

Perspectivas sobre a análise e importância de amostras de DNA de toque para a elucidação de crimes.

Daniela de Oliveira Francisco; Cintia Fridman*

Departamento de Medicina Legal, Bioética, Medicina do Trabalho e Medicina Física e Reabilitação, Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, BR.

*Endereço de email para correspondência: cfridman@usp.br. Tel+55 11 3061 8408.

Recebido em 10/11/2021; Revisado em 01/09/2023; Aceito em 20/12/2024

Resumo

Impressões digitais são vestígios encontrados em cenas de crimes que podem ser usados em análises forenses para a obtenção de perfis STR a partir do DNA recuperado das mesmas, técnica conhecida como DNA de Toque. Porém, muitos fatores podem afetar a obtenção e a qualidade desses perfis, como a porosidade da superfície em que o DNA foi depositado, as condições ambientais nas quais a amostra ficou exposta, a capacidade inerente que cada indivíduo possui de doar mais ou menos células (*status shedder*), o nível de degradação do DNA, entre outros. Além disso, uma vez coletadas, as amostras de DNA de Toque se mostram desafiadoras, na medida em que o processamento de quantidades ínfimas de material genético pode ocasionar uma série de artefatos nos perfis gerados, o que dificulta a identificação do contribuidor ali presente. Em um país como o Brasil, no entanto, em que o índice de criminalidade é alto, vem crescendo o número de vestígios dessa natureza coletados, e, portanto, torna-se evidente a necessidade no aperfeiçoamento dessa técnica com o intuito de gerar perfis mais completos e passíveis de interpretações corretas.

Palavras-Chave: DNA de Toque; perfil genético; STR; Identificação Humana; Genética Forense

Abstract

Fingerprints are traces commonly found in crime scenes and used in forensic analysis to obtain STR profiles from the DNA recovered from them. This technique is known as Touch DNA. Several factors can affect the obtaining and quality of these profiles, such as the type of surface on which the genetic material is deposited, the environmental conditions where the trace was deposited, the shedder status (capable of a person deposit more or less cells), degradation ratio and others. Besides, Touch DNA samples are challenge, once the processing of low quantities of DNA can result in a profile with many artifacts, difficulting the identification of the individual. However, in a country as Brazil, where the crime ratio is high, the collection of this kind of sample is increasing. Therefore, it is important enhance this technique in order to obtain more reliable and complete profiles.

Keywords: Touch DNA; genetic profile; STR; Human Identification; Forensic Genetic.

1. INTRODUÇÃO

A identificação é o ato de estabelecer a identidade de algo ou alguém, individualizando um determinado objeto ou ser humano a fim de lhe atribuir a qualidade de autêntico [1]. Mas para que a identificação de qualquer elemento seja possível, é necessário lhe atribuir um conjunto de caracteres próprios capazes de diferenciar pessoas ou objetos entre si [2].

No âmbito da criminalística, muitos métodos foram desenvolvidos desde os primórdios da humanidade para a identificação de criminosos, progredindo desde a marcação com ferro aquecido em brasa (Ferrete) até métodos como a papiloscopia, baseada na análise de impressões digitais [2].

Nos últimos anos, porém, houve grande crescimento da área forense ao redor do mundo, e novas técnicas têm sido empregadas nos laboratórios de investigações criminais a fim de auxiliar na elucidação de crimes [3-6].

Dentre eles, destaca-se o uso do DNA para a identificação de criminosos, uma vez que essa molécula não é idêntica para todas as pessoas e, portanto, permite individualizá-las, com exceção de gêmeos monozigóticos.

A molécula de DNA passou a ser o alvo de inúmeras investigações forenses [7,8] pois é praticamente impossível que alguém cometa um crime sem deixar nenhum rastro de seu próprio DNA para trás. Isso porque, durante o ato criminoso, diversos tipos de evidências biológicas podem ser transferidas para objetos utilizados pelo infrator, tornando-se importantes para as investigações periciais, podendo ajudar a culpabilizar ou inocentar suspeitos [9-10].

Sendo assim, o propósito deste artigo é revisar as vantagens, dificuldades e desafios da análise de amostras de DNA para a identificação de criminosos obtidas por meio de impressões digitais deixadas em cenas de crimes, passíveis de serem utilizadas para a geração de perfis genéticos indivíduo-específicos.

2. METODOLOGIA

Para este trabalho foi realizado um levantamento bibliográfico simples de artigos originais na base de dados PUBMED, usando os termos: “DNA”, “touch DNA” e “trace DNA”, interligadas pelos termos “OR” e “AND”. Foram excluídos os artigos de língua não inglesa e aqueles em que no resumo indica experimentos que não eram sobre DNA de toque.

3. DESENVOLVIMENTO DO TEMA

3.1 Identificação Humana por DNA

A análise da molécula de DNA é de grande utilidade para o sistema de justiça criminal, pois permite determinar a relação entre o material genético encontrado numa cena de crime com o material genético obtido a partir do indivíduo considerado suspeito de ter cometido o delito em questão [11]. Assim, o DNA, auxilia nas investigações, na medida em que permite estabelecer, ou não, vínculos entre o suspeito e as evidências encontradas no local onde ocorreu o ato criminoso [8,12]. Isso é possível porque o DNA, tanto aquele coletado em cenas de crimes, quanto o obtido das amostras-referências de um suspeito, pode ser utilizado para gerar perfis genéticos responsáveis por individualizar pessoas, ou seja, perfis indivíduo-específicos (que diferem de uma pessoa para outra), baseados na análise de um conjunto de regiões do DNA [8,13].

Essa habilidade de atribuir um perfil de DNA a uma determinada pessoa foi uma revolução na genética

molecular humana e se tornou fundamental para a resolução de diversas investigações criminais [8,14], tendo em vista que a molécula de DNA pode ser encontrada em quase todas as células humanas [13,15]. Dessa maneira, os perfis genéticos passaram a ser aplicados em diversos tipos de infrações, como assaltos com armas (de fogo e armas brancas), crimes sexuais, roubos, homicídios, etc [4].

