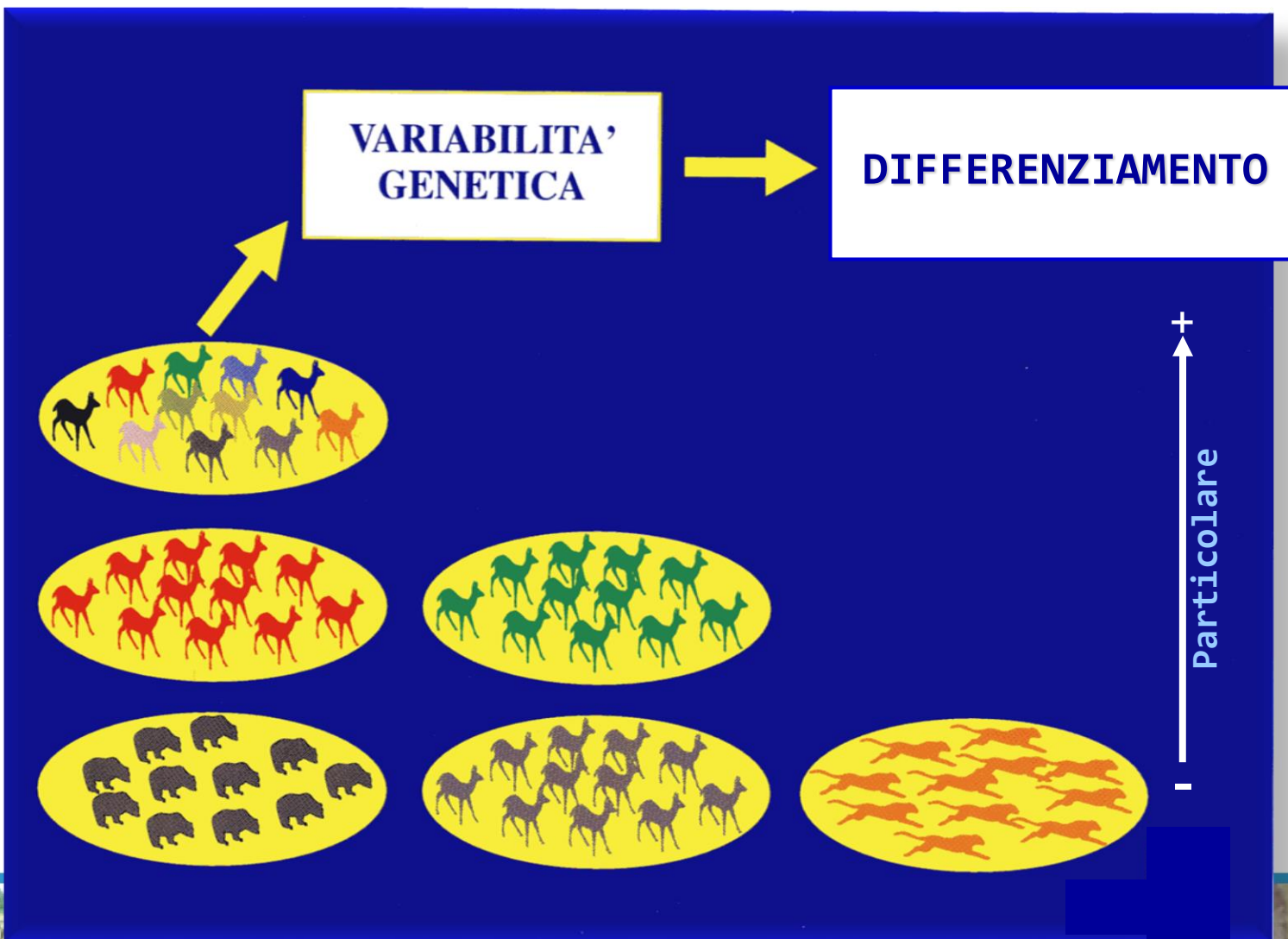
### 1.0 Scope

This document provides minimum standards and additional guidelines for wildlife forensic analysts in the subdisciplines of DNA and morphology. This document covers good laboratory practices, evidence handling, and training which are central to all forensic laboratories. They also include critical considerations of phylogeny, taxonomy, and reference collections that are specific to wildlife forensic science.

