

Perfil dos exames de DNA relativos aos casos de identificação humana realizados em Instituto de Genética forense de Pernambuco

Profile of DNA tests related to cases of human identificad performad et Instituto de Genética Forense de Pernambuco

Perfil de pruebas de DNA relacionadas con casos de identificação humana realizados en el Instituto de Genética Forense de Pernambuco

Recebido: 14/05/2022 | Revisado: 10/06/2022 | Aceito: 14/06/2022 | Publicado: 15/06/2022

Isabella Maria da Silva Lemos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5164-3474>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: isabellamlemos@gmail.com

Adriana Paula de Andrade da Costa e Silva Santiago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0250-0204>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: Adriana.acsilva@ufpe.br

Beatriz da Silva Lemos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2491-286X>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: singerbeatriz@gmail.com

Ivoneide Maria de Melo Zimmermman

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0479-6811>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: neidemz@hotmail.com

Brunna Stephanie Silvestre Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3585-6293>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: ssales.brunna@gmail.com

Yuri Victor Dias de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3439-1807>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: yuri.doliveira@ufpe.br

Maria Júlia de Oliveira Teles de Menezes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5845-5049>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: mjulia0302@gmail.com

Joana Virgínia Pereira Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1552-3977>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: joana.vpm10@gmail.com

Sérgio Ricardo Silveira Leite

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0299-3099>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: sricardosilveiral@hotmail.com

Mariana Lopes Valença

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1525-5930>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: marianavalenca15@hotmail.com

Resumo

A genética forense tem se demonstrado uma grande aliada no processo de identificação humana, sendo assim, este trabalho se propôs a conhecer e analisar o perfil dos exames de DNA nos casos de identificação humana, realizados no Instituto de Genética Forense do estado de Pernambuco. Trata-se de uma pesquisa descritiva, com abordagem quantitativa, a qual constata e avalia as variáveis sem manipular as situações, a partir de condições já existentes. Foram consultados dados secundários extraídos de planilhas dos exames do Instituto de Genética Forense Eduardo Campos (IGFEC) no período de janeiro a dezembro de 2021. Os resultados demonstraram um total de 678 casos de identificação humana, a maioria deles encontrava-se em backlog para posterior análise, gerando 2.121 amostras genéticas, parte do tipo referencial feitas em vivos (14,71%), parte do tipo questionada (41,73%) realizadas nos cadáveres, esta última representada principalmente por sangue, músculo, osso e dentes, e parte das amostras

relacionada à contraprova (43,56%). Em 39,93% das amostras, a metodologia quanto à extração do DNA não foi informada na planilha. Dentre as informadas, o cartão FTA e as plataformas automatizadas foram as mais prevalentes. Concluiu-se que a celeridade da análise dos exames realizados no vivo e no morto é beneficiada a partir do crescente desenvolvimento tecnológico e da qualificação dos laboratórios forenses.

Palavras-chave: Ácidos Nucleicos Heteroduplexes; Antropologia Forense; Genética Forense.

Abstract

Forensic genetics has shown that large tests are not allied to the identification process, so this work of human identification knows the DNA profile in cases of identification, carried out at the Instituto Genética Forense in the state of Pernambuco. It is a descriptive research, with a detailed approach, which finds and evaluates variables without manipulation as situations, from existing conditions. Secondary data extracted from exam sheets of the Instituto de Genética Forense Eduardo Campos (IGFEC) from January to December 2021 were consulted. The results showed a total of 678 cases of human identification, most of them were in the backlog for further analysis, generating 2.121 genetic samples, part of the reference type made in live (14,71%), part of the questioned type (41, 73%) performed on cadavers, the latter mainly represented by blood, muscle, bone and teeth, and part of the samples related to the retest (43,56%). In 39,93% of the samples, the methodology regarding DNA extraction was not informed in the spreadsheet. Among those informed, the FTA card and automated platforms were the most prevalent. It was concluded that the celerity of the analysis of the exams carried out in the live and in the dead is benefited from the increasing technological development and the qualification of forensic laboratories.

Keywords: DNA; Forensic Anthropology; Forensic Genetics.

Resumen

La genética forense ha demostrado ser una gran aliada en el proceso de identificación humana, por lo que este trabajo se propuso conocer y analizar el perfil de las pruebas de DNA en casos de identificación humana, realizadas en el Instituto de Genética Forense en el estado de Pernambuco. Se trata de una investigación descriptiva, con enfoque cuantitativo, que verifica y evalúa variaciones sin manipular situaciones, a partir de las condiciones existentes. Se consultaron datos secundarios extraídos de los formularios del Instituto de Genética Forense Eduardo Campos (IGFEC) de enero a diciembre de 2021. Los resultados arrojaron un total de 678 casos de identificación humana, la mayoría quedaron en atraso para su posterior análisis, generando 2.121 muestras genéticas, parte del tipo referencial realizado en vivo (14,71%), parte del tipo cuestionado (41,73%) realizado en cadáveres, este último representado principalmente por sangre, músculo, hueso y dientes, y parte de las muestras relacionadas con el control (43,56%). En el 39,93% de las muestras, la metodología en cuanto a la extracción de DNA no fue informada en la hoja de cálculo. Entre los informados, la tarjeta FTA y las plataformas automatizadas fueron las más predominantes. Se concluyó que la celeridad del análisis de los exámenes realizados en vivo y en muerto se ve beneficiada por el creciente desarrollo tecnológico y la calificación de los laboratorios forenses.

Palabras clave: Ácidos Nucleicos Heterodúplexes; Antropología Forense; Genética Forense.

1. Introdução

A busca da identificação humana sempre foi um importante e necessário processo, em especial quando se trata de cadáveres ou restos mortais, sendo segundo Corradi, Travassos, Coste, Moura e Ferreira (2017), considerada uma das principais etapas no que se refere às questões que envolvem as pessoas desaparecidas. Aspectos legais, humanitários e sociais estão envolvidos em todo o contexto da identificação, sendo os exames realizados por meio da dactiloscopia, da Odontologia Legal e do Ácido desoxirribonucleico (DNA) reconhecidos, de acordo com o manual Disaster Victim Identification (DVI) da Organização Internacional de Polícia Criminal (Interpol) de 2018, como métodos primários de identificação, pois seguem uma normatização padronizada e são aceitos internacionalmente, sem a necessidade de métodos complementares para a determinação da identidade de um suspeito de crime ou de um desaparecido.