O uso de perfis de DNA foi descrito pela primeira vez em 1985, pelo geneticista Alec Jeffreys, após sua descoberta de que certas regiões do genoma possuíam sequências repetidas, e que esse número de repetições diferia de indivíduo para indivíduo (polimorfismos do genoma) [8]. Esses sítios existem aos milhares ao longo de todo o material genético humano, e são considerados marcadores biológicos capazes de conferir individualidade às pessoas, uma vez que podem ser caracterizados como regiões do DNA em que a sequência de nucleotídeos não é a mesma para todos os indivíduos [8]. Portanto, apesar de mais de 99,1% do genoma ser idêntico para toda a população humana, a análise dessas sequências polimórficas do DNA pode ser utilizada para correlacionar e diferenciar pessoas [16].

O primeiro tipo de polimorfismo a ser usado no âmbito forense foi a sequência descrita por Jeffreys em 1985, chamada de Números Variáveis de Repetições em Tandem (VNTR – *Variable Number of Tandem Repeats*), cujo comprimento pode variar de 8 até 100 pares de base num determinado local do genoma [8]. A introdução desses marcadores moleculares genéticos foi uma revolução em termos de identificação humana.

Porém, a análise de amostras extremamente degradadas de DNA se mostrou muito difícil com o uso dos marcadores VNTR, dada a exigência do alto peso molecular necessário para que eles fossem detectados [8]. Dessa maneira, com o passar do tempo, a genética forense sofreu muitas evoluções e os VNTR deram espaço para outro tipo de polimorfismo, as Sequências Curtas Repetidas em Tandem (STR – *Short Tandem Repeats* ou microssatélites). Os STR são menores que os VNTR e podem ser definidos como sequências curtas, repetidas várias vezes, sendo que o número de repetições é variável e a unidade de repetição varia de 2 a 8 pares de bases [8], como exemplificado na Figura 1.

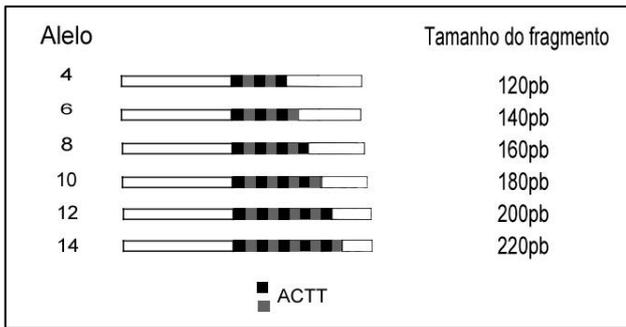


Figura 1 – Variação de alelos para um mesmo locus STR baseado no número de repetições da sequência de nucleotídeos. Unidade de repetição: ACTT.

O STR é o tipo de polimorfismo mais utilizado para resolução de casos forenses [17,18], uma vez que possuem baixo peso molecular. Assim, apresentam uma série de vantagens em relação a outros marcadores, como o fato de possibilitarem a obtenção de resultados mais satisfatórios na recuperação de perfis de amostras antigas e degradadas [8,17]. Além disso, permitem genotipar amostras com quantidade ínfima de material genético, como fios de cabelo (contendo bulbo), manchas de sangue ou células epiteliais coletadas em algum objeto usado pelo suspeito [3].

O sucesso do uso dos STR se explica na medida em que o uso de marcadores genéticos altamente variáveis na população humana, e passíveis de serem combinados para aumentar o poder de discriminação na análise de um perfil de DNA, é fundamental para individualização e identificação pelo DNA [8]. Esse é o caso do polimorfismo em questão, pois como o número de repetições nos diversos STR é muito variável, cada diferença é considerada um alelo distinto. Assim, durante a produção de um perfil de DNA, é possível analisar simultaneamente um número selecionado de STRs, aumentando o grau de certeza de que o perfil gerado corresponda a um determinado indivíduo, pois é improvável que a combinação de vários desses polimorfismos em uma pessoa seja igual à combinação em outra, com exceção dos gêmeos monozigóticos [8].

A **Figura 2** exemplifica um perfil de DNA obtido a partir da amostra-referência de sangue periférico de um indivíduo do sexo feminino, cuja análise foi feita para 24 marcadores STR, distribuídos em diferentes cromossomos.

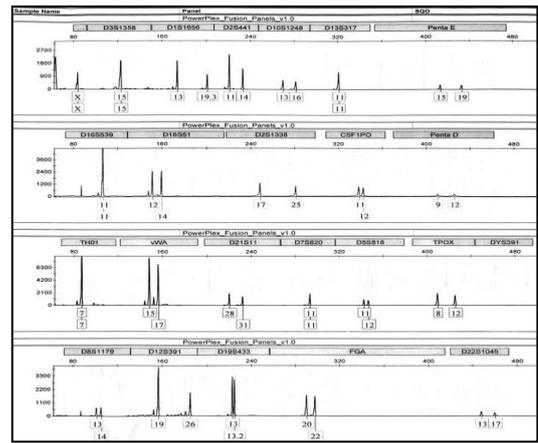


Figura 2 – Perfil de DNA obtido de um indivíduo do sexo feminino a partir de extração de sangue periférico, cuja amplificação foi realizada com o Kit PowerPlex® Fusion System (Promega). Fonte: Depto Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho, FMUSP..

Atualmente, existem inúmeros bancos de dados, em diferentes países, capazes de armazenar as informações dos perfis de DNA de criminosos, por meio do uso de diferentes conjuntos de loci STR. O maior deles é o CODIS (Sistema Combinado de Índices de DNA - *Combined DNA Index System*), estruturado pelo FBI em 1996, que estabeleceu o uso de pelo menos 13 loci de STRs específicos, de maneira a garantir alta probabilidade de que o perfil gerado seja de uma determinada pessoa. A partir de janeiro de 2017 outros sete loci STR foram adicionados ao CODIS, somando 20 marcadores ao sistema, expandindo ainda mais o seu poder discriminatório para a identificação humana [19,20]. Dessa maneira, devido à instalação do Sistema Combinado de Índices de DNA em diversos laboratórios ao redor do mundo, é possível garantir um intercâmbio das informações provenientes das análises desses STRs selecionados, facilitando assim a comparação dos resultados entre eles a nível nacional e internacional para solucionar diversos tipos de crimes [8, 21, 22].

Atualmente, os marcadores que fazem parte do Sistema CODIS são: CSF1PO, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA, TH01, TPOX, vWA, D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433 e D22S1045, sendo que os sete últimos são os marcadores que foram adicionados em 2017 [22].