### 2.0 Definitions

*Note: These definitions apply to General, DNA and Morphology Standards and Guidelines. Definitions specific to DNA and Morphology are located in those respective sections.*







# Marker

## DNA nucleare

Autosomi: STR (Short Tandem Repeats) specie-specifici

Cromosoma Y: STR specie-specifici

Autosomi: SNP (Single Nucleotide Polymorphism) specie-specifici

Cromosomi sessuali: ⇒ Amelogenina o gene analogo (mammiferi)  
⇒ CHD (uccelli)

## DNA mitocondriale

Citocromo b, D-loop, 12S, ND6, ND1, COI

## Tecniche

Analisi di frammenti

Sequenziamento (Sanger)

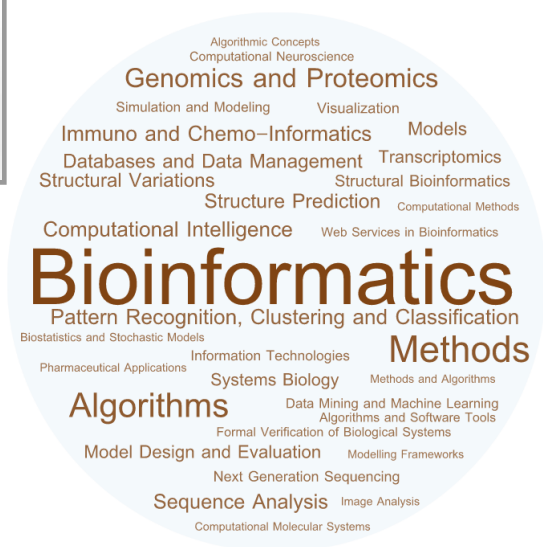
PCR Real Time

PCR end point

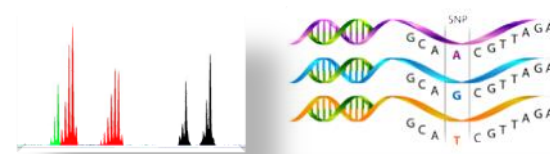


# Le tecniche del futuro

## High-throughput sequencing technology



### STR and SNP genotyping



### Massive sequencing





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CeMedForVet

Centro di Referenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria







Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria



**Maltrattamenti**

Legge 189/2004





Legge 201/2010

Tratta dei cuccioli



....e di uccelli





# Ordinanza Min. Salute 8/8/2022

## Avvelenamenti

Lasciava bo  
denunciato

**Enunciato** **Secchi avvelenati in bo**  
E' 63enne: per polizia provinciale ha provocato morte 3 animali  
21 ottobre, 15:38



**Teramo, cani avvelenati al parco fluviale**

Quattro i casi segnalati in meno di un mese: un decesso

TERAMO - L'alta  
giorni fa all'int  
da uno dei doc  
lezione: "Non  
parco fluvia  
che diva



TERAMO - L'allarme  
giorni fa all'interno d  
da uno dei docenti  
lezione: "Non lasc  
parco fluviale da  
si stia diverten

divertendo  
nelle ultime settimane  
colta, davvero  
rebbe generare non poca preoccupazione.  
ramani che hanno un amico a quattro zampe e che  
quotidianamente amano trascorrere da quelle parti un  
po' di tempo con il proprio fedele amico. Sarebbero  
quattro, secondo le prime indiscrezioni all'interno  
della facoltà di Veterinaria, i casi di avvelenamento in

**MANTOVA FA I CONTI CON LE UOVA AVVELENATE  
PER GLI ANIMALI**



I bocconi disseminati nel parco di Poggio Rusco (Mantova) frequentato dai bimbi. Altri tre felini sono in fin di vita. Hanno mangiato le esche in un'altra zona periferica del paese.

