

# **Técnicas moleculares padronizadas para identificação de agentes biológicos em violência sexual**

**Standard molecular techniques for identifying biological agents in sexual violence**

**Técnicas moleculares estándar para la identificación de agentes biológicos en la violencia sexual**

Recebido: 29/11/2022 | Revisado: 07/12/2022 | Aceitado: 08/12/2022 | Publicado: 16/12/2022

**Emanuella Gabriella Silva de Albuquerque**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7157-1674>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: [emanuellaalbuquerque63117@gmail.com](mailto:emanuellaalbuquerque63117@gmail.com)

**Gustavo Pierre Andrade Queiroz de Freitas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4011-0488>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: [gustavopierreandrade@gmail.com](mailto:gustavopierreandrade@gmail.com)

**Jasmile Gabrielly Carneiro de Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9557-7993>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: [gabri01elly@gmail.com](mailto:gabri01elly@gmail.com)

**Tiago Vieira dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7956-069X>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: [tiagovieiradosantos15@gmail.com](mailto:tiagovieiradosantos15@gmail.com)

## **Resumo**

A perícia criminal é uma ciência que está no centro da resolução de todos os tipos de crimes, desde aqueles que envolvem vítimas fatais até aqueles relacionados ao meio ambiente. O objetivo geral do artigo foi descrever as principais técnicas moleculares padronizadas para identificação de agentes biológicos em violência sexual. Foi realizada uma revisão sistemática. Os artigos empregados vão desde o caráter forense a fundamentação teórica acerca de definições científicas sobre temas que englobam a área da pesquisa e para isso foram utilizados critérios de inclusão e exclusão segundo a metodologia PRISMA. Foram selecionados 10 artigos para compor a revisão. Identificou-se após apurar vários métodos da biologia molecular o reconhecimento das principais técnicas utilizadas, a PCR e a eletroforese, como sua complementar. Mesmo com pouca quantidade de material genético encontrado em uma cena do crime, como DNA presente em um cigarro ou um copo utilizado pelo suspeito na hora do crime, a técnica de PCR e suas variações possibilita amplificar, multiplicando o DNA até a amostra ser suficiente para análise, fazendo a tipagem do material. Conclui-se a partir dessa revisão que as principais técnicas utilizadas são Técnicas de PCR (cadeia de polimerase), Técnica de eletroforese e de extração de DNA e técnica de sequenciamento de DNA. Verificou-se que análise forense é importante para buscar maior exatidão e precisão quantitativa e qualitativa para resultados que comprovem a origem da identificação da amostra analisada.

**Palavras-chave:** Delitos sexuais; Genética forense; Biologia molecular.

## **Abstract**

Criminal expertise is a science that is at the heart of solving all types of crimes, from those involving fatal victims to those related to the environment. The general objective of the article was to describe the main standardized molecular techniques for identifying biological agents in sexual violence. A systematic review was performed. The articles used range from the forensic character to the theoretical foundation about scientific definitions on topics that encompass the research area and for that, inclusion and exclusion criteria were used according to the PRISMA methodology. Ten articles were selected to compose the review. After investigating several methods of molecular biology, the recognition of the main techniques used, PCR and electrophoresis, was identified as their complement. Even with a small amount of genetic material found at a crime scene, such as DNA present in a cigarette or a glass used by the suspect at the time of the crime, the PCR technique and its variations make it possible to amplify, multiplying the DNA until the sample is sufficient to analysis, typing the material. It is concluded from this review that the main techniques used are PCR (polymerase chain) techniques, electrophoresis and DNA extraction techniques and DNA sequencing techniques. It was found that forensic analysis is important to seek greater accuracy and quantitative and qualitative precision for results that prove the origin of the identification of the analyzed sample.

**Keywords:** Sexual offenses; Forensic genetics; Molecular biology.

## Resumen

La pericia criminal es una ciencia que está en el centro de la resolución de todo tipo de delitos, desde los que involucran víctimas mortales hasta los relacionados con el medio ambiente. El objetivo general del artículo fue describir las principales técnicas moleculares estandarizadas para la identificación de agentes biológicos en la violencia sexual. Se realizó una revisión sistemática. Los artículos utilizados van desde el carácter forense hasta la fundamentación teórica sobre definiciones científicas sobre temas que engloban el área de investigación y para ello se utilizaron criterios de inclusión y exclusión según la metodología PRISMA. Diez artículos fueron seleccionados para componer la revisión. Después de investigar varios métodos de biología molecular, se identificó como su complemento el reconocimiento de las principales técnicas utilizadas, PCR y electroforesis. Incluso con una pequeña cantidad de material genético encontrado en la escena del crimen, como el ADN presente en un cigarrillo o un vaso usado por el sospechoso en el momento del crimen, la técnica PCR y sus variaciones permiten amplificar, multiplicando el ADN, hasta que la muestra sea suficiente para el análisis, tipificando el material. De esta revisión se concluye que las principales técnicas utilizadas son técnicas de PCR (cadena de polimerasa), técnicas de electroforesis y extracción de ADN y técnicas de secuenciación de ADN. Se constató que el análisis forense es importante para buscar mayor exactitud y precisión cuantitativa y cualitativa en los resultados que acrediten el origen de la identificación de la muestra analizada.