3.2 Uso de Impressões Digitais para gerar perfis de DNA.

Ainda que seja possível obter, teoricamente, DNA de qualquer fonte biológica, a quantidade de material genético que pode ser extraída de cada evidência para gerar perfis de DNA pode variar [9].

Um dos tipos de vestígios comumente encontrados nas cenas de crimes são as impressões digitais, muito usadas para Identificação Humana por meio da

datiloscopia, tendo como base a individualidade, variabilidade e imutabilidade das papilas dérmicas [23]. No entanto, as impressões digitais podem estar presentes em vários graus de qualidade [24] e em alguns casos criminais não são úteis para fins datiloscópicos [25], por estarem incompletas, alteradas ou danificadas, afetando os padrões necessários para a identificação [25,26].

Nesse contexto, além do uso datiloscópico das impressões digitais, cabe destacar que a superfície da pele representa uma grande fonte em potencial para a obtenção de perfis de DNA, pois após friccionar o rosto, nariz, boca e outras regiões, um grande número de células nucleadas fica nas mãos e nos dedos, passíveis de serem transferidas para outros objetos ou superfícies, ou seja, as mãos e os dedos atuam como vetores de transmissão de outros tipos celulares, além das células que são originadas das próprias mãos [17].

Balogh *et al.* [27] demonstraram que a partir das impressões digitais é possível obter um baixo número de células epiteliais, sendo que uma parte considerável delas pode não conter núcleo, por serem corneócitos, células biologicamente mortas. Mesmo assim, esses pesquisadores evidenciaram que mesmo partindo dessa quantidade diminuta de células ainda é possível obter perfis de DNA completos que podem ser significativos para as investigações criminais.

Existem vários termos para se referir a essas amostras obtidas com baixas quantidades de material genético, como “trace DNA”, “touch DNA”, “Low Template DNA” e “Low Copy Number” (LCN), porém segundo van Oorschot *et al.* [4], cada um diz respeito a um momento da análise dessas amostras. Os termos “Trace DNA” (traço de DNA) e “touch DNA” (DNA de toque) se referem aos vestígios com quantidades ínfimas de DNA coletados em cena de crime e que podem ser transferidos a partir do contato da pele, permitindo obter perfis de DNA [4,14,17]. Cada vez mais, a comunidade científica forense tem se concentrado em investigar as características do traço de DNA e melhorar os métodos de coleta, amplificação e interpretação do mesmo [4].

Já o termo “Low Template DNA” se refere ao material genético em pouca quantidade submetido à amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), cuja consequência muitas vezes são efeitos estocásticos devido às quantidades diminutas de DNA. Por fim, “Low Copy Number” (LCN) é o termo específico usado para amostras submetidas a um aumento de sensibilidade na PCR por conta de um aumento do número de ciclos [4]. Algumas amostras de DNA de toque não são amostras LCN, pois possuem quantidade de DNA suficiente para análises convencionais, sem modificações. Mas muitas amostras nas cenas de crime se qualificam como LCN e

devem ser distinguidas e analisadas de maneira adequada [28].

3.3 Tipos de transferências de DNA.

Amostras de DNA de toque, assim como qualquer evidência biológica, podem ser deixadas em um local ou em um objeto por transferência primária ou secundária. O primeiro caso diz respeito a qualquer vestígio que tenha sido depositado por um indivíduo de maneira direta, por exemplo, quando uma pessoa toca um objeto ou superfície. Já a transferência secundária ocorre quando essas evidências biológicas são transferidas a partir de um agente intermediário, que pode ser uma outra pessoa ou um outro objeto [9,10,14]. Nesse caso, não ocorre contato físico entre o depositador original do DNA e a superfície final onde o material biológico ficou depositado [29].

Um dos mais famosos casos de transferência secundária já reportados foi o de Lukis Anderson, um sem-teto que, em dezembro de 2012, foi acusado do assassinato de Raveesh Kumra, um multimilionário do Vale do Silício. Vestígios de DNA encontrados na cena do crime estabeleceram o vínculo entre Lukis e o assassinato. No entanto, no dia em que o delito ocorreu, Lukis estava quase entrando em coma alcoólico num leito de hospital, sendo monitorado constantemente pela equipe médica. Posteriormente, descobriu-se que o DNA de Lukis Anderson foi acidentalmente transferido para a cena do crime por paramédicos que haviam sido designados para a residência de Raveesh Kumra e que haviam cuidado de Anderson momentos antes de saírem do hospital. Este caso ilustra que, apesar do sistema de justiça criminal baseado em evidências ser tratado como infalível, na realidade pode conter riscos e erros significativos. Se Lukis Anderson não possuísse um álibi para a noite do assassinato, ele teria sido condenado injustamente [30].

Dessa forma, a transferência secundária pode ser um problema para as análises forenses, pois pode vincular falsamente uma pessoa a um crime, ou seja, se o DNA desconhecido é deixado no local do crime de maneira indireta, pode ser que se conclua de maneira errônea que esse material biológico foi deixado a partir de um contato direto e que, portanto, essa pessoa esteve na cena do crime [31]. Por esse motivo, outras evidências circunstanciais devem ser levadas em consideração durante as investigações criminais.

Outro tipo de transferência que pode ocorrer é a contaminação, dada pela deposição de DNA nas amostras após o ato criminoso, como, por exemplo, durante a análise da cena do crime pelos investigadores, pelo pessoal do laboratório que examina a evidência, por contaminação ambiental etc. [14, 32].

Em muitos casos, os perfis genéticos obtidos das cenas de crimes podem resultar de uma combinação desses três diferentes tipos de transferências relatados e, portanto, serem considerados como misturas constituídas de DNAs de diferentes indivíduos que podem estar relacionados ou não ao crime. Nessas amostras de misturas haverá uma variação na quantidade de material deixado por cada contribuidor que a constitui [4,32], o que pode dificultar a diferenciação do material genético da vítima e do agressor [33]. Consequentemente, a interpretação dessas amostras complexas exigem muita cautela durante a análise dos resultados [4,14].

3.4 Variáveis que afetam a obtenção de perfis de DNA a partir de DNA de toque

Além da possibilidade de geração de perfis mistos, muito se discute acerca de outros fatores que podem interferir no sucesso da obtenção do perfil genético em amostras de DNA de toque.