Com o grande avanço das técnicas moleculares de identificação humana, em especial a partir da década de 80, verificou-se uma notória expansão na capacidade de resolução das investigações sob o âmbito forense, nas quais fazem parte as amostras de material biológico. Na atualidade, os exames de DNA permitem, entre outras coisas, a identificação de pessoas desaparecidas e ainda a determinação de suspeitos com base em amostras deixadas nos locais de crimes nos mais variados tipos de suporte. Nos casos de identificação de cadáveres, o material a ser colhido dependerá em especial do intervalo post mortem. Quando os fenômenos cadavéricos destrutivos já estiverem generalizados, deve-se priorizar a coleta de fragmentos ósseos ou elementos dentários. Para aumentar o grau de resolução dos exames de DNA este procedimento pode também ser

realizado para cadáveres que passaram por processos de conservação. Deve-se considerar que os ossos longos sempre terão resultados melhores do que ossos chatos e porosos (Garrido, 2018).

Segundo Vanrell (2019) um dos obstáculos mais intransponíveis para proceder às técnicas de identificação pelas impressões digitais ou pelos arcos dentários é a ausência de dados fidedignos para servir como material de confronto. Já no DNA, por sua vez, a disponibilidade de famílias inteiras que podem oferecer material de referência é um fato extremamente positivo.

Por meio desta técnica de identificação genética, salienta Freitas (2019), “tornou-se possível determinar a origem de amostras raras, o que de fato, em alguns casos, pode resultar na solução de um caso criminal. Ou por outra, finaliza a angústia de famílias em buscas de respostas em grandes desastres”.

A geração de um perfil de DNA a partir de restos mortais é uma parte importante do processo de identificação em casos de desastres em massa e de pessoas não identificadas, salientam Latham e Miller (2018). Eles esclarecem que uma vez que ossos e dentes são frequentemente os únicos materiais biológicos remanescentes após exposição a condições ambientais, calor intenso, certos eventos traumáticos e, nos casos em que já passou um tempo significativo desde a morte do indivíduo, a capacidade de purificar grandes quantidades de DNA informativo desses tecidos duros seria benéfico.

Segundo Araújo (2017) “pode-se inferir que o DNA possui diversas aplicações na identificação humana, principalmente em casos de degradação ou escassez das amostras coletadas e em casos de estupro.” Neste sentido, considera que existem diversas vantagens em utilizá-lo, graças a sua alta sensibilidade e capacidade discriminativa, além do fato de existirem diferentes fontes biológicas para sua obtenção, uma vez que não se faz necessário a abundância na quantidade de material encontrado. Além da capacidade analítica, a sua resistência às condições ambientais é sempre evidenciada.

Segundo Porto (2015) amostras biológicas se encontram em situações pouco favoráveis quando abandonam as condições controladas e estáveis do organismo, principalmente quando essas circunstâncias dizem respeito às condições de meio ambiente, temperatura, umidade, exposição a agentes químicos e microrganismos, como fungos e bactérias. Não raramente, a variação ambiental termina promovendo sua degradação dificultando a análise. Como consequência, obtêm-se resultados parciais pouco confiáveis ou simplesmente não se obtêm resultados conclusivos. Por isso a coleta do material biológico e os procedimentos preliminares para exame de identificação humana por DNA são extremamente importantes e devem seguir padrões rígidos para assegurar o sucesso das análises. Independentemente das condições, um cuidado importante é que devem ser fotografadas antes de tocadas ou movidas. A sua localização relativa no ambiente e as condições do material devem ser documentadas através de fotos, filmagem ou, na ausência destes recursos, por meio de esquemas e relatórios detalhados.

A abordagem da identificação humana a partir do DNA baseia-se principalmente nas diferenças entre indivíduos em regiões não codificantes do genoma (Ekert et al., 2016). Oliveira e Filho (2018) complementam que essas regiões repetidas consecutivamente do DNA são denominadas de polimorfismo, os quais podem ser classificados em diversos grupos, de acordo com o tamanho da região de repetição. Sendo assim, os grupos mais comuns são os microssatélites ou Variable Number Tandem Repeats (VNTRs) e os Short Tandem Repeats (STRs). Estes são os marcadores genéticos utilizados na maioria dos laboratórios de tipagem de DNA (Álvarez-Cubero et al., 2012). Sendo assim, no processo de identificação humana, o perfil do STR é gerado e pesquisado em um banco de dados, para ser comparado com a amostra de referência (Dawnay et al., 2018). Santos, Pereira e Caligiorne (2011) complementam, ao especificar que a amostra referência é composta por material biológico do suspeito, acusado, vítima e/ou familiares consanguíneos, enquanto que a amostra questionada deriva do local da infração penal.

Na década de 90, o Federal Bureau of Investigation (FBI), nos EUA, instituiu o primeiro banco nacional de DNA, o Combined DNA Index System (CODIS). Sendo assim, o FBI recomendou que os laboratórios de tipagem de DNA realizassem

a análise de 13 tipos de STR (TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA e CSF1PO), os quais ficaram conhecidos como 13 CODIS. Atualmente, essa tipagem é aceita na maioria dos países, pois a chance de obter mais de um perfil igual a partir desses STRs é extremamente rara (Oliveira et al., 2017).

No Brasil, para auxiliar na apuração criminal e/ou na instrução processual, foi criada a Rede Integrada de Banco de Perfis Genético (RIPBPG), através do Decreto nº 7950/2013, com intuito de manter, compartilhar e comparar perfis genéticos. Dessa forma, os perfis genéticos armazenados nos bancos de dados são confrontados em busca de coincidências que permitam relacionar suspeitos a locais de crime ou diferentes locais de crime entre si. Esta rede conta com a participação de Secretarias de Segurança Pública (ou instituições equivalentes), Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP) e Polícia Federal (PF) para o compartilhamento de perfis genéticos obtidos em laboratórios de genética forense. As instituições policiais utilizam a informática, com intuito de obter de forma mais rápida informações para ligar crimes, solucionar casos antigos, bem como identificar vítimas desaparecidas e fragmentos cadavéricos não identificados (Frohlich et al., 2020).