**Palabras clave:** Delitos sexuales; Genética forense; Biología molecular.

## 1. Introdução

A perícia criminal é uma ciência que está no centro da resolução de todos os tipos de crimes, desde aqueles que envolvem vítimas fatais até aqueles relacionados ao meio ambiente (Cunha, 2019).

O perito criminal é o profissional responsável pela análise da cena de um crime, buscando identificar, registrar, coletar, interpretar e armazenar os vestígios. Esse profissional estuda o corpo ou objeto envolvido no delito, busca refazer o mecanismo do crime, examina o local onde ocorreu e efetua exames laboratoriais para determinar os fatos ocorridos (Cunha, 2019). É importante pontuar todos os tipos de materiais biológicos e como são feitas as suas coletas, que são utilizadas para ajudar na identificação dos indivíduos envolvidos, desde vítimas até agressores.

Podemos resumir os procedimentos de coleta em 12 (doze) passos principais iniciando pelo: isolamento e preservação do local do crime; avaliar se o local de crime está devidamente isolado e preservado; observar minuciosamente o local do crime antes de entrar no espaço; reunir com a equipe de peritos para analisarem e definirem a melhor forma de iniciar o processamento do local. No local do crime deve haver no mínimo dois peritos para executar o trabalho; escolher o método de busca de vestígios: linha, linha cruzada, espiral ou quadrante; marcar os vestígios encontrados; Anotar, registrar e documentar todos os vestígios encontrados, por meio de: fotografia, descrição narrativa (escrita, áudio ou vídeo), e croqui da cena (Art. 160. Do CPP- Código de Processo Penal); coletar os vestígios de acordo com as técnicas adequadas para preservar as características de cada item, seja ele biológico físico ou químico; Após a coleta, reunir com a equipe para checar se o trabalho realizado até então foi suficiente; Encaminhar o material coletado para análise pericial em laboratório de criminalística; Lembrar de cumprir a cadeia de custódia; Liberar o local (Cardoso et al., 2022).

Os instrumentos que são utilizados para fazer coletas desses materiais biológicos são com pinças novas descartáveis ou pinças esterilizadas, em casos de coleta de pelos ou cabelo, podendo utilizar desses materiais por falta de investimento, sendo assim deve-se utilizar os EPI's de acordo com os Procedimentos Operacionais padrões descritos pelo farmacêutico responsável da empresa que está prestando serviço (Giovanelli et al., 2022).

Existem três principais técnicas que ajudam a mapear o sequenciamento do DNA humano, métodos esses que vieram do século XX, sendo o primeiro procedimento realizado com sucesso foi o sequenciamento de moléculas de DNA por Frederick em 1975, e após isso veio à análise de polimorfismo de minissatélites por Alec Jeffreys e por último a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) por Kary Mullis (Araujo, 2017).

A técnica mais eficaz dependerá do tipo da amostra biológica coletada. O principal teste da biologia molecular utilizado é o PCR (Reação em cadeia da Polimerase), esse teste consiste na utilização da enzima da DNA polimerase que sintetiza uma nova fita de DNA que complementa uma fita molde. Sendo assim uma pequena parcela de fragmento de DNA pode ser clonada

em milhões de outras cópias, sendo assim facilitando na detecção da amostra desejada e com um auxílio de corantes e outras técnicas de visualização se torna possível verificar de maneira correta (Cunha, 2019).

Este artigo tem como objetivo descrever as principais técnicas moleculares padronizadas para identificação de agentes biológicos em violência sexual. Além dos procedimentos pré-analíticos importantes para a manutenção da integridade das amostras biológicas analisadas em perícia criminal e ainda verificar que técnicas moleculares são úteis na investigação de crimes sexuais e descrever seus parâmetros de acurácia e procedimentos realizados. O presente estudo busca responder a questão norteadora: quais as principais técnicas padronizadas para identificação de agentes biológicos a serem utilizadas em casos de violência sexual?

## **2. Metodologia**

A pesquisa se trata de uma revisão de literatura descritiva, referente à área de genética forense e biologia molecular na perícia e as técnicas utilizadas para elucidação dos crimes, disponível em bancos de dados online e gratuito. Destaca Kochhann (2021) que para uma boa revisão da literatura descritiva é essencial a identificação correta das publicações sobre o tema da pesquisa como um elemento essencial de qualquer pesquisa científica, como o processo de criação de uma descrição bibliográfica de cada fonte onde as metas e tópicos abordados estejam conectados (do Breviário, 2020).