A viabilidade da produção de perfis de DNA dependerá da qualidade e quantidade do DNA extraído. A variação na quantidade de DNA deixado num objeto que tenha sido manipulado pode depender de uma série de fatores [34]. Entre eles, pode-se destacar o quão bom doador o indivíduo é (*status shedder*) [10,35-37], as atividades do depositador anteriores ao toque e o tempo entre essas atividades [38-40], o tipo de superfície onde o DNA é depositado, a natureza do contato [41-43] e o tempo de persistência do material genético transferido em um determinado ambiente [44].

Em relação ao *status shedder*, estudos relataram que algumas pessoas depositam naturalmente mais DNA que outras. Essas pessoas são chamadas de bons doadores (*good shedders*), pois deixam quantidade suficiente de material genético mesmo após um breve toque com um objeto, gerando um perfil de DNA completo, ou seja, com a presença de todos os alelos dos STRs de interesse. Já outros, chamados de “doadores pobres” (*poor shedders*), deixam pouco DNA na superfície manuseada [38,42,45,46]. Estudos mostraram que mesmo tendo passado 2 horas desde a última vez que lavaram as mãos, os *poor shedders* produziam perfis parciais, ou seja, que não contém todos os alelos necessários para uma identificação [38,42]. No entanto, devido à complexidade dos fatores envolvidos na transferência de DNA pelo toque, alguns autores como Phipps e Petricevic [47], Quinones e Daniel [48] e Samie *et al.* [49] consideram inadequado rotular os indivíduos em bons ou maus doadores, alegando que essa questão é muito mais complicada do que aparenta ser, uma vez que vários fatores podem estar relacionados com a quantidade de DNA transferido.

É possível também que algumas atividades, como por exemplo, lavar as mãos, removam as células nucleadas das mãos do doador antes do contato e que o tempo entre essas atividades seja um fator chave para determinar a quantidade de DNA que será depositado em uma superfície. Além disso, pode ser que a natureza do contato interfira nesse processo de deposição do material genético, já que a quantidade de material deixado no local pode ser maior quando se aumenta o tempo de contato e a fricção aplicada na superfície [34]. Há ainda trabalhos que mostram que o sexo e a idade do indivíduo também podem interferir no fenômeno de transferência de DNA pois, aparentemente, homens tendem a depositar mais DNA do que mulheres, principalmente quando jovens [46, 50-52].

Outros estudos mostram que as propriedades de um substrato interferem no fenômeno de transferência de DNA. É conhecido que as superfícies boas para a transferência de impressões digitais e a visualização das mesmas são as lisas e não porosas, porém essas são ruins para a recuperação de DNA. Já os substratos rugosos dificultam a visualização das impressões digitais, mas são favoráveis para a recuperação de DNA deixado no local [12,17,29,53,54]. Portanto, o perito deve ser capaz de analisar o tipo de superfície e a probabilidade de obter uma impressão digital ou um perfil de DNA útil para a investigação [17]. Assim, substratos feitos de diferentes materiais podem dificultar ou facilitar a obtenção de perfis de DNA [12,14,42]. Estudo recente relata que um mesmo indivíduo pode transferir grandes quantidades de DNA e gerar bons perfis genéticos em determinadas superfícies, mas ter seu perfil parcial ou nulo em outras [55], confirmando a dificuldade em se classificar os indivíduos como bons ou maus doadores.

Por fim, a qualidade do perfil obtido não é dada unicamente pela quantidade de DNA usado para gerá-lo, mas depende também da qualidade do DNA, que dependendo de várias condições pode estar degradado [3, 17,34,42]. Alguns dos fatores que podem afetar a persistência e a degradação de DNA em um local após ele ter sido depositado são: o tempo entre a deposição e a recuperação, o tipo de superfície depositada e alguns fatores ambientais, como a umidade, altas temperaturas e exposição excessiva à luz [34,56-58]. Por exemplo, amostras de DNA de toque podem ser recuperadas para gerar perfis STR mesmo após passarem dias submersas em água, mas isso dependerá das características do ambiente aquático em que a amostra foi depositada (água fria, quente ou temperatura ambiente, presença de luz na água, correnteza, biota etc.) [59].

3.5 Desafios para interpretação e análise das amostras de DNA de toque.

A obtenção de perfis de DNA ocorre em várias etapas. A primeira é a coleta do material biológico encontrado na cena do crime. Posteriormente, a extração do DNA é feita para separá-lo dos outros componentes que constituem esse material biológico e que não são de interesse para as análises forenses. Em seguida, o DNA é submetido à Reação em Cadeira da Polimerase (PCR em inglês), reação enzimática no qual uma região específica de DNA é replicada inúmeras vezes, gerando assim muitas cópias de uma determinada sequência. É possível utilizar tal técnica para amplificar simultaneamente várias regiões do DNA (PCR multiplex), como por exemplo, diferentes marcadores STR [8,60]. Assim, uma vez que o material biológico foi amplificado nessa reação, os alelos desses loci são detectados por meio de uma eletroforese capilar realizada em um sequenciador automático, gerando enfim o perfil genético do indivíduo [8].

Por conta desta natureza desafiadora das amostras de DNA de toque, principalmente aquelas oriundas de misturas, pesquisadores do mundo inteiro reúnem esforços para melhorar os protocolos de coleta, amplificação e análise desse tipo de vestígio [5,61,62].

Com relação aos métodos de coleta, o uso de dois suabs de algodão (técnica conhecida como duplo suabe) [63], uso de fitas adesivas [64], suabs flocados [6,65] ou suabs com propriedades capazes de evitar degradação das amostras [66] são alguns dos métodos mais promissores para recuperação de células depositadas em uma superfície. Além disso, a eficácia do uso de fluorescências que permitem a visualização do material celular depositado em um determinado substrato também tem sido avaliada [67]. Da mesma forma, para a etapa de extração, técnicas e kits capazes de extrair mais DNA (ou perder menos) e remover inibidores de amplificação com a mínima perda possível estão sendo desenvolvidos e testados [4,14,55].