O sucesso ou insucesso da genotipagem está intimamente associado aos processos de coleta, preservação, acondicionamento e envio das amostras ao laboratório, bem como o manuseio e rastreio das amostras no laboratório (Porto, 2015). A preocupação com esse rastreio e manuseio de amostras ficou evidente, principalmente, depois da Lei nº 13.964, de 24 de dezembro de 2019, a qual incrementou o artigo 158 do Código de Processo Penal, com o detalhamento da cadeia de custódia.

Tudo isto considerado e tendo em vista a relevância social e legal dos aspectos da identificação humana, torna-se relevante o desenvolvimento de estudos que propiciem a ampliação do conhecimento sobre como se apresentam os exames de DNA quando a amostra é obtida com o propósito de se estabelecer a identidade humana. Assim, tendo como suporte os dados obtidos em um laboratório de genética forense de Pernambuco, esta pesquisa procurou estabelecer o perfil deste tipo de extração de DNA e discutir os resultados encontrados, à luz da literatura científica.

2. Metodologia

Esse trabalho foi desenvolvido como parte da pesquisa intitulada PERFIL DOS EXAMES DE DNA OBTIDO DE TECIDOS DUROS, NO INSTITUTO DE GENÉTICA FORENSE EDUARDO CAMPOS, autorizado pelo do Comitê de Ética em Pesquisa sob o CAAE nº: 45466821.1.0000.5208. Trata-se de uma pesquisa descritiva, não experimental, na qual as variáveis são constadas e analisadas sem a manipulação de situações. Como vantagem desse tipo de pesquisa Kerlinger apud Köche (2011) destaca a fácil manipulação das variáveis, o que proporciona uma situação de elevado controle dos experimentos e de estudo detalhado das relações entre as variáveis, seja ele de forma isolada ou em conjunto; a flexibilidade das situações experimentais que aperfeiçoa a testagem dos vários aspectos das hipóteses e a possibilidade de replicar os experimentos ampliando e facilitando, dessa forma, a participação de outros pesquisadores.

As variáveis desta pesquisa foram estudadas e interpretadas a partir de dados secundários extraídos de planilhas dos exames de DNA do Instituto de Genética Forense Eduardo Campos (IGFEC), situado em Jaboatão dos Guararapes- PE.

Os dados coletados da planilha foram avaliados no período de janeiro a dezembro de 2021, totalizando 12 meses. Foram incluídos nesse projeto todos os casos de identificação humana disponíveis nas planilhas no período temporal em questão. Como critério de exclusão foram desconsiderados os casos em período diverso do estabelecido por essa pesquisa, casos sem dados preenchidos, bem como os casos classificados como crime sexual ou confronto de vestígios.

Sendo assim, dois tipos de planilhas utilizadas pelo IGFEC foram analisadas:

2.1 Planilha de casos – Essa planilha contém o registro de todos os casos que chegam ao laboratório, sejam eles os de crime sexual, confronto de vestígios e identificação humana. Desta planilha foram colhidas as quantidades referentes apenas aos casos de identificação humana no primeiro e segundo semestre, bem como o status desses casos, ou seja, a situação em que os casos encontram-se no laboratório. Esse status colabora com o entendimento acerca do fluxo de trabalho existente no laboratório. Nesse sentido, os status são divididos em:

- a) Concluído: quando a avaliação pericial foi finalizada;
- b) Designado: quando o caso foi processado e designado à avaliação pericial;
- c) Completo: quando não existe qualquer pendência documental, podendo assim ser avaliado por um perito, no entanto ainda não foi designado;
- d) Incompleto: quando existem pendências documentais ou em relação às amostras;
- e) Cancelado: por algum motivo aquele caso não será mais processado;
- f) Backlog: quando existe ausência de material suficiente para a realização de todos os exames ou quando a quantidade de casos a serem processados é extensa. Assim, os casos em status de Backlog ficam armazenados para serem processados à medida que as principais demandas são atendidas. Nessa pesquisa, foram considerados apenas os status de Backlogs do tipo Restos Mortais Não Identificados (RMNI), pois estes se ligam diretamente aos casos de identificação humana.

2.2 Planilha de registro de procedimentos- Essa planilha contém os dados relativos ao fluxo de processamento de cada caso. Dela foram coletadas as informações a seguir:

- a) Tipo de amostra: Amostra Questionada (AQ), Amostra Referência (AR) ou Contraprova (CP), podendo ser especificado ou não o tipo de material biológico utilizado como amostra, bem como o grau de parentesco do familiar que forneceu a amostra;
- b) Quantidade de amostras utilizadas em cada caso (AQ+AR), bem como as quantidades de amostras que tiveram resultado;
- c) Metodologia empregada na extração: extração orgânica, com kits rápidos utilizados em bancada ou automatizados (com plataforma MAXWELL, HAMILTON, AUTOMATE), bem como a coleta de DNA através de swab ou de Flinders Technology Associates (cartão de FTA);
- d) Os resultados das análises de DNA: perfil passível de confronto, perfil não passível de confronto, somente perfil de vítima, inclusão com familiar, exclusão com amostra questionada, inclusão com amostra questionada, amostra descartada, DNA insuficiente, estatística insuficiente, contraprova, outro;
- e) Inserção ou não da amostra para o Banco de Perfil Genético de Pernambuco (BPGPE);

Além da análise das planilhas de casos e de registros, para um melhor entendimento dos dados no laboratório, foram consultados manuais sobre o funcionamento de plataformas automatizadas para extração do DNA, bem como os Protocolos Operacionais Padrão (POP) de codificação. Estes padronizam as amostras e projetos de todas as etapas de processamento e informam sobre os códigos utilizados no IGFE.

Os dados coletados foram analisados descritivamente por meio de frequências absolutas e percentuais e os resultados estão apresentados em gráficos, tabelas e textos.

3. Resultados

No primeiro semestre de 2021 foram contabilizados 332 casos de identificação de identificação humana, já no segundo semestre, o número foi de 346 casos. Sendo assim, o total de casos analisados nesse estudo correspondeu a 678. Os status dos casos foram organizados de acordo com a Tabela 1.