Os artigos selecionados foram procurados utilizando as palavras chaves: “Violência Sexual”, “Crime”, “Genética Forense”, “Biologia Molecular”, e para isso será utilizado três plataformas Scielo, BVS, PUBMED. E as buscas pelos artigos foram realizadas com as seguintes combinações: Violência Sexual AND Crime, Violência Sexual AND Genética Forense, Violência Sexual AND Crime AND Genética forense, Violência Sexual AND Crime AND Genética forense AND Biologia Molecular.

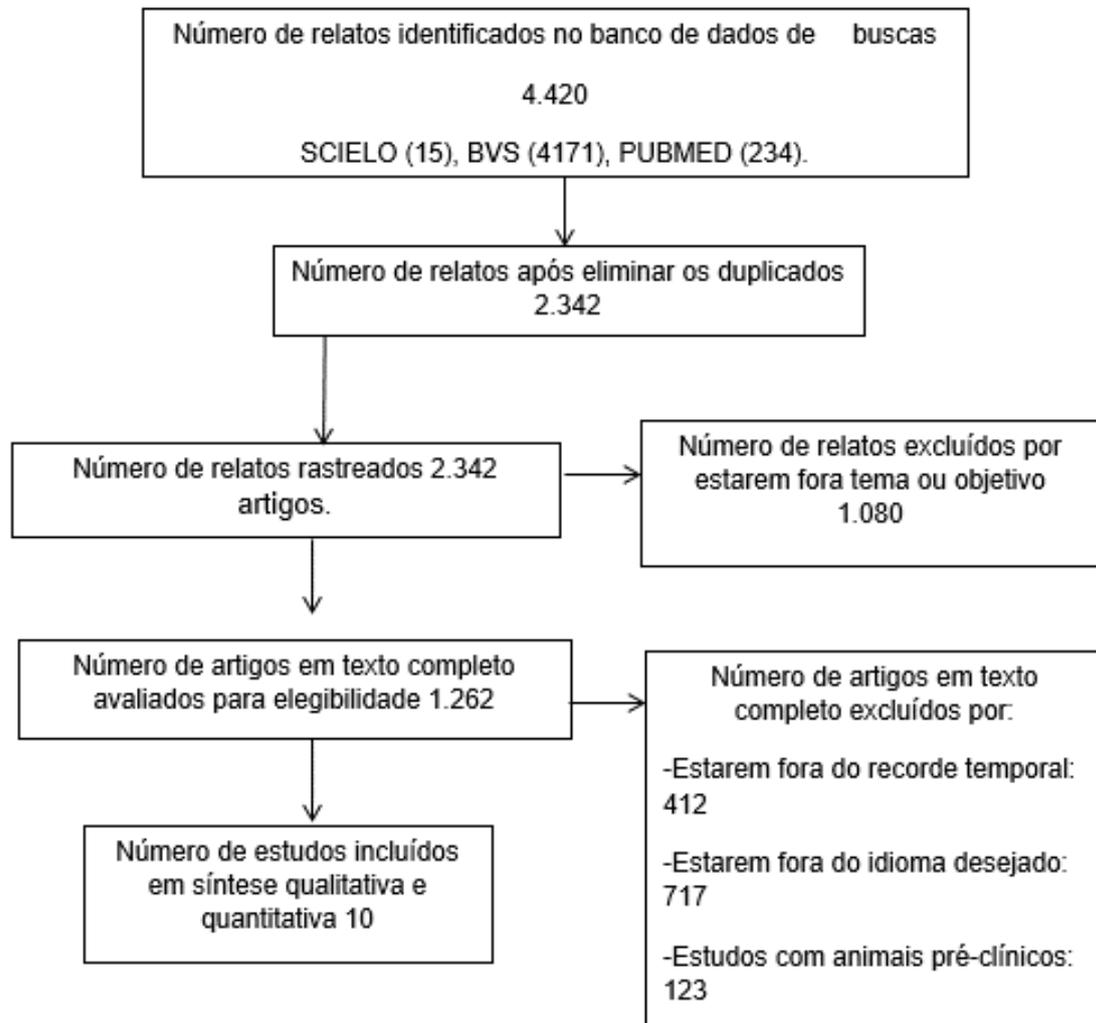
Os critérios de inclusão utilizados foram estudos de revisão sistemática, pesquisa qualitativa, revisão bibliográfica, estudo de casos e revisão de literatura. Artigos publicados no período de 2010 a 2021, e artigos relacionados ao tema, técnicas moleculares padronizadas para identificação de agentes biológicos em violência sexual, sendo que todos os selecionados foram escritos em português.

Os critérios de exclusão foram todos os artigos antes do período de 2010, escritos em idiomas diferentes do português e fora da temática escolhida e também foram excluídos os artigos duplicados.