Cani e gatti avvelenati con qualcuno ha iniettato alla coque, nel quale anticrittogamico. Una morte atroce per gli animali, tra spasmi e convulsioni soffocamento. È alla bocca a Poggio Rusco dove i veterinari sono in allarme per una serie di uccisioni avvenute bambini.

nelle ultime settimane nel parco giochi dei bambini

**SHOCK NEL PARCO NAZIONALE**

Trovati cadaveri  
il "simbolo"  
del Paroo e la sua  
compagna: una  
capra come esca

**IL LEGGERO CRIMINALISTA**  
L'AGUILA - Un duro colpo  
partitico-finanziario. Al Pa-  
ri nazionale di Milano, La-  
sca Mattia, presidente con-  
tra i Pirelli. Un duro colpo  
peraltro alla spinta peraltro  
dall'azienda di Milano della  
di Pirelli. (Ora, insomma,  
che in un colpo solo si è

A PESCHIO  
UN 4° ORGO  
13 anni sono  
dopo il rinnovo  
a ridosso di  
Pescasseroli  
A rischio  
anche in  
questo  
momento



**LA FINE DI  
BERNARDO**  
Il cadavere  
dell'orso  
fornisce  
per la volta  
prima  
e al parco  
del Pireo  
nazionale



**BRUNO, "I  
Abbatino**



GIUSTIZIATO  
in Germania dopo



IN BAVIERA  
no una foto

## Avvelenato anche Bernardo: è strage di orsi in Abruzzo

**Uccisi 3 esemplari: taglia di 10.000 euro sui responsabili. Morti pure 2 lupi**

[illegible][illegible]

Pratesi: «Mandiamo gli 007 a caccia di questi cr

**L'INCHIÀ** La salpa per la morte che incute il terrore. È stata segnalata in chi sul Piano nazionale di Sicurezza. L'area di Milano c'è stato per l'ultima volta nel gennaio 2014, la prima volta.



## Scena del Crimine

Sopralluogo



Repertamento

Il sopralluogo e il repertamento sulla scena del crimine sono le fasi fondamentali di un'indagine giudiziaria



## Fonti di Prova

### **Campione Ripetibile** **Accertamenti tecnici ripetibili** **(Art. 359 cpp)**

*Non è legato alla quantità, ma alla possibilità di prelevare tre aliquote, di cui:*

una per gli accertamenti che effettua il laboratorio referente,  
una per le analisi che la parte indagata può far effettuare da un perito di parte a sua scelta, e  
un'altra a disposizione dell'autorità giudiziaria per un'eventuale contro-perizia

### **Campione NON Ripetibile** **Accertamenti tecnici non ripetibili** **(Art. 360 cpp)**

*E' un campione unico, da cui non è possibile prelevare tre aliquote, a causa della scarsa quantità o della tipologia del campione*



*Le analisi possono essere effettuate una sola volta*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

# sulla SCENA del CRIMINE REPERTI





## Tutela Fauna

Saperne di più  
per proteggere meglio

### Notizie

### Legislazione

### Giurisprudenza

### Materiali

[Caccia & bracconaggio](#)

[Pesca](#)

[Commercio & maltrattamenti](#)

[Tutela & ricerca](#)

[Vigilanza & norme](#)

[Segnalazioni](#)

[Pescate dalla rete](#)

[Ragliodromo](#)

## Parco Naturale Regionale dei Monti Simbruini: ristoranti con menù a base animali protetti

Due persone denunciate, oltre 100 i chili di carne sequestrata tra cui tordo, cinghiale selvatico e soprattutto tasso di cui è vietata la caccia (09/11/07)

Questo il bilancio dei controlli effettuato, dopo lunghe indagini e pedinamenti, dagli investigatori del Nirda (Nucleo Investigativo per i Reati in Danno agli Animali), in alcuni ristoranti e strutture ricettive nei comuni di Trevi nel Lazio e Jenne, all'interno del Parco Naturale Regionale dei Monti Simbruini. Per i controlli specifici il Nirda della Forestale, il nucleo delle frodi alimentari, da parte dell'Antibracconaggio) del Comando Provinciale di Frosinone - Servizio Igiene







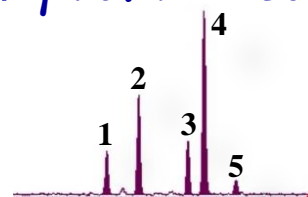




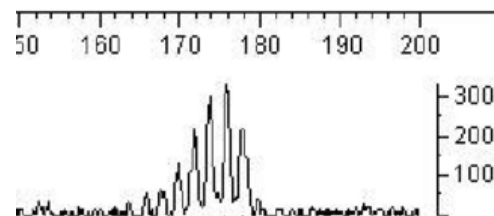


## Laboratorio Tracce (LCN - Low Copy Number DNA Lab)

- Contaminazione da DNA HCN  
(High Copy Number) ⇒ profili misti



- Artefatti da amplificazione  
(drop-out, drop-in, high baseline, stutter)