Com relação à etapa de amplificação do DNA, considerando que as amostras de DNA de toque possuem baixa quantidade de material genético, para aumentar as chances de obtenção de perfis de STR é comum o aumento do número de ciclos durante a PCR multiplex (de 28 para até 34) resultando, conseqüentemente, em um aumento do número de sequências-alvo obtidas. Porém, devido à elevação da sensibilidade dessa técnica, é possível que artefatos apareçam em maiores quantidades. No caso de indivíduos heterozigotos, pode ocorrer uma amplificação desigual dos dois alelos de um mesmo marcador STR resultando em um desbalanço em relação ao tamanho dos picos, ou mesmo a perda de um desses alelos (*drop-out*

alélico). É possível também que ambos os alelos sejam perdidos, nesse caso, trata-se de um *drop-out* do locus [8].

Além disso, é comum que ocorra o aparecimento de picos *stutter* e *drop-in* alélicos [38], chamados também de “alelos falsos” ou “contaminações esporádicas”, ou seja, picos que não estão associados à amostra encontrada na cena do crime [32]. Isso porque, ao aumentar a sensibilidade da técnica de amplificação, se eleva também os riscos de contaminação na reação [4,8]. Dessa forma, em muitos casos, a comunidade forense é relutante em usar tal método de análise de DNA de toque, e o seu uso passou a ser questionado devido aos vários problemas relacionados com a interpretação dos resultados [4,8,68]. A Figura 3 exemplifica alguns dos efeitos estocásticos passíveis de serem encontrados durante o processamento de amostras de DNA do toque.

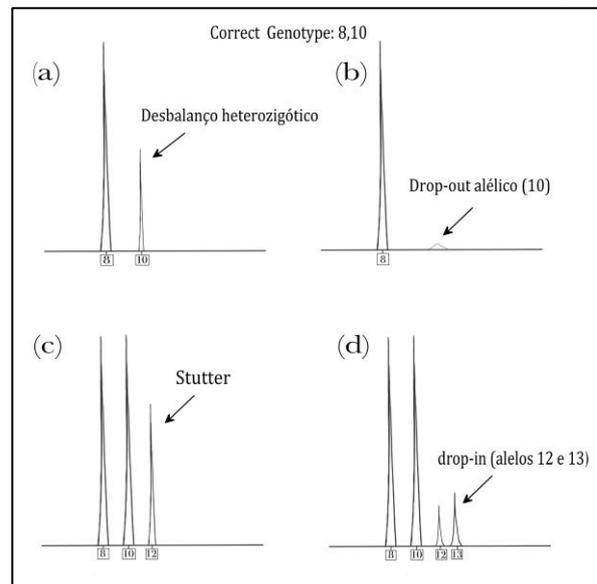


Figura 3 – Efeitos estocásticos provenientes do aumento de ciclos durante a Reação em Cadeira de Polimerase. (a) Evidência de um desbalanço heterozigótico dos dois alelos em questão devido a uma amplificação desigual entre eles. (b) *Drop-out* alélico, ou seja, perda do alelo 10 (c) Aparecimento de um pico *stutter* que não possui relação com a amostra referência e apresenta tamanho maior que 10% do alelo verdadeiro. (d) *Drop-in* alélico, pico que não possui relação com a amostra referência, oriundo da contaminação devido ao aumento da sensibilidade da técnica

Tendo em vista esses aspectos, alguns métodos foram desenvolvidos para assegurar confiabilidade dos perfis de DNA obtidos. Um exemplo disso é o uso de limiares de detecção, como o limiar (*threshold*) analítico e o limiar (*threshold*) estocástico [4,69]. Esses limiares são alturas mínimas estabelecidas para os picos obtidos no perfil, com o propósito de garantirem o controle estocástico da reação.

O *limiar* analítico é um nível de unidades de fluorescência relativa (RFU) a partir do qual os picos em um perfil genético podem ser considerados como sinal

analítico (ou seja, picos reais) e, conseqüentemente, registrados pelo *software* de análise de dados. Os picos que se encontrarem abaixo desses limiares previamente estabelecidos devem ser analisados com muita cautela ou não devem ser considerados na interpretação dos resultados [28, 69] Considerando o sinal de ruído de fundo no controle positivo, é possível definir esse limiar analítico, sendo que o valor mais comumente estabelecido é o de 50 RFU [69].

Já o limiar estocástico é o valor estabelecido a fim de garantir que abaixo dele exista uma baixa probabilidade de que, em uma amostra heterozigota, um dos alelos tenha sofrido um *drop-out*. Sendo assim, pode-se assumir que, quando um pico de um heterozigoto está acima desse limiar, o seu alelo irmão deverá também estar presente, devendo aparecer pelo menos acima do *limiar* analítico. Esse limiar é calculado com base em perfis genéticos heterozigotos que mostram a amplificação de apenas um alelo, permitindo gerar o valor médio em RFU [69].

A **Figura 4** ilustra o uso de limiares de detecção em um perfil genético.

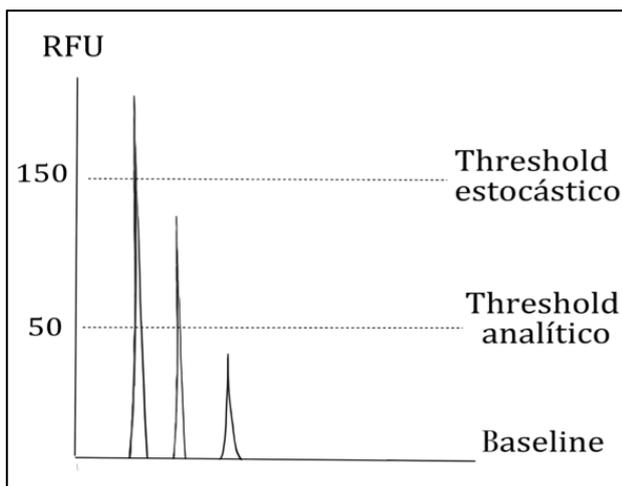


Figura 4 – Exemplos de limiares de detecção usados para análise de um perfil genético. O *Limiar* analítico foi ajustado para 50 RFU e o *limiar* estocástico (limiar de interpretação) para 150 RFU. À direita, o pico inferior a 50 RFU não é considerável confiável para a análise. Os outros dois picos são considerados confiáveis, porém o maior encontra-se acima do limiar estocástico, permitindo o seu uso em análises estatísticas mais detalhadas, uma vez que se assume que não houve ocorrência de *drop-out* alélico.