## **3. Resultados e Discussão**

Com a aplicação dos seguintes critérios, foram selecionados 10 artigos para essa revisão conforme mostrados na Figura 1:

**Figura 1** - Fluxograma de seleção de dados.



Fonte: Elaborado pelos Autores.

As evidências biológicas (manchas de sangue, sêmen, cabelos e etc.) são encontradas em cenas de crimes e o DNA pode ser extraído dessas evidências e estudado por técnicas moleculares em laboratório, permitindo a investigação do possível suspeito.

Cada técnica possui indicações, vantagens e desvantagens. Por exemplo, se é necessário à extração de DNA de alta massa molecular utiliza-se a extração orgânica com fenol-clorofórmio, é mais complexo e demorado, caso a extração não seja de DNA de alta massa molecular usa-se a técnica de Chelex que é mais rápida, fácil e eficiente. A técnica mais eficaz dependerá do tipo da amostra biológica coletada. (Coutinho, 2021).

Em amostras derivadas de crimes sexuais, é utilizada a extração diferencial, um modelo diferenciado de extração orgânica, onde ela é baseada na ideia de que os espermatozoides são células mais resistentes do que as células epiteliais da mucosa vaginal (Cunha, 2019).

Com esses 10 artigos foram construídos um quadro de resumos das informações mais importantes (Quadro 1):

**Quadro 1 - Resumo dos Estudos.**

AUTORES	TÍTULO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	CONCLUSÕES
Rodrigues, V. R., & Fronza, E. (2021)	O uso de material genético na elucidação de crimes contra a vida humana	Revisão sistemática	Analisar a produção científica relativa ao uso de material genético na elucidação de crimes contra a vida humana.	O estudo permitiu verificar que a genética forense é uma área que se encontra em ascensão e a biologia molecular constitui ferramenta relevante na investigação de crimes contra a vida, na redução da impunidade e de condenações injustas.
Silva, A. C. D. O., & Moura, E. D. D. (2015)	A Importância da Genética Forense na Investigação e Resolução de Crimes Sexuais.	Pesquisa qualitativa	Identificar a importância das técnicas moleculares utilizadas na investigação e resolução de crimes sexuais.	A análise do DNA é um dos maiores progressos técnicos da investigação criminal desde a descoberta das impressões digitais e contribuiu de forma significativa nas investigações de violência sexual em todo o mundo. As técnicas e métodos para determinar o perfil do DNA são firmemente embasados na tecnologia molecular e quando feita com cuidados são altamente reprodutíveis.
Decanine, D. (2016)	O papel de marcadores moleculares na genética forense	Revisão bibliográfica	O objetivo desse trabalho foi apresentar uma revisão bibliográfica sobre as tecnologias utilizadas na Genética Forense, enfatizando o uso de marcadores moleculares para a identificação humana.	Um número crescente de cientistas está convencido de que o sequenciamento de DNA em breve vai substituir os métodos baseados na análise de comprimento de fragmentos devido ao fato de poderem ser expandidos e analisados de forma rápida e com satisfatório custo benefício.
Vasconcellos, F. B. D., & Azevedo, R. G. D. (2011)	Situação atual e a percepção dos Delegados de Polícia sobre as fragilidades do modelo brasileiro de investigação criminal	Estudo de caso	Apreender as percepções desses operadores do Sistema Penal a respeito dos dilemas enfrentados para a produção da investigação, tanto na relação com as demais instituições, quanto pelas precariedades materiais e humanas que se evidenciam na Polícia Civil gaúcha.	A pesquisa no interior de instituições corporativas como é a Polícia Civil se depara permanentemente com interesses particularistas que, muitas vezes, se opõem à possibilidade de uma reforma mais ampla.
Leite, V. S., Batista, M. I. D. H. M., Soriano, E. P., de Carvalho, M. V. D., & Sobral, A. P. V. (2013)	Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense	Revisão Sistemática	Fazer uma revisão sobre as técnicas de Biologia Molecular mais significativas – RFLP (Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição), VNTR (número variável de repetição em tandem), PCR (reação em cadeia da polimerase) e STR (repetição em tandem curto) – que foram desenvolvidas nas últimas décadas, tendo como princípio o estudo de diferentes polimorfismos de DNA para a identificação precisa de indivíduos.	Os métodos baseados na PCR são imediatos, requerem apenas uma pequena quantidade de material e podem fornecer identificação não ambígua de alelos individuais. Assim, vários métodos de PCR, particularmente os que usam os STRs, estão sendo cada vez mais usados.
Rodrigues, C. V., Silva, M. T. D., & Truzzi, O. M. S. (2010)	Perícia criminal: uma abordagem de serviços	Estudo de caso	Argumentar que o enquadramento das atividades desenvolvidas pela perícia criminal como um processo de operações em serviço que ocorre em uma rede intraorganizacional pode incrementar o valor da imparcialidade da Justiça Criminal entregue a seus principais destinatários.	Como resultado, obteve-se que a utilidade do serviço de perícia criminal é produzir a prova da materialidade do crime e vincular o autor à cena do crime e, assim, contribuir para a elucidação do delito.