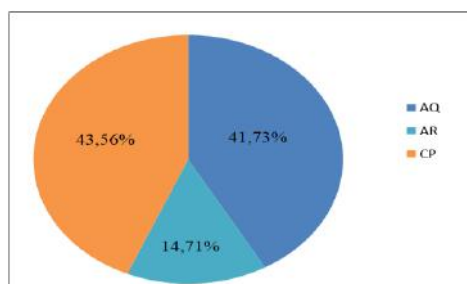
Tabela 1 – Status dos casos.

STATUS	n (%)
Concluído	53 (7,82%)
Designado	89 (13,13%)
Completo	135 (19,91%)
Incompleto	25 (3,69%)
Cancelado	3 (0,44%)
Backlog RMNI	373 (55,01%)
TOTAL	678 (100%)

Fonte: Elaboração própria.

No que se refere aos dados coletados da planilha de registro, foram registradas 1.019 amostras de janeiro a junho e 1.102 de julho a dezembro, totalizando 2.121. A primeira divisão das amostras foi feita conforme a classificação entre Amostra Questionada (AQ); Amostra Referência (AR) e Contraprova (CP). A distribuição percentual pode ser evidenciada a partir da figura a seguir.

Figura 1 – Frequência percentual das amostras.



Fonte: Elaboração própria.

As amostras questionadas (41,73%) foram subdivididas em sangue, osso, dente, músculo, unha esquerda, unha direita, cartilagem, fração espermática, fração não espermática, mãe, dedo, manúbrio, não especificada.

As amostras referência (14,71%) foram subdivididas em bucal suposto pai, bucal suposta mãe, bucal suposto filho, bucal suposta filha, bucal suposto irmão, bucal suposta irmã, bucal suposta avó, bucal sobrinha, bucal esposa, bucal identidade desconhecida, sangue suposta mãe.

As amostras categorizadas como contraprova (43,56%) não foram diferenciadas quanto ao material biológico e nem sobre o grau de parentesco do familiar do desaparecido. Sabe-se, no entanto, a qual caso pertence aquela CP e que ela fica

armazenada no laboratório para uma segunda perícia nos casos exigidos por lei ou quando há dados insuficientes coletados a partir da primeira amostra, que pode ser uma AQ ou AR, dependendo do caso.

As frequências absolutas e percentuais da distribuição das amostras foram esquematizadas de acordo com o Quadro 1. As agrupadas em azul, verde e laranja representam respectivamente, as AQ, AR e CP.

Quadro 1 – Distribuição das amostras.

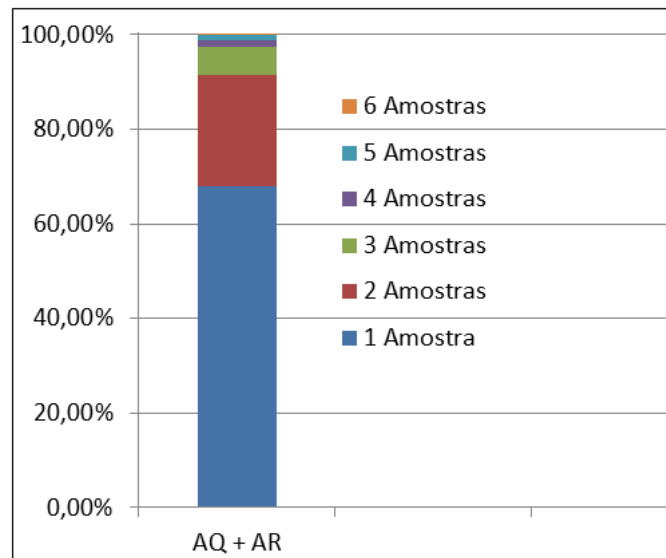
AMOSTRA	n(%)
Sangue	258(12,16%)
Osso	214(10,09%)
Dente	93(4,38%)
Músculo	273(12,87%)
Unha esquerda	13(0,61%)
Unha direita	13(0,61%)
Cartilagem	8(0,38%)
Fração espermática	1(0,05%)
Fração não espermática	1(0,05%)
Mãe	1(0,05%)
Dedo	1(0,05%)
Manúbrio	2(0,09%)
Não especificada	7(0,33%)
Bucal suposto pai	40(1,89%)
Bucal suposta mãe	111(5,23%)
Bucal suposto filho	39(1,83%)
Bucal suposta filha	27(1,27%)
Bucal suposto irmão	33(1,56%)
Bucal suposta irmã	54(2,55%)
Bucal suposta avó	1(0,05%)
Bucal sobrinha	1(0,05%)
Bucal esposa	1(0,05%)
Bucal identidade desconhecida	4(0,19%)
Sangue suposta mãe	1(0,05%)
Contraprova	924(43,56%)
TOTAL	2.121(100%)

Fonte: Elaboração própria.

As amostras do tipo AQs não especificadas correspondem àquelas que não possuíam a descrição do material biológico codificado na planilha. Ou seja, nos Protocolos Operacionais Padrão (POP) de codificação do IGFE não havia um código para aquela amostra, pois elas representam amostras incomuns encontradas em determinados casos, como por exemplo, amostras obtidas a partir de blusa ou saia da vítima contendo manchas de sangue. O fato de não ter um código para amostra obtida a partir de blusa ou saia da vítima é útil para não deixar a planilha de registro com códigos que dificultem mais do que facilitem o processo de trabalho no laboratório.

A partir da planilha de registro foi possível verificar o número de amostras totais (AQ + AR) que foram utilizadas em cada caso. Sendo assim, 67,85% dos casos utilizaram 1 amostra; 23,75% dos casos utilizaram 2 amostras; 5,75% dos casos utilizaram 3 amostras; 1,62% dos casos utilizaram 4 amostras; 0,88% dos casos utilizaram 5 amostras; 0,15% dos casos utilizaram 6 amostras. Para melhor entendimento desses resultados foi elaborada a Figura 2.

Figura 2 – Frequência percentual do somatório (AQ+AR).



Fonte: Elaboração própria.