Portanto, qualquer análise que possa resultar na perda da liberdade de um indivíduo acusado por um crime deve ser executada com o máximo de cuidado. O ideal é que existam parâmetros e protocolos para cada etapa da obtenção de perfis de DNA, estabelecidos de acordo com a validação em laboratório, assegurando a qualidade dos resultados [8].

3.6 Cenário brasileiro

Com a finalidade de propiciar o compartilhamento e comparação de perfis genéticos oriundos de vestígios encontrados em cenas de crimes, em 2013, o Decreto nº 7950/2013-MJ instituiu a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) no Brasil. Elaborada pelo Ministério da Justiça e pelas Secretarias de Segurança Pública Estaduais, a RIBPG garante a possibilidade de intercâmbio de perfis genéticos entre os diversos laboratórios periciais do Brasil, permitindo o confronto de dados para a busca de coincidências que permitam relacionar suspeitos a locais de crimes e diferentes locais de crimes a um mesmo suspeito [70]. Para isso, laboratórios que atendam os critérios de admissibilidade estabelecidos no Manual de Procedimentos Operacionais da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos [71], como por exemplo, a obrigatoria qualificação técnico-científica do pessoal para a execução das análises e a adequada estrutura física do local, devem enviar os perfis obtidos para o Banco Nacional de Perfis Genéticos.

No que diz respeito ao cenário brasileiro de demanda do uso dos perfis de DNA, atualmente os laboratórios de perícia de DNA recebem grande quantidade de materiais provenientes de cenas de crimes [72] e, provavelmente, uma grande parcela apresenta DNA oriundo de transferência primária e secundária. Porém, em alguns casos, a obtenção de perfis genéticos por meio do uso de DNA de toque nos itens recebidos é dificultada devido, não somente às quantidades exíguas de material genético, mas também a esses diversos fatores citados acima, que podem fazer com que, dependendo do caso, a coleta do DNA para gerar perfis nem seja considerada pela equipe pericial.

O número desses objetos para serem periciados vêm crescendo nos últimos anos em função da popularização desse tipo de exame e pelo aumento da criminalidade. De fato, a criminalidade brasileira é muito alta e, em 2017, o Brasil foi apontado como o 11º país mais inseguro do Mundo pelo Índice de Progresso Social (IPS) [71], que analisou o índice de segurança pessoal em 132 países, caracterizado por englobar a taxa de homicídios, a taxa de crimes violentos e a percepção de criminalidade do local.

Em relação à pesquisa científica publicada por grupos brasileiros sobre o uso de DNA de toque na área forense, uma busca recente na base de dados PUBMED encontrou apenas 2 trabalhos [55,73], reforçando a necessidade de investimentos nessa área.

4. CONCLUSÃO

O uso de amostras de DNA de toque para auxiliar as investigações criminais se popularizou, em vista de sua utilidade para obtenção de perfis genéticos capazes de individualizar pessoas com um alto poder de discriminação. No entanto, na mesma proporção, o processo de perfilamento de DNA envolve uma série de variáveis que podem impactar e prejudicar a eficácia da técnica.

As amostras de DNA de toque são consideradas desafiadoras pela sua baixa concentração, o que dificulta a coleta e processamento, uma vez que qualquer perda de DNA entre as etapas pode comprometer o resultado final. Além disso, são fáceis de serem contaminadas, o que pode resultar no aumento do número de artefatos obtidos nos perfis, dificultando a identificação dos contribuidores presentes em misturas complexas ou até mesmo a possibilidade de vincular falsamente uma pessoa a um crime.

Ainda assim, considerando o grande volume de ocorrências em países como o Brasil, a utilização de amostras de DNA de toque para obtenção de perfis de DNA se mostra diariamente necessária, evidenciando a urgência da comunidade científica em aprimorar cada vez mais todas as etapas envolvidas na produção desse tipo de evidência. Para isso, é preciso buscar novos meios de coleta, extração e amplificação de DNA, e análise de dados, aumentando, portanto, a chance de gerar perfis mais completos e passíveis de interpretações corretas.

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-16/14355-3; 17/06484-0; 19/09622-0) e LIM40/HCFMUSP.

CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos de interesse

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] J.A. Almeida; J.R. Costa, J.B. *Lições de medicina legal*. Brasil (1998).

[2] M.E.C. Araújo; L. Pasquali. *Datilosopia, a determinação dos dedos*. Brasil (2006).

[3] M. Kayser; A. Sajantila; J.M. Butler; W. Parson; A. Salas; P. Gill; T. Parsons; C. Phillips; T. Egeland; C. Marshall. Special issue: Forensic Genetics: Unde venisti et quo vadis? *Forensic Sci Int Genet* **65**:102881 (2023).

[4] R.A.H. van Oorschot; K.N. Ballantyne; R.J. Mitchell. Forensic trace DNA: a review. *Investig Genet* **1**(1):1-17 (2010).

[5] B. Kokshoorn; L.H.J. Aarts; R. Ansell; E. Connolly; W. Drotz; A.D. Kloosterman; L.G. McKenna; B. Szkuta, R.A.H. van Oorschot. Sharing data on DNA transfer, persistence, prevalence and recovery: Arguments for harmonization and standardization, *Forensic Sci Int Genet* **37**: 260-269 (2018).

[6] J. Comte; S. Baechler; J. Gervais; E. Lock; M. Milon; O. Delémont; V. Castella, Touch DNA collection – Performance of four different swabs. *Forensic Sci Int Genet* **43**:102113 (2019).

[7] M.A. Jobling; P. Gill. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nat Rev Genet* **5**(10):739-51 (2004).

[8] J. M. Butler. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. United States of America (2011).

[9] H.C. Lee; C. Ladd. Preservation and collection of biological evidence. *Croat Med J* **42**(3):225-8 (2001).

[10] F. Sessa; C. Pomara; M. Esposito; P. Grassi; G. Cocimano; M. Salerno. Indirect DNA Transfer and Forensic Implications: A Literature Review. *Genes* (Basel) **28**;14(12):2153 (2023).