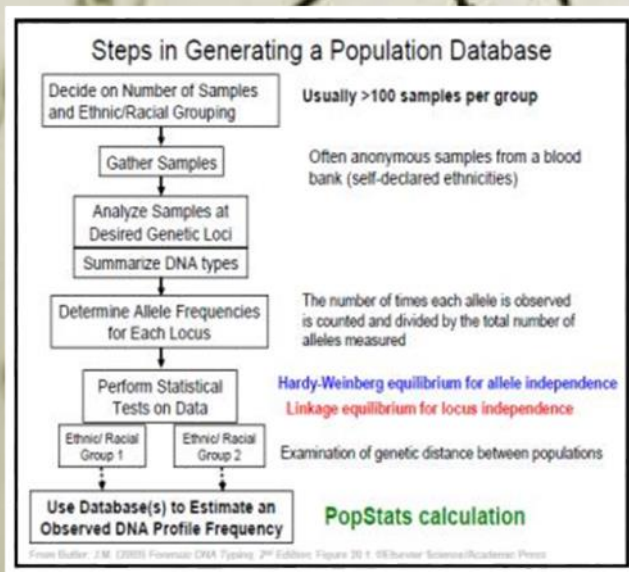


*don't go away*





# ANALISI BIOSTATISTICA



## Test delle Ipotesi

Formulazione delle ipotesi

- Ipotesi nulla ( $H_0$ )
- Ipotesi alternativa ( $H_1$ )

RACCOLTA DATI GENETICI

Confronto delle ipotesi

$$\frac{(H_1)}{(H_0)}$$





*In qualunque affermazione empirica  
(analisi) è insito un certo livello di  
incertezza*



*L'analisi statistica dei dati genetici dà  
un peso (significato) all'evidenza  
(dato grezzo) e vi associa gli errori  
o le indeterminazioni*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

## Uccisione illegale

4G 77% 14:08

Cronaca / Coriano

### Orrore alla fermata dell'autobus: un lupo ucciso ed impiccato alla pensilina

Il fatto è stato scoperto sabato mattina da alcuni ragazzini arrivati alla fermata del bus per andare a scuola: sul posto si sono precipitati gli agenti della Polizia Municipale

Redazione

04 NOVEMBRE 2017 10:32



CeMedForVet

Centro di Referenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

CRONACA

### Coriano, lupo appeso alla fermata del bus. Due denunciati / FOTO

*Le sevizie: aveva la testa fracassata e buchi sul corpo come se l'avessero colpito col forcone*

di ANDREA OLIVA

★★★★☆ 3 Voti

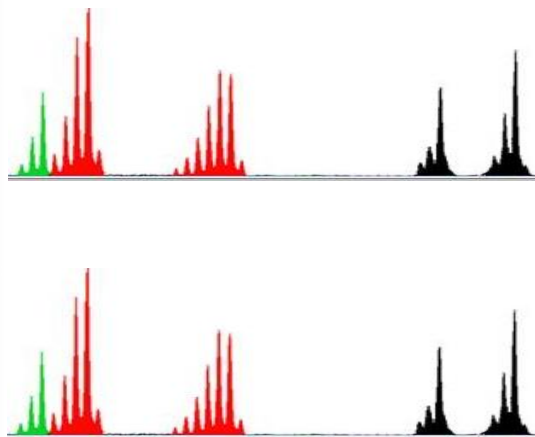
Pubblicato il 15 maggio 2018

Ultimo aggiornamento: 15 maggio 2018 ore 14:50

#### Coriano, lupo appeso alla fermata del bus. Le foto



# DNA match







*Dire che due profili genetici coincidono senza fornire  
alcuna stima della probabilità con cui potrebbero  
coincidere per effetto del caso*