Além disso, também foi possível verificar o percentual das amostras utilizadas que tiveram resultados ou não.

- 1,62% dos casos não tiveram resultados a partir das amostras;
- 63,42% dos casos tiveram resultado com 1 amostra;
- 16,67% dos casos tiveram resultados com 2 amostras;
- 3,54% dos casos tiveram resultados com 3 amostras;
- 0,59% dos casos tiveram resultados com 4 amostras;
- 0,29% dos casos tiveram resultados com 5 amostras;
- 13,87% dos casos não foram informados sobre o resultado a partir da quantidade de amostras;

Na planilha original de registros do IGFECC, na mesma coluna de extração, havia informações referentes à metodologia de extração e coleta do DNA. Sendo assim, as metodologias empregadas para a extração foram divididas entre extração orgânica, ou com Kits rápidos utilizados em bancada ou em equipamentos automatizados. No laboratório as plataformas automatizadas utilizadas foram a Maxwell, Automate e Hamilton. Em alguns casos além do tipo de plataforma, o kit rápido utilizado também era especificado.

A incidência para utilização de kits rápidos de bancada foi extremamente baixa, representando apenas 0,05% das amostras (KIT CASEWORK). Em contrapartida, a incidência do kit em plataformas automatizadas foi alta, representando 33,95% das amostras (AUTOMATE COM KIT PREPFILER EXPRESS FORENSIC™- 11,70%; AUTOMATE COM KIT BTA EXPRESS- 8,58%; HAMILTON (VESTÍGIOS)- 1,56%; MAXWELL (VESTÍGIOS)- 11,50%; MAXWELL (DIFERENCIAL)- 0,09%; MAXWELL (OSSOS E DENTES)- 0,52%).

Além da metodologia de extração propriamente dita, também foi possível avaliar se a coleta do DNA foi realizada através de cartão de FTA ou através de SWAB. Para melhor entender a distribuição da metodologia empregada tanto na extração quanto na coleta, os dados foram organizados conforme a tabela a seguir.

Tabela 2 – Distribuição da metodologia de extração e coleta de DNA.

EXTRAÇÃO	n (%)
FTA	263 (12,40%)
SWAB-SALIVA	120 (5,66%)
ORGÂNICA DE DNA DE VESTÍGIOS COM CONCENTRAÇÃO EM MICROCON	114 (5,37%)
ORGÂNICA DE OSSOS E DENTES COM CONCENTRAÇÃO EM MICROCON	56 (2,64%)
AUTOMATIZADA - AUTOMATE COM KIT PREPFILER EXPRESS FORENSIC™	248 (11,70%)
AUTOMATIZADA- AUTOMATE COM KIT BTA EXPRESS	182 (8,58%)
AUTOMATIZADA - HAMILTON (VESTÍGIOS)	33 (1,56%)
AUTOMATIZADA- MAXWELL (VESTÍGIOS)	244 (11,50%)
AUTOMATIZADA - MAXWELL (DIFERENCIAL)	2 (0,09%)
AUTOMATIZADA - MAXWELL (OSSOS E DENTES)	11 (0,52%)
BANCADA COM KIT CASEWORK	1 (0,05%)
NÃO INFORMADO	847 (39,93%)
TOTAL	2.121 (100%)

Fonte: Elaboração própria.

Dentre as 2.121 amostras analisadas no ano de 2021, foi possível avaliar também o resultado de seu processamento. Sendo assim, o resultado foi dividido entre perfil passível de confronto, perfil não passível de confronto, somente perfil de vítima, inclusão com familiar, exclusão com amostra questionada, inclusão com amostra questionada, amostra descartada, DNA insuficiente, estatística insuficiente, contraprova e outros. Esses dados foram esquematizados conforme demonstra a Tabela 3.

A planilha de registros, também permitiu quantificar as amostras que foram inseridas no Banco de Perfil Genético de Pernambuco (BPGPE). Os resultados colhidos foram organizados conforme estabelece a Tabela 4.

Tabela 3 – Resultados das amostras processadas.

RESULTADOS	n (%)
Perfil passível de confronto	284 (13,39%)
Perfil não passível de confronto	52 (2,45%)
Somente perfil de vítima	15 (0,70%)
Inclusão com familiar	82 (3,87%)
Exclusão com amostra	464 (21,88%)
Amostra descartada	94 (4,43%)
DNA insuficiente	84 (3,96%)
Estatística insuficiente	8 (0,38%)
Contraprova	464 (21,88%)
Outros	938 (44,22%)
TOTAL	2.121 (100%)

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 4 – Inserção das amostras no BPGPE.

RESULTADOS	n (%)
Sim	251 (11,83%)
Não	1.194 (56,30%)
Não informado	676 (31,87%)
TOTAL	2021 (100%)

Fonte: Elaboração própria.

4. Discussão

O emprego do DNA na identificação humana vem cada vez mais ocupando espaço e importância. Tem se demonstrado como parte importante do processo de identificação a partir de restos mortais em casos de desastres em massa e de pessoas não identificadas (Latham e Miller, 2018), casos de degradação ou escassez das amostras coletadas e em casos de estupro. A sua alta sensibilidade, capacidade discriminativa, diferentes fontes biológicas para sua obtenção, e desnecessidade de abundância na quantidade de material encontrado fazem da utilização do DNA uma relevante escolha para os casos de identificação humana, somando-se a isto a sua resistência às condições ambientais, o que o torna ainda mais diferenciado (Araújo, 2017; Vanrell, 2019; Porto, 2015).

Tais aspectos foram bastante valiosos como motivadores desta pesquisa, que escolheu como base para sua realização planilhas de um laboratório de genética forense de Pernambuco, detentor de grande reconhecimento e resultados expressivos junto a RIBPG.