Frohlich, P. B. M., Candeloro, M. M., Kimura, M. T., & Medeiros, M. O. (2020)	O DNA como ferramenta de identificação humana e a sua relevância para a atuação jurídica	Revisão bibliográfica	O objetivo desse trabalho é apresentar informações que permitem compreender a importância da utilização do DNA como instrumento auxiliar para a identificação criminal de determinada pessoa.	A inclusão do material biológico da mãe (M), criança (C) e suspeitos (S1, S2 e S3) nas análises eletroforéticas foram muito relevantes na obtenção dos resultados, deixando claro o quanto uma equipe bem preparada e laboratórios bem equipados podem auxiliar a justiça brasileira.
Hofstatter, P. P. (2013)	Identificação humana por DNA mitocondrial	Estudo de Caso	Realizar uma revisão bibliográfica a respeito das aplicações do DNA mitocondrial na identificação humana.	O DNA mitocondrial apresenta uma diversa aplicabilidade na genética forense, em estudos da história evolutiva humana, diferenciação populacional e identificação humana.
Luiz, R. R. K. (2019)	Identificação humana a partir de larvas necrófagas em situações de simulação de violência sexual seguida de morte	Revisão de literatura	Este trabalho tem por objetivo contribuir com mais uma possibilidade de identificação de agressores sexuais em casos de vítimas violentadas e mortas, cujos corpos tenham sido colonizados por larvas de dípteros necrófagos.	Na maior parte dos tratamentos foi possível recuperar DNA humano proveniente do conteúdo gastrointestinal das larvas. É possível notar que apenas uma amostra não apresentou DNA autossômico quantificável, enquanto seis não apresentam quantidades suficientes de DNA proveniente do cromossomo Y.
França, P. R., Neto, M. F., & dos Santos, J. E. L. (2018)	Análise crítica da investigação criminal e defensiva no Brasil	Revisão de literatura	Realizar a análise crítica da viabilidade de implementação ou não do instituto no ordenamento jurídico, quanto sobre o ponto de vista da legitimidade para promovê-la.	O moderno direito, ante o complicado dinamismo social, busca acrescentar ferramentas e exegeses, visando direcionar o movimento popular em convergência ao garantismo essencial defendido internacionalmente.

Fonte: Elaborado pelos Autores.

Sendo assim essa técnica de extração é baseada em duas etapas distintas, a primeira que é mais simples consiste na lise das membranas celulares das células epiteliais femininas, com isso adquirindo uma parcela uma fração do espermatozoide. (Silva; Moura, 2015).

No caso de violência sexual as amostras coletadas são majoritariamente as secreções vaginais ou anais, tanto presentes nas roupas íntimas das vítimas como, por exemplo, calcinha e cueca como também na própria vítima, às vezes também se é necessário coletar alguns lençóis (Araújo, 2017). Porém as técnicas utilizadas são as mesmas dos métodos convencionais, PCR e eletroforese em sequência.

As evidências biológicas (manchas de sangue, sêmen, cabelos e etc.) são encontradas em cenas de crimes e o DNA pode ser extraído dessas evidências e estudado por técnicas moleculares em laboratório, permitindo a investigação do possível suspeito.

Cada técnica possui indicações, vantagens e desvantagens. Por exemplo, se é necessário à extração de DNA de alta massa molecular utiliza-se a extração orgânica com fenol-clorofórmio, é mais complexo e demorado, caso a extração não seja de DNA de alta massa molecular usa-se a técnica de Chelex que é mais rápida, fácil e eficiente. A técnica mais eficaz dependerá do tipo da amostra biológica coletada. (Coutinho, 2021).

Em amostras derivadas de crimes sexuais, é utilizada a extração diferencial, um modelo diferenciado de extração orgânica, onde ela é baseada na ideia de que os espermatozoides são células mais resistentes do que as células epiteliais da mucosa vaginal (Cunha, 2019).

Sendo assim essa técnica de extração é baseada em duas etapas distintas, a primeira que é mais simples consiste na lise das membranas celulares das células epiteliais femininas, com isso adquirindo uma parcela uma fração do espermatozoide. (Silva; Moura, 2015).

No caso de violência sexual as amostras coletadas são majoritariamente as secreções vaginais ou anais, tanto presentes nas roupas íntimas das vítimas como, por exemplo, calcinha e cueca como também na própria vítima, às vezes também se é necessário coletar alguns lençóis (Araújo, 2017). Porém as técnicas utilizadas são as mesmas dos métodos convencionais, PCR e eletroforese em sequência.