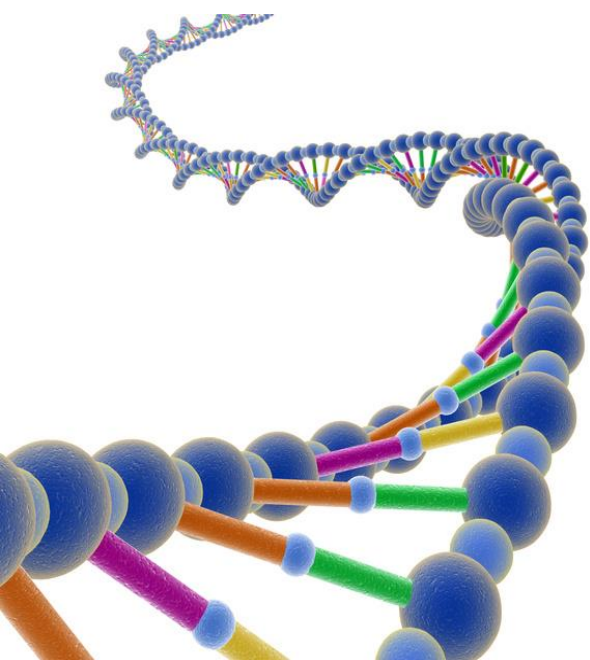
**NON HA SIGNIFICATO**



*I risultati dei test del DNA si  
esprimono in termini di  
Probabilità*

*Possibilità che un evento  
si verifichi*

*Si stima la  
probabilità che il  
parametro assuma  
certi valori*





## Sistema Probabilistico Mendeliano

**Popolazione**



 *genotipo A*

 *genotipo B*

 *genotipo C*

 *genotipo D*

**STIMA**

*Frequenze genotipiche*



*Frequenze geniche (=allelliche)*



**DATABASE di POPOLAZIONE**



# Test delle Ipotesi

Formulazione delle ipotesi

- Ipotesi nulla ( $H_0$ )
- Ipotesi alternativa ( $H_1$ )

RACCOLTA DATI GENETICI

Confronto delle ipotesi

$$\frac{(H_1)}{(H_0)}$$



## La significatività del "match"

**Random Match Propability (RMP)**  
(Prodotto tra eventi indipendenti)

*La probabilità che il DNA di un individuo preso a caso dalla popolazione abbia lo stesso profilo genetico del campione in esame*

	Locus	Allele 1	Frequenza di popolazione	Allele 2	Frequenza di popolazione	RMP	RMP combinata*
2pq	Ta1	122	0.246	114	0.754	0.370	
2pq	Ta2	88	0.540	90	0.460	0.497	0.164
p <sup>2</sup>	Ta3	210	0.640			0.410	0.067
	Ta4	...	...	...	...	* = Regola del Prodotto	




## La significatività del "match"


Random Match Propability (RMP)  
(Prodotto tra eventi indipendenti)

*La probabilità che il DNA di un individuo preso a caso dalla popolazione abbia lo stesso profilo genetico del campione in esame*

**La Random Match Probability per questo profilo è  $1.43 \times 10^{-6}$**

$$\frac{1}{[p(G/H_1) / p(G/H_0)]} = \frac{1}{(1.43 \times 10^{-6})} \cong 1 \text{ in } 700\,000$$

  
**RMP**

  
**LR**  
*(Likelihood Ratio)*





**Quesito:**

*“Accerti il c.t. se esista compatibilità tra i reperti campionati nella vettura e il lupo oggetto di sequestro”*

**Risposta:**

Il profilo genetico ottenuto dalla traccia di sangue repertata nella vettura coincide con quello ottenuto da peli e muscolo della carcassa di lupo.

Le analisi statistiche indicano che è circa 700.000 volte più probabile che la traccia di sangue sia stata lasciata dal lupo in oggetto, piuttosto che sia stata lasciata da un altro lupo preso a caso da una popolazione di lupi<sup>1</sup> altamente consanguinea (costituita, ad esempio tutta da fratelli), ovvero applicando il calcolo statistico in modo altamente conservativo (vale a dire garantista).

<sup>1</sup> la popolazione italiana di lupo è stata recentemente stimata in 3300 individui (ISPRA 2022)

- I dati genetici sono l'evidenza. Non accusano né discolpano nessuno
- I tecnici non devono esprimere giudizi, ma fornire un peso all'evidenza



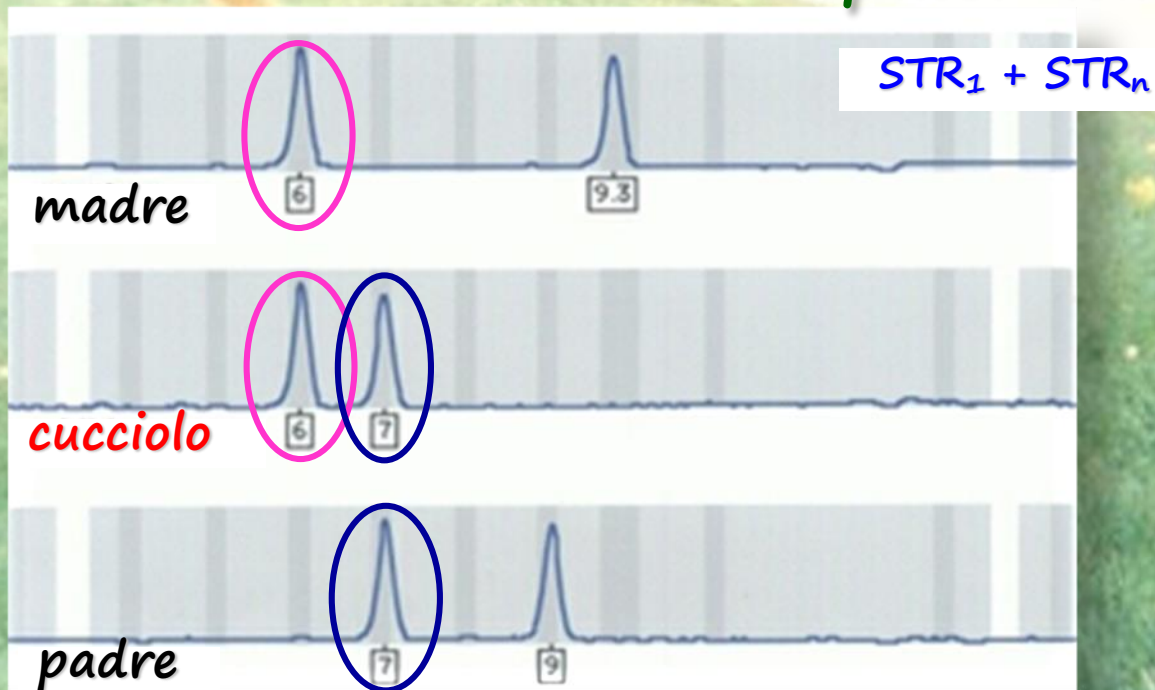
*test di paternità*

**i think i want a paternity test**





## test di paternità



i think i want a paternity test







Dire che il candidato X è il padre biologico del figlio Y  
semplicemente perché condivide il 50% degli alleli,  
senza fornire la probabilità con cui potrebbe  
condividerli solo per effetto del caso,  
**NON HA SIGNIFICATO**



Indice di  
Paternità

$$\text{Rapporto di Verosimiglianza (LR)} = \frac{H_1 \text{ (ipotesi da testare)}}{H_0 \text{ (ipotesi nulla)}} = \frac{X \text{ è il padre biologico}}{\text{il padre biologico è diverso da } X}$$

L'Indice di Paternità  
esprime la misura di quante volte è più verosimile  
l'ipotesi  $H_1$  rispetto all'ipotesi  $H_0$



Indice di  
Paternità

$$\text{Rapporto di Verosimiglianza (LR)} = \frac{H_1 \text{ (ipotesi da testare)}}{H_0 \text{ (ipotesi nulla)}} = \frac{\text{Probabilità } (G|H_1)}{\text{Probabilità } (G|H_0)}$$

$G$  = dato genetico = genotipi

L'Indice di Paternità  
esprime la misura di quante volte è più verosimile  
l'ipotesi  $H_1$  rispetto all'ipotesi  $H_0$





Indice di  
Paternità

$$\text{Rapporto di Verosimiglianza (LR)} = \frac{H_1 \text{ (ipotesi da testare)}}{H_0 \text{ (ipotesi nulla)}} = \frac{\text{Probabilità } (G|H_1)}{\text{Probabilità } (G|H_0)} = 1000$$

$G$  = dato genetico = genotipi

## STATEMENT

Date le osservazioni genetiche (profilo del figlio F1 e profilo del presunto padre P1), è 1000 volte più probabile che tali profili vengano osservati se l'individuo P1 è il padre biologico dell'individuo F1, piuttosto che vengano osservati nel caso un altro individuo preso a caso dalla popolazione sia il padre biologico di F1



## Dal rapporto di verosimiglianza.....

Indice di  
Paternità

$$\text{Rapporto di Verosimiglianza (LR)} = \frac{H_1 \text{ (ipotesi da testare)}}{H_0 \text{ (ipotesi nulla)}} = \frac{X \text{ è il padre biologico}}{\text{il padre biologico è diverso da } X}$$

Formula di Essen-Møeller

$$\frac{1}{1 + \left[ p(G/H_0) / p(G/H_1) \right]} = \frac{LR}{1 + LR}$$

↓  
1/LR

.... ad un valore  
numerico di  
probabilità

Ciò implica assunzioni a priori non  
sempre giustificabili





***Quesito:***

*stabilisca il c.t. se i tre cuccioli identificati con:*

- 1. microchip 380260101927305, nome XXX, femmina, età circa tre mesi*
- 2. microchip 380260101925961, nome YYY, maschio, età circa tre mesi*
- 3. microchip 380260140244468, nome WWW, maschio, età circa tre mesi*

*siano figli della femmina identificata con:*

- 4. microchip 642098200543086, nome ZZZ, età circa sei anni*

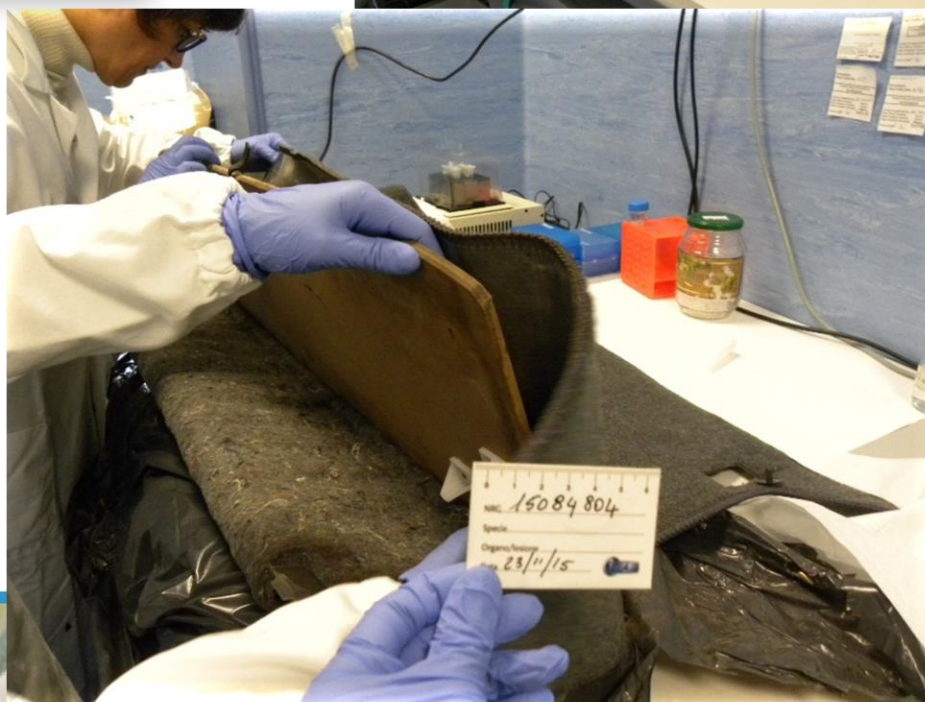
**Risposta:**

Dall'analisi di un set di 23 marker STR e da un calcolo biostatistico conservativo ( $\theta = \text{theta} = 0.11$ ) emerge un'attribuzione di maternità alla femmina ZZZ nei confronti di tutti e tre i cuccioli, con una **probabilità superiore al 99.99%.**





## Il tappetino di Udine



## Il tappetino di Udine







### Quesito:

“Accerti il c.t.

1. la specie di appartenenza delle tracce  
rinvenute nell’auto

2. La eventuale compatibilità tra i profili  
genetici dei due cani Marley e Akita e  
quelli delle tracce rinvenute nell’auto.”

**Tabella 1.** Profili genetici ai 7 loci STR amplificati dal Reperto n. 2, di cui al punto 4 di Pag. 1, e dai due cani, di cui ai punti 2 di Pag.1 e 5 di Pag. 3.

	C09.250	CPH16	FH2096	CPH9	FH2088	FH2137	FH2004
Reperto 2	123/137	173/173	98/102	148/148	106/114	158/162	172/172
cane femmina AKITA	123/137	149/173	98/98	140/148	114/122	158/162	172/172
cane maschio MARLEY	123/137	173/173	98/102	148/148	106/114	158/162	172/172

Come si può notare dalla Tabella 1, i profili del Reperto n. 2 e del cane maschio “MARLEY” coincidono.

Per dare un peso all’evidenza, ovvero per fornire un significato a questo match, è stata calcolata la RMP (Random Match Probability) e il rapporto di verosimiglianza LR (Likelihood Ratio).

Il database di popolazione in uso presso il Laboratorio di Genetica Forense del Centro di Riferenza Nazionale per la Medicina Forense Veterinaria per il calcolo delle frequenze alleliche, necessarie per la stima della RMP, è costituito da 114 cani appartenenti a diverse razze e a meticci (cfr Lorenzini *et al.* 2014).







### Quesito:

“Accerti il c.t.

1. la specie di appartenenza delle tracce rinvenute nell’auto

2. La eventuale compatibilità tra i profili genetici dei due cani Marley e Akita e quelli delle tracce rinvenute nell’auto.”

Il calcolo delle frequenze alleliche (leggi geniche) è stato effettuato con il software Genetix.

L’equilibrio di Hardy-Weinberg (HWE) e il linkage equilibrium (LE) nella popolazione (leggi database) sono stati verificati con il software Genepop.

I calcoli per la stima della RMP e del LR sono stati eseguiti utilizzando un foglio di calcolo Excel.

Le frequenze genotipiche (da cui dipendono RMP e LR) sono state calcolate applicando la correzione di Balding e Nichols, secondo le raccomandazioni 4.10a e 4.10b del NRC II Report (National Research Council, 1996), utilizzate in forense umana. E’ stato applicato il valore di  $\theta = 0.09$ , come suggerito da Kanthaswamy *et al.* (2009) per il cane.

E’ stata inoltre applicata la correzione per la presenza di alleli rari. E’ stata cioè ottenuta una stima conservativa della frequenza dell’allele raro “106” al locus FH2088 tramite la formula  $5/2N$ , con  $N$  = dimensione della popolazione, seguendo la raccomandazione del National Research Council Report (1996).

Le correzioni sono state applicate per ottenere una stima **molto conservativa** di RMP (Tabella 2), ovvero “garantista” poichè favorisce l’ipotesi che i due profili coincidenti lo siano solo per effetto del caso e non perchè provengano dallo stesso individuo. Tali correzioni tengono largamente conto della consanguineità presente all’interno delle razze di cani e quindi della presenza di sottopopolazioni.

I risultati mostrano che la RMP totale relativa al profilo in questione risulta essere di  $5 \times 10^{-7}$  ( $LR = 1/RPM = 1$  in circa 2 milioni).





- I dati genetici sono l'evidenza. Non accusano né discolpano nessuno
- I tecnici non devono esprimere giudizi, ma fornire un peso all'evidenza

### Conclusione:

1. dal Reperto n. 1, di cui al punto 3 di Pag. 1, non è stato estratto DNA, mentre dal Reperto n. 2, di cui al punto 4 di Pag. 1, è stato estratto DNA di cane.
2. il profilo ottenuto dal Reperto n. 2 coincide con quello del cane maschio "MARLEY", di cui al punto 5 di Pag. 3. Le analisi statistiche indicano che è circa 2 milioni ( $LR = 1\,997\,697.118$ ) di volte più probabile che la traccia di sangue riferibile al Reperto n. 2 sia stata lasciata dal cane maschio "MARLEY", piuttosto che sia stata lasciata da un altro cane preso a caso dalla popolazione.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



CeMedForVet

Centro di Riferenza Nazionale  
per la Medicina Forense Veterinaria

# Grazie dell'attenzione