[11] J. Gans; G. Urbas. DNA Identification in the Criminal Justice System. *Trends Issues Crime Crim. Justice* **226**:1-6 (2002).

[12] I.K. Mishra; B. Singh; A. Mishra; B.K. Mohapatra; R. Kaushik; C. Behera. Touch DNA as Forensic Aid: A Review. *Indian J Forensic Med Toxicol* **14**(2):58-62 (2020).

[13] S.D.J. Pena. Segurança Pública: Determinação da identidade genética pelo DNA. *Seminários Temáticos para a 3ª Conferência Nacional de C, T & I. Parcerias Estratégicas* **20**:447-460 (2005).

[14] R.A.H. van Oorschot; B. Szkuta; G.E. Meakin; B. Kokshoorn; M. Goray. DNA transfer in forensic science: A review. *Forensic Sci Int Genet* **38**:140-166 (2019).

[15] C.C. Bezerra. Exame de DNA: coleta de amostras biológicas em local de crime. *Perícia Federal: DNA forense - técnicas de coleta em locais de crimes* **18**:6-14 (2004).

[16] E. Giardina; A. Spinella; G. Novelli. Past, present and future of forensic DNA typing. *Nanomedicine (Lond)* **6**(2):257-70 (2011).

[17] R.A. Wickenheiser; B.S. Hons. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. *J Forensic Sci* **47**(3):442-50 (2002).

[18] J.M. Butler. The future of forensic DNA analysis. *The R Soc* **370**(1674):20140252 (2015).

- [19] D.R. Hares. Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States. *Forensic Sci Int Genet* **17**:33–34 (2015).
- [20] T.R. Moretti; L.I. Moreno; J.B. Smerick; M.L. Pignone ML; R. Hizon; J.S. Buckleton; A.J. Onorato. Population data on the expanded CODIS core STR loci for eleven populations of significance for forensic DNA analyses in the United States. *Forensic Sci Int Genet* **25**:175–181 (2016).
- [21] J. Reno; D. Marcus; M.L. Leary; J.E. Samuels. *The Future of Forensic DNA Testing: Predictions of the Research and Development Working Group*. United States of America (2000).
- [22] Federal Bureau of Investigation. Combined DNA Index System (CODIS). [citado em 4 fev 2021]. Disponível em: <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>.
- [23] R.G. Garrido. Evolução dos processos de Identificação Humana: Das características antropométricas ao DNA. *Genética na Escola* **5**(2):30-40 (2009).
- [24] N. Kaushal; P. Kaushal. Human Identification and Fingerprints: A Review. *Journal Biom Bioest* **2**(4):1-5 (2011).
- [25] P. Tozzo; A. Giuliadori; D. Rodriguez; L. Caenazzo. Effect of dactyloscopic powders on DNA profiling from enhanced fingerprints: results from an experimental study. *Am J Forensic Med Pathol* **35**(1):68-72 (2014).
- [26] C. McCartney; R. Williams; T. Wilson. *The Future of Forensic Bioinformation*. England (2010).
- [27] M.K. Balogh; J. Burger; K. Bender; P.M. Schneider; K.W Alt. Fingerprints from fingerprints. *Int Congr Ser* **1239**:953-57 (2003).
- [28] B. Budowle; A.J. Eisenberg; A. van Daal. Validity of Low Copy Number Typing and Applications to Forensic Science. *Croat Med J* **50**(3):207-17 (2009).
- [29] M. Goray; E. Eken; R.J. Mitchell; R.A. van Oorschot. Secondary DNA transfer of biological substances under varying test conditions. *Forensic Sci Int Genet* **4**(2):62-7 (2009).
- [30] P.A. Smith. When DNA Implicates the Innocent. *Scientific American* **314**(6):11–12 (2016).
- [31] C.M. Cale; M.E. Earll; K.E. Latham; G.L. Bush. Could secondary DNA transfer falsely place someone at the scene of a crime? *J Forensic Sci* **61**(1):196-203 (2016).
- [32] P. Gill. Application of low copy number DNA profiling. *Croat Med J* **42**(3):229-32 (2001).
- [33] L. Dierig; M. Schmidt; P. Wiegand. Looking for the pinpoint: Optimizing identification, recovery and DNA extraction of micro traces in forensic casework. *Forensic Sci Int Genet* **44**:102191(2020).
- [34] G. Meakin; A. Jamieson. DNA transfer: review and implications for casework. *Forensic Sci Int Genet* **7**(4):434-43 (2013).
- [35] R.K. Farnen; R. Jaghø; P. Cortez; E.S. Frøyland. Assessment of individual shedder status and implication for secondary DNA transfer. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser* **1**(1):415-17 (2008).
- [36] A.A. Oleiwi; M.R. Morris; W.M. Schmerer; Sutton R. The relative DNA-shedding propensity of the palm and finger surfaces. *Sci Justice* **55** (5):329–334 (2015).
- [37] A.E. Fonnelløp; M. Ramse; T. Egeland; P. Gill. The implications of shedder status and background DNA on direct and secondary transfer in an attack scenario. *Forensic Sci Int Genet* **29**:48–60 (2017).
- [38] A. Lowe; C. Murray; J. Whitaker; G. Tully; P. Gill. The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. *Forensic Sci Int* **129**(1):25-34 (2002).
- [39] R.A.H. van Oorschot; D.G. Phelan; G. Furlong; M. Scarfo; N.L. Holding; M.J. Cummins. Are you collecting all the available DNA from touched objects? *Int Congr Ser* **123**:803-80 (2003).
- [40] F. Alessandrini; M. Cecati; M. Pesaresi; C. Turchi, F. Carle; A. Tagliabracci. Fingerprints as evidence for a genetic profile: Morphological study on fingerprints and analysis of exogenous and individual factors affecting DNA typing. *J Forensic Sci* **48**(3):586-92 (2003).
- [41] M. Goray; R.J. Mitchell; R.A. van Oorschot. Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions. *Leg Med (Tokyo)* **12**(3):117-20 (2010).
- [42] D. J. Daly; C. Murphy; S.D. McDermott. The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. *Forensic Sci Int Genet* **6**(1):41-6 (2012).
- [43] S.H.A. Tobias; G.S. Jacques; R.M. Morgan; G.E. Meakin, The effect of pressure on DNA deposition by touch. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser* **6**:e12–e14 (2017).
- [44] M. Poetsch; M. Pfeifer; H. Konrad; T. Bajanowski; J. Helmus. Impact of several wearers on the persistence of DNA on clothes—a study with experimental scenarios. *Int J Legal Med* **132**(1):117–123 (2018).
- [45] A. Lowe; C. Murray; P. Richardson; R. Wivell; P. Gill; G. Tully; J. Whitaker. Use of low copy number DNA in forensic inference. *Int Congr Ser* **1239**:799-801 (2003).
- [46] P. Kanokwongnuwut; B. Martin; K.P. Kirkbride; A. Linacre. Shedding light on shedders. *Forensic Sci Int Genet* **36**: 20-25 (2018).