Os resultados observados por esta pesquisa trazem apontamentos significativos que serão devidamente abordados. Neste sentido, destaca-se já de início a predominância do status em Backlog em relação aos casos analisados durante o ano de

2021, fato demonstrado claramente na Tabela 1, a qual indica que tal situação ocorre em 55,01% deles. Esses casos encontram-se armazenados no laboratório e ainda não foram processados devido a alguma pendência de material e também pelo fato da demanda no laboratório ser extremamente alta. Sendo assim, à medida que os casos sem pendência documental são processados, ou seja, os enquadrados como completo, realizam-se diligências necessárias para que os Backlogs sejam resolvidos. A partir disso, pode-se inferir que apesar de existirem profissionais capacitados e eficientes, a demanda no instituto é muito grande, sendo necessário ainda de mais profissionais para celeridade do fluxo de trabalho. Esta constatação corrobora com a ideia de que o tempo é um fator variável na resolutividade dos casos e limitante na identificação humana através do DNA, tal como reforça Turigan et al. (2020) em seus estudos.

Os resultados desta pesquisa demonstraram que no IGFEF foram utilizados como amostras biológicas sangue, osso, dente, músculo, unha, cartilagem, fração espermática, fração não espermática, mãe, dedo, além de amostras não especificadas. Dentre as AQS, o músculo obteve o maior percentual (12,87%), seguido pelo sangue (12,16%), somatório de ossos (10,18%; sendo 10,09% ossos sem especificação e 0,09% a porção superior do osso esterno, o manúbrio) e dente (4,38%). Apesar do sangue ter representado a segunda amostra biológica mais incidente, obteve um percentual bem próximo do músculo. Estes dados corroboram com os indicados por Álvarez-Cubero et al. (2012); Porto (2015); França (2015); Decanine (2016); Barbosa e Romano (2018), que informam sobre os materiais biológicos que podem ser utilizados para fornecer DNA, sendo eles sangue, sêmen, fios de cabelo com raiz, tecidos, órgãos, ossos, dentes, urina, saliva e fezes. Ainda cabe a problemática abordada no trabalho de Reid e Heatfield (2020), que reforçam que a alta utilização de amostras sanguíneas corrobora com a perpetuação dos riscos da contaminação dos operadores com doenças infectocontagiosas a partir do sangue.

Para Porto (2015), nos casos em que seja necessária a extração de DNA a partir de amostras dentárias, o ideal seria a remoção de quatro dentes, preferencialmente de molares, pois apresentam a maior quantidade de material genético. Vanrell (2019) complementa que para extrair DNA a partir de elementos dentários é crucial a participação do cirurgião dentista na tomada de decisões sobre a melhor forma de acesso, pois além de fornecer material genético, possui também outras utilidades em Odontologia Legal, como os estudos radiográficos e bioquímicos. No presente estudo, percebeu-se a ampla utilização dessas amostras, porém não foi verificada a especificação do tipo de dente utilizado nos casos. Isso está diretamente relacionado ao fato de que, no período de pesquisa, o instituto não possuía nenhum cirurgião dentista na equipe. Consequentemente, informações fundamentais podem ser perdidas, assim como podem ser gerados prejuízos no planejamento adequado acerca do manuseio do elemento dentário, pois uma vez pulverizado, ele não poderá mais ser utilizado para outros fins.

A Interpol recomenda que a identificação através de perfis de DNA seja feita a partir de dois parentes de primeiro grau da pessoa com o perfil genético do falecido (Green et al., 2019). Santos et al. (2011) complementa com uma ordem detalhada sobre as principais amostras de referência, sendo em 1º lugar - mãe e pai, 2º lugar- pai ou mãe acompanhados por no mínimo um irmão biológico, 3º lugar- filho acompanhando por mãe biológica, 4º lugar - o maior número possível de irmãos, visto que quanto mais próximo o parentesco do dono da amostra referência, maiores são as chances estatísticas quanto à conclusão do caso. Na pesquisa em questão, esse quadro foi corroborado, visto que 5,23% das amostras foram de mãe; 1,89% de pai; 1,56 % de irmão e 2,55% de irmã. Porto (2015) acrescenta que os principais materiais que compõem a amostra referência em vivos são as células de mucosa bucal, sangue, sendo o cabelo uma amostra que não é realizada por rotina. Esse foi exatamente o padrão encontrado no IGFEF, pois a maior parte das amostras no vivo foi realizada a partir das amostras referências bucal (bucal suposto pai -1,89%; bucal suposta mãe- 5,23%; bucal suposto filho- 1,83%; bucal suposta filha- 1,27%; bucal suposta irmã- 2,55%, bucal suposto irmão; bucal suposta avó- 0,05%; bucal sobrinha- 0,05%, bucal identidade desconhecida - 0,19%) e sangue da suposta mãe 0,05%. Não foi coletada nenhuma amostra de referência a partir de cabelo.

No que se refere às amostras classificadas como contraprovas, sabe-se que elas são amostras, no primeiro momento, armazenadas no laboratório, as quais podem ser processadas em uma segunda perícia quando há dados insuficientes coletados a partir da primeira amostra, para verificação do resultado da primeira perícia ou quando há alguma determinação judicial. A CP inclui tanto as AQ como as AR, dependendo do caso. No IGFEF representam o maior percentual das amostras com o percentual de 43,56%. Essa preocupação do laboratório de genética armazenar as CPs está intimamente ligada ao inciso IX do Art. 158-B da Lei nº 13.964, de 24 de dezembro de 2019, o qual determina que os vestígios devem ser armazenados em condições adequadas sejam nos casos de descarte, transporte, ou contraprova. Este caso tem total ligação com a contraprova.

No laboratório, a partir do processamento das amostras observou-se que a maioria delas apresentou algum tipo de resultado gerado a partir de uma ou mais amostras, totalizando 84,51% dos casos. Desta forma, o padrão encontrado no laboratório demonstrou a obtenção de resultados nos casos em que havia apenas uma amostra. À medida que o número de amostras utilizadas nos casos aumentou, o percentual de resultado dessas amostras reduziu. Diante disso, percebe-se que a partir do momento em que um caso tem um maior número de amostras ele possui menores chances de que todas as suas amostras possuam resultados, pois cada amostra possui probabilidade de obter ou não um resultado independentemente das outras do mesmo caso. Matematicamente isso pode ser demonstrado a partir da aplicabilidade da análise combinatória e probabilidade. Sendo assim, considerando que as amostras utilizadas em cada caso pertencem ao grupamento de combinação, já que no laboratório não foi estabelecida uma ordem quando se tinha mais de uma amostra para o mesmo caso e que a probabilidade de uma amostra ter resultado é de $\frac{1}{2}$ e de não ter resultado é de $\frac{1}{2}$, quando se utiliza apenas uma amostra, a probabilidade de se ter resultado é de $\frac{1}{2} = 50\%$; nos casos em que se utilizam duas amostras a probabilidade de que as duas tenham resultado é de $(\frac{1}{2})^2$ multiplicada pela combinação de $C_{2,2}=1$ totalizando 25%; quando se utilizam três amostras, a probabilidade de todas terem resultados é de $(\frac{1}{2})^3$ multiplicada pela combinação de $C_{3,3}=1$, que totaliza 12,5% e assim por diante.

A extração do DNA inclui diversas etapas, nesse contexto, a planilha de registros do IGFEF, engloba tanto o processo de extração propriamente dito como também o método de coleta, seja ele através de SWAB de saliva ou de cartão de FTA. Para que a coleta seja feita no vivo, é necessário o consentimento livre e esclarecido do parente do desaparecido, além disso, devem ser realizados métodos indolores. Sendo assim, a coleta de saliva é um método rápido e não invasivo que utiliza uma zaragatoa para fornecer uma quantidade de células da mucosa bucal (Porto, 2015). Além deste método, a coleta através de FTA também apresenta muitas vantagens como a excelente preservação da estrutura do DNA, benefícios no transporte e no armazenamento, bem como nos custos e desempenho do laboratório (Green et al., 2019).

A literatura destaca como principais métodos empregados para extração a resina Chelex 100, extração orgânica com fenol-clorofórmio e kits rápidos utilizados em bancada ou em equipamentos automatizados (Santos et al., 2011). No presente estudo, notou-se a prevalência da extração automatizada, com o percentual total de 33,95% (AUTOMATE COM KIT PREPFILER EXPRESS FORENSIC™- 11,70%; AUTOMATE COM KIT BTA EXPRESS- 8,58%; HAMILTON (VESTÍGIOS)- 1,56%; MAXWELL (VESTÍGIOS)-11,50%; MAXWELL (DIFERENCIAL)- 0,09%; MAXWELL (OSSOS E DENTES) 0,52%), quando comparada à extração em bancada com apenas 0,05%. Isso é reflexo dos benefícios promovidos pelo avanço tecnológico, visto que, essas plataformas automatizadas eliminam muitas das etapas manuais e trabalhosas dos métodos atuais de extração de DNA, além de fornecer resultados consistentes, minimizando a variabilidade inerente ao processamento manual da amostra. As plataformas automatizadas MAXWELL e AUTOMATE são de pequeno porte, e, podem purificar 16 e 13 amostras, respectivamente (Applied Biosystems, 2010; Promega, 2021). Já a HAMILTON é considerada como plataforma de médio porte e pode purificar até 35 amostras, sendo necessária uma intervenção mínima do usuário desde a entrada da amostra até a purificação do DNA.

Além da prevalência automatizada, em relação à extração das amostras notou-se que diferentemente das outras amostras biológicas, ossos e dentes são especificados no tipo de metodologia de extração. As extrações ORGÂNICA DE OSSOS E DENTES COM CONCENTRAÇÃO EM MICROCON, AUTOMATIZADA- AUTOMATE COM KIT BTA EXPRESS, AUTOMATIZADA - MAXWELL (OSSOS E DENTES) são exclusivas para os tecidos duros e juntos totalizaram o percentual de 11,74%. Esses dados são importantes no contexto de identificação, uma vez que os ossos e dentes são os órgãos mais resistentes à degradação, e, em alguns casos, os únicos remanescentes de DNA dos indivíduos desaparecidos (Latham & Miller, 2018; Vanrell, 2019).

Em relação à Tabela 3, o tipo de resultado propriamente dito acerca do processamento das amostras mostrou dificuldades no laboratório quanto a esse tipo de informação, visto que 44,22% das amostras não foram enquadradas com nenhum dos outros nove resultados detalhados possíveis (perfil passível de confronto, perfil não passível de confronto, somente perfil de vítima, inclusão com familiar, exclusão com amostra questionada, amostra descartada, DNA insuficiente, estatística insuficiente, contraprova), sendo classificadas como “Outro”. Isso abre uma gama de possibilidades para o resultado dessas amostras, o que impossibilita conclusões exatas sobre o que pode ter acontecido com essas amostras. No entanto, dentre as amostras que tiveram resultados dentro das nove possibilidades, o perfil passível de confronto representou um percentual de 13,39%, sendo muito relevante no contexto de identificação humana, visto que esses casos representam as amostras, que possuem a capacidade de serem comparadas e de se chegar em um perfil genético. Além disso, apesar do quantitativo baixo dos casos de inclusão familiar (3,87%), esse tipo de resultado é bastante importante nesse contexto, visto que eles representam as amostras fornecidas por parentes de desaparecidos e foi possível identificar o cadáver a partir das amostras biológicas, as quais já estavam inseridas nos bancos de dados. A partir disso, entende-se que é fundamental estimular a disseminação desse tipo de informação, a fim de estimular que os parentes de indivíduos desaparecidos doem seus materiais genéticos para alimentar os bancos de perfil genético com o intuito de minimizar o sofrimento dessas famílias e auxiliar nas questões judiciais.

Embora os bancos de Perfis genéticos representem avanços tecnológicos no que diz respeito à velocidade do fluxo de informações sobre o perfil de DNA e de fato os institutos policiais utilizem a informática a seu favor (Álvarez-Cubero et al., 2012; Frohlich et al., 2020), 56, 30% das amostras colhidas não foram inseridas no BPGPE e 31,87% delas não foram informadas quanto ao resultado positivo ou negativo da inserção. Esse elevado percentual de amostras não inseridas está diretamente relacionado com o critério de admissibilidade no Banco Nacional de Perfil Genético, o qual estabelece que para os restos mortais não identificados serem incluídos nos bancos de dados é necessário realizar a análise de pelo menos 9 dos 13 marcadores CODIS (MJSP, 2020), todavia dependendo da condição da amostra biológica do cadáver isso nem sempre é possível, o que pode acarretar prejuízos no desenvolvimento de pistas investigativas, bem como na resolutividade quanto ao processo de identificação e dos crimes contra a vida.

5. Conclusão

A identificação humana de pessoas desaparecidas pode ser um processo complexo e longo, nesse sentido a utilização do DNA tem sido demonstrada como excelente mecanismo no contexto forense para minimizar o sofrimento dos familiares do desaparecido e no desenvolvimento de questões judiciais.

Os resultados desta pesquisa nos levam a concluir que o perfil dos exames de DNA relacionados aos casos de identificação humana é realizado tanto no vivo, através das amostras referências obtidas pelos familiares de pessoas desaparecidas, quanto no morto a partir das análises das amostras questionadas. Pode-se ainda concluir que o músculo, sangue, ossos e dentes representaram as principais fontes de material biológico para a extração do DNA. Além disso, é válido ressaltar também a importância dos recursos tecnológicos no âmbito da genética forense, seja na otimização do processamento de DNA

através de equipamentos automatizados, como também no resultado do cruzamento de perfis genéticos a partir dos bancos de dados.

Referências

- Álvarez-Cubero, M. J., Saiz, M., Martínez-Gonzales, L. J., Alvarez, J. C., Elsenberg, A. J., Budowie, B., & Lorente, J. A. (2012). Genetic identification of missing Persons: DNA analysis of human remains and compromised samples. *Pathobiology*, 79, 228-238.
- Applied Biosystems. (2010). *Automate Express™ Instrument- User guide* [Manual].
- Araújo, S. K. (2017). *Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana*. Trabalho de conclusão de curso, Centro Universitário de Brasília, Brasília, Brasil.
- Barbosa, R. P., & Romano, L. H. (2018). História e importância da genética na área forense. *Revista Saúde em foco*, (10), 300-307.
- Corradi, L. M., Travassos, D. V., Coste, S. C., Moura, R. N. V., & Ferreira, E. F. (2017). Identifying missing people: the contribution of forensic dentistry and DNA. *Revista de odontologia da UNESP*, 46(6), 313-318.
- Dawney, N., Flanson, R., Hall, M. J. R., & Steadman, D. W. (2018). Impact of sample degradation and inhibition on field-based DNA identification of human remains. *Forensic Science International: Genetic*, 37, 46-53.
- Decanine, D. (2016). O papel de marcadores moleculares na genética forense. *Revista Brasileira de Criminalística*, 5(2), 18-27.
- Decreto nº 7950, de 12 de março de 2013 (2013). Institui o Banco Nacional de Perfis Genéticos e a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- Ekert, M. H. F., Oliveira, N. C. L., Souza, C. A., Santos, S., Martins, D. B. G., & Filho, J. L. L. (2016). DNA forense aplicado na identificação de vítimas de crimes em Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Criminalística*, 5(2), 14-17.
- França, G. V. (2015). Antropologia médico-legal. In G. V. França. *Medicina legal* (10a ed., pp. 135-195). Guanabara Koogan.
- Freitas, F. (2019). A Identificação Genética – Reação em Cadeia da Polimerase na análise forense e perícia criminal. <https://www.laborgene.com.br/a-pcr-na-identificacao-genetica/>.
- Frohlich, P. B. M., Candeloro, M. M., Kimura, M. T., & Medeiros, M. O. (2020). O DNA como ferramenta de identificação humana e sua relevância para atuação jurídica. *Biodiversidade*, 19(1), 150-161.
- Garrido, R. G. (2018). Bases da genética forense. In R. Franklin. *Medicina Forense Aplicada*. Rio de Janeiro: Rubio, 122-126.
- Green, H., Tillmar, A., Pettersson, G., & Montelius, K. (2019). The use of FTA cards to acquire DNA profiles from postmortem cases. *International Journal of Legal Medicine*, 133, 1651-1657.
- International Criminal Police Organization - Interpol. (2018). *Disaster Victim Identification Guide* [Manual].
- Köche, J. C. (2011). Fundamentos de metodologia científica: teoria da ciência e iniciação à pesquisa. (34a ed., pp. 122-136). Editora Vozes.
- Latham, K. E., & Miller, J. J. (2018). DNA recovery and analysis from skeletal material in modern forensic contexts. *Forensic Sciences Research*, 4(1), 51-59.
- Lei nº 13.964, de 24 de dezembro de 2019 (2019). Aperfeiçoa a legislação penal e processual penal. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- Ministério da Justiça e Segurança Pública - MJSP. (2020). *Manual de procedimentos operacionais da rede integrada de Bancos de Perfis Genéticos* [Manual].
- Oliveira, T. S., & Filho, A. V. M. (2018). Técnicas de biologia molecular utilizadas para desvendar crimes. *Saúde & Ciências em ação- Revista acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde*, 4(1), 89-102.
- Oliveira, R. N., Martins, J. A., Paneto, G. G., & Cicarelli, R. M. B. (2017). Aplicações forenses do DNA. In E. Daruge, E. Daruge Júnior, & L. Franceschini Júnior. *Tratado de odontologia legal e deontologia* (1a ed., pp. 886-910). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Porto, M. J. A. (2015). Colheita e acondicionamento de amostras biológicas para identificação genética. In F. Corte-Real & D. N. Vieira. *Princípio da genética Forense* (pp. 18-40). Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Promega. (2021). *Maxwell® FSC Instrument Operating Manual* [Manual].
- Reid, K. M., & Heatfield, L. J. (2020). Evaluation of direct PCR for routine DNA profiling of non-decomposed deceased individuals. *Science & Justice*, 60, 567-572.
- Santos, V. R. D., Pereira, F. S., Caligorne, S. M. (2011). DNA forense. In R. C. Couto. *Perícias em odontologia legal & odontologia legal* (pp. 461-474). Rio de Janeiro: MeedBook.
- Turigan, R. S., Brow, J., Kaplun, L., Smith, J., Watson, J., Boyd, D. A., Steadman, D. W., & Selden, R. F. (2020). Identification of human remains using Rapid DNA analysis. *International Journal of Legal Medicine*, 134, 863-872.
- Vanrell, J. P. (2019). DNA em odontologia legal. In J. P. Vanrell. *Odontologia legal e antropologia forense* (3a ed., pp. 319-330). Guanabara Koogan.