É estimado que 99,6% do DNA humano seja igual em toda a população, sendo apenas 0,4% que pode variar de pessoa para pessoa, permitindo então a identificação individual (Rodrigues; Toledo, 2017). Essa pequena porcentagem variante, intitulada de regiões polimórficas é de alta relevância para a perícia criminal quando ocorre a necessidade de identificação de suspeitos em uma cena do crime.

Logo, identificou-se após apurar vários métodos da biologia molecular o reconhecimento de dois determinados mecanismos e técnicas utilizadas, sendo eles o PCR e a eletroforese mesmo com pouca quantidade de material genético encontrado em uma cena do crime, como DNA presente em um cigarro ou um copo utilizado pelo suspeito na hora do crime, a técnica de PCR possibilita amplificar, multiplicando o DNA até a amostra ser suficiente para análise, fazendo a tipagem do material. Em contrapartida, existem duas classes de marcadores que são técnicas complementares ao PCR, cujo tem a capacidade de auxiliar a identificação destes agentes, sendo analisadas de maneiras diferentes. Estes métodos são separados em: SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) que tem como desvantagem a necessidade de mais *locus* analisados, ou seja, ela possui informatividade reduzida das posições físicas de um gene ou uma sequência específica dentro de um cromossomo analisado. Entretanto, possui vantagem no caso de amostras de DNA degradado.

Já a detecção dos STRs (repetição em tandem curto), a técnica analisa sequências de 2 a 6 nucleotídeos sendo encontrado de maneira mais comum em cenas de crime, tem como vantagem uma maior informatividade, devido novos kits (GlobalFiler (Thermo Fisher Scientific) e PowerPlex Fusion System (Promega)) utilizados que podem analisar mais de 20 *locus* em uma só operação e produzindo produtos de PCR menores e de boa qualidade. Por isso é um método mais utilizado do que a detecção de

SNPs (Bazola, 2020).

A detecção de VNTR's (número variável de repetição em tandem) analisa 10 a 100 nucleotídeos, mas não é muito utilizada em cenas de crime, devido a amostra ter que estar completamente integra e em quantidades maiores que os das técnicas anteriores, sendo assim é utilizado mais em casos de determinação de paternidade e maternidade (Giovanelli et al., 2022).

Essa área de atuação é conhecida como genética forense, ciência forense que utiliza a engenharia genética e a biologia molecular, auxiliando a investigação criminal no esclarecimento de fatos delituosos. A genética forense contribui para uma indicação mais precisa do conceito de identidade pessoal do ponto de vista biológico. No Judiciário a capacidade de caracterizar amostras biológicas na cena do crime permite reconstruir infrações penais, identificar os autores, exonerar os inocentes, reconhecer pessoas desaparecidas, além da identificação de pessoas em desastres em massa e realizar mapeamento de etnias (Coutinho, 2021).

Para se identificar o perfil genético de um criminoso, os peritos quase sempre trabalham da frente para trás - da evidência para o alegado suspeito - para verificar a natureza real da relação. Assim, mediante o conhecimento de que o suspeito possui 100% do seu DNA vinculado aos vestígios biológicos coletados sob, por exemplo, as unhas da vítima quando ela pode ferir o agressor ao tentar se defender, sendo assim deixando vestígios suficientes para realização dos exames. E do princípio de que o perfil genético traçado dos vestígios biológicos coletados sob as unhas da vítima é originado dos genes alelos do suposto criminoso (De Oliveira; Filho, 2018).

Também é importante pontuar que este tipo de embasamento científico auxilia na identificação do suspeito e para inocentar o indivíduo suspeito, como por exemplo, nos casos de 1989 e 1993 “estados de Kansas x Moley” e “Estado de Maryland x Bloodsworth” respectivamente, onde os dois acusados foram inocentados do crime de estupro (Silva; Moura, 2015).

Um método utilizado para análise do DNA é o método de Sanger, como assim ficou conhecido, também denominado método didesoxi, é a base da primeira geração de sequenciadores. Ele se baseia no uso de uma enzima DNA polimerase para sintetizar cadeias de DNA de comprimentos variados. Nesse método, uma fita de DNA servirá como molde para fita da qual se deseja descobrir a sequência (Bazola, 2020).

A outra técnica já mencionada, a PCR, ocorre em ciclos termais, em que cada ciclo consiste em três etapas principais: desnaturação, que seria a separação da dupla fita de DNA. Emparelhamento dos iniciadores que determinam a região a ser copiada. Extensão, também conhecida como alongamento, onde a enzima taq polimerase complementa a fita, formando novamente uma dupla fita (De Melo, 2020).

Esta é uma técnica de grande importância para a análise forense, pelo fato da sua sensibilidade tornar capaz à amplificação de uma sequência específica de DNA, a partir de amostras mínimas ou degradadas, sendo possível realizar a comparação dos perfis genéticos nos casos de infração penal, cuja amostra (vestígio) é mínima (Araújo, 2017).

A técnica de PCR tem como vantagem a capacidade de multiplicar o DNA mais rapidamente se comparado aos métodos de cultura convencionais, uma quantidade ínfima de DNA alvo é necessária e uma alta reprodutibilidade dos resultados testes (Rodrigues, 2020).

Entretanto, a indispensabilidade de conhecimento da sequência de DNA alvo antes do ensaio, a incapacidade de medir uma quantidade basal de DNA a ser analisada, a alta vulnerabilidade à contaminação e equipamento de valor monetário relativamente alto, são considerados desvantagens da técnica de PCR (Cardoso et al., 2022).

O sequenciamento de DNA é o processo realizado para se determinar a sequência exata de nucleotídeos em uma molécula de DNA (ácido desoxirribonucleico). Isso significa que, ao sequenciar um fragmento de DNA com o uso da técnica de PCR podemos ter uma precisão e exatidão do procedimento analisado, sendo assim tendo uma acurácia de extrema qualidade, pois com este método é possível conhecer a sequência em que as quatro bases nucleotídicas (Adenina, Guanina, Citosina e Timina) ocorrem dentro dessa molécula de ácido nucleico (De Oliveira; Filho, 2018).

A eletroforese, outra técnica complementar a PCR, tem como base separar as amostras determinadas de DNA em compartimentos que consistem em poços com gel semissólido; e a partir daí as amostras passarão por corrente elétrica que farão o DNA correr pelo gel, sendo que quanto menor o fragmento mais rápido ele é e logo mais longe irá se locomover. No caso da Eletroforese capilar, complementar o método de sequenciamento, após desligar a corrente elétrica o DNA deixa de estar em dupla fita e se torna uma só, para que assim por meio capilaridade, as passem através de um fio de náilon, onde nesse sistema as sequências de DNA serão separadas por tamanho (Rodrigues; Toledo, 2017).

O sistema de sequenciamento analisará e quantificará as sequências encontradas para se comparar, por exemplo, com uma amostra da cena de um crime e assim identificar um possível infrator.

A técnica de eletroforese convencional complementar a PCR, dispõe uma série de vantagens, particularmente a rapidez, versatilidade, possui um baixo custo por análise, alto poder de separação, um consumo mínimo de amostras, reagentes e solventes. A eletroforese capilar, apesar de apresentar um maior custo, oferece a possibilidade de automação e análise em bancos de dados online (Cardoso et al., 2022).

Dessa forma com todos os estudos revisados, a análise microscópica de DNA em traços, ou nas células epiteliais produziram resultados surpreendentemente positivos, mesmo em amostras anteriormente consideradas negativas. Nos últimos anos, as investigações científicas, ao lado de métodos tradicionais de investigação recomenda-se selecionar várias amostras em casos com vários abusadores ou singulares em resultados de DNA complexos.

#### 4. Conclusão

Conclui-se a partir dessa revisão as principais técnicas utilizadas são Técnicas de PCR (cadeia de polimerase), Técnica de eletroforese e de extração de DNA e técnica de sequenciamento de DNA; a análise forense é importante para buscar maior exatidão e precisão quantitativa e qualitativa para resultados que comprovem a origem da identificação da amostra analisada.

Da mesma forma se constatou que ainda existem tem diversos obstáculos para utilização dessas técnicas, como equipamentos tecnológicos adequados e fatores interferentes na qualidade da amostra tendo em vista que desde o tempo e exposição ao ambiente podem interferir na degradação do composto coletado.

Sugere-se a realização de outros estudos nessa linha de pesquisa, entre as quais deixa-se como sugestão a identificação e comparação das diversas técnicas moleculares padronizadas destinado a identificar a eficácia de cada método.

#### Referências

- Araujo, S. K. D. (2017). *Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana*. TCC de Biomedicina, UNICEUB. <https://core.ac.uk/download/pdf/185257495.pdf>
- Bazola, L. M. (2020). A utilização do exame de DNA como material probatório na investigação criminal e elucidação dos crimes: uma análise no ordenamento jurídico pátrio. TCC em Direito, Centro Universitário UNDB. <http://repositorio.undb.edu.br/bitstream/areas/419/1/LARA%20MARTINS%20BAZOLA.pdf>
- Cardoso, K. M., Silva, P. P., Franco, J. V. V., & Azeredo, J. P. S. (2022). A influência da PCR na perícia criminal. *Amazônia: Science & Health*, 10(2), 43-57. <http://ojs.unirg.edu.br/index.php/2/article/view/3758>
- Coutinho, J. H. (2021). *Perícia Criminal: uma abordagem de gestão laboral*. TCC de Biomedicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás. <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/2213/1/TCC%20J%20c%3%81DER.pdf>
- Cunha, M. T. (2019). *Análise de misturas de DNA no âmbito de perícias criminais: estudo comparativo da lise diferencial em Agressões Sexuais*. Dissertação de Mestrado em Genética Forense, Universidade do Porto. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/125688/2/378311.pdf>
- Decanine, D. (2016). O papel de marcadores moleculares na genética forense. *Rev. Bras. Crimin.*, 5(2), 18-27. [https://scholar.archive.org/work/t7oakaitkbajjsgokal2mh67y/access/wayback/http://rbc.org.br/ojs/index.php/rbc/article/download/123/pdf\\_51](https://scholar.archive.org/work/t7oakaitkbajjsgokal2mh67y/access/wayback/http://rbc.org.br/ojs/index.php/rbc/article/download/123/pdf_51)
- de Melo, C. B. (2020). A Perícia Criminal como instrumento de promoção dos direitos humanos. *Revista Brasileira de Ciências Policiais*, 11(3), 15-22. <https://periodicos.pf.gov.br/index.php/RBCP/article/view/790>
- de Oliveira, T. S., & Filho, A. V. M. (2018). Técnicas de Biologia Molecular Utilizadas para Desvendar Crimes. *Saúde & Ciência Em Ação*, 4(1), 89-102. <http://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/399>

do Breviário, Á. G. (2020). *Os Três Pilares da Metodologia da Pesquisa Científica: O Estado da Arte*. Curitiba: Editora Appris.

Leite, V. S., Batista, M. I. D. H. M., Soriano, E. P., de Carvalho, M. V. D., & Sobral, A. P. V. (2013). Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. *Derecho y Cambio Social*, 10(34), 21. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5475842>

Luiz, R. R. K. (2019). *Identificação humana a partir de larvas necrófagas em situações de simulação de violência sexual seguida de morte*. Dissertação de Mestrado em Genética, Universidade Federal do Paraná. <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/67559/R%20-%20D%20-%20RAFAEL%20ROBERTO%20KIRSTEN%20LUIZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

França, P. R., Neto, M. F., & dos Santos, J. E. L. (2018). Análise Crítica da Investigação Criminal e Defensiva no Brasil. *Revista Justiça e Sistema Criminal*, 10(18), 163-182. <https://revistajusticaesistemacriminal.fae.edu/direito/article/view/142>

Frohlich, P. B. M., Candeloro, M. M., Kimura, M. T., & Medeiros, M. O. (2020). O Dna Como Ferramenta De Identificação Humana E A Sua Relevância Para A Atuação Jurídica. *Biodiversidade*, 19(1). <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/10001>

Giovannelli, A., dos Santos, A., Mayer, R. D., & Torres, P. A. (2022). *Coleta de DNA em locais de crime: procedimentos e aplicações*. São Paulo: Editora Dialética.

Hofstatter, P. P. (2013). *Identificação humana por DNA mitocondrial*. Trabalho de conclusão de curso em Biomedicina, UniCEUB. <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/3879/1/Outro%20documento%20%2814%29.pdf>

Kochhann, A. (2021). *A PRODUÇÃO ACADÊMICA E A CONSTRUÇÃO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO: concepções, sentidos e construções*. São Paulo: Editora Kelps.

Rodrigues, V. R., & Fronza, E. (2021). O Uso De Material Genético Na Elucidação De Crimes Contra A Vida Humana: Uma Revisão Sistemática. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 7(6), 1-33. <https://www.periodicorease.pro.br/rease/article/view/1352>

Rodrigues, J. M., & Silva, B. K. F. (2020). A relevância dos marcadores moleculares para elucidação de homicídios e crimes sexuais. *Brazilian Journal of Development*, 6(3), 13574-13584. <https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/7824>

Rodrigues, C. V., Silva, M. T. D., & Truzzi, O. M. S. (2010). Perícia criminal: uma abordagem de serviços. *Gestão & Produção*, 17, 843-857. <https://www.scielo.br/j/gp/a/cdqMjpgTTNvKtqXJQ5KGJdg/abstract/?lang=pt>

Rodrigues, C. V., & Toledo, J. C. D. (2017). Um método para medição de desempenho do serviço público de Perícia Criminal com base no valor. *Gestão & Produção*, 24, 538-556. <https://www.scielo.br/j/gp/a/mFvTvDsz6KGNR4MbhKPbXrD/?format=html&lang=pt>

Silva, A. C. D. O., & Moura, E. D. D. (2015). *A Importância da genética forense na investigação e resolução de crimes sexuais*. Trabalho de Conclusão de Curso em Diagnóstico Molecular, Faculdade Pernambucana de Saúde. <https://repositorio.fps.edu.br/handle/4861/635>

Vasconcellos, F. B. D., & Azevedo, R. G. D. (2011). O inquérito policial em questão: situação atual e a percepção dos delegados de polícia sobre as fragilidades do modelo brasileiro de investigação criminal. *Sociedade e Estado*, 26, 59-75. <https