- [47] M. Phipps; S. Petricevic. The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. *Forensic Sci Int* **168**(2-3):162-168 (2007).
- [48] I. Quinones; B. Daniel. Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces. *Forensic Sci Int Genet* **6**(1):26-30 (2012).
- [49] L. Samie; F. Taroni; C. Champod. Estimating the quantity of transferred DNA in primary and secondary transfers. *Sci Justice* **60**:128-135 (2020).
- [50] M. Poetsch; T. Bajanowski; T. Kamphausen. Influence of an individual's age on the amount and interpretability of DNA left on touched items. *Int J Legal Med* **127**(6):1093-6 (2013).
- [51] B. Gršković; D. Markulin; J. Crnjac; S. Anđelinović; I. Marijanović; L. Tomašević; M. Popović; D. Primorac. Impact of Donor Age, Gender and Handling Time on the DNA Concentration Left on Different Surfaces. *Int J Biomed* **4**(3):169-179 (2014).
- [52] P. Manoli; A. Antoniou; E. Bashiardes; S. Xenophontos, M. Photiades; V. Stribley; M. Mylona; C. Demetriou; M.A. Cariolou. Sex-specific age association with primary DNA transfer. *Int J Legal Med* **130**(1):103-12 (2016).
- [53] T.J. Verdon; R.J. Mitchell; R.A.H. van Oorschot. The influence of substrate on DNA transfer and extraction efficiency. *Forensic Sci Int Genet* **7**(1):167-75 (2013).
- [54] A.K. Buckingham; M.L. Harvey; R.A.H. van Oorschot. The origin of unknown source DNA from touched objects. *Forensic Sci Int Genet* **25**:26-33 (2016).
- [55] D.O. Francisco; L.F. Lopez; F.T. Gonçalves; C. Fridman. Casework direct kit as an alternative extraction method to enhance touch DNA samples analysis. *Forensic Sci Int Genet* **47**:102307 (2020).
- [56] K. Bender; M. J. Farfán; P.M. Schneider. Preparation of degraded human DNA under controlled conditions. *Forensic Sci Int* **139**:135-40 (2004).
- [57] J.J. Raymond; R.A.H. van Oorschot; P.R. Gunn; S.J. Walsh; C. Roux. Trace evidence characteristics of DNA: A preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes. *Forensic Sci Int Genet* **4**(1):26-33 (2009).
- [58] R.A.H. van Oorschot; R. McArdle; W.H. Goodwin; K.N. Ballantyne. DNA transfer: The role of temperature and drying time. *Leg Med (Tokyo)* **16**(3):161-3 (2014).
- [59] E. Meixner; V. Kallapurackal; A. Kratzer; P. Voegeli, M.J. Thali; S.A. Bolliger. Persistence and detection of touch DNA and blood stain DNA on pig skin exposed to water. *Forensic Sci Med Pathol* **16**(2):243-251 (2020).
- [60] J.M. Butler. *Forensic DNA Typing*. United States of America (2005).
- [61] A.A. Mapes; A.D. Kloosterman; V. Marion; C.J. Poot. Knowledge on DNA success rates to optimize the DNA analysis process: from crime scene to laboratory. *J Forensic Sci* **61**(4):1055-1061 (2016).
- [62] B. Szkuta; R.A.H. van Oorschot; K.N. Ballantyne. DNA decontamination of fingerprint brushes, *Forensic Sci Int* **277**: 41-50 (2017).
- [63] D. Sweet; M. Lorente; J.A. Lorente; A. Valenzuela; E. Villanueva. An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique. *J Forensic Sci* **42**(2):320-2 (1997).
- [64] M. Barash; A. Reshef; P. Brauner; F.S.S. Soc. The Use of Adhesive Tape for Recovery of DNA from Crime Scene Items. *J Forensic Sci* **55**(4): 1050-1064 (2010).
- [65] I. Wood, S. Park, J. Tooke, O. Smith, R.M. Morgan, G.E. Meakin. Efficiencies of recovery and extraction of trace DNA from non-porous surfaces. *Forensic Sci Int Genet Sup Ser* **6**: e153-e155 (2017).
- [66] C. Smith; J.O. Cox; C. Rhodes; C. Lewis; M. Koroma; B.C. Hudson; T.D. Cruz. Comparison of DNA typing success in compromised blood and touch samples based on sampling swab composition. *J Forensic Sci* **66**(4):1427-1434 (2021).
- [67] J. Champion; P. Kanokwongnuwut; R.A.H. van Oorschot; D. Taylor; A. Linacre. Evaluation of a fluorescent dye to visualize touch DNA on various substrates. *J Forensic Sci* **66**(4): 1435-1442 (2021).
- [68] A. Linacre. Review of low template DNA typing. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser* **2**:549-50 (2009).
- [69] J.M. Butler. *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. United States of America (2010).
- [70] Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. *XX Relatório da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG)*. Este relatório apresenta os resultados consolidados até 28 de maio de 2024; p. 2-58.
- [71] Ministério da Segurança Pública. *Manual de Procedimentos Operacionais da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos*. Versão 6. 2024.
- [72] Social Progress Imperative. *Índice de Progresso Social 2015*; Washington, DC (2015). Retirado em 09/11/2019, de <http://www.socialprogressimperative.org/pt/data/spi#map/countries/com4/dim1,com4,dim2,dim3>
- [73] A. Giovanelli; R. Grazinoli Garrido; A. Rocha; T. Hessab. Touch DNA recovery from vehicle surfaces using different swabs. *J Forensic Sci* **67**(2):707-711 (2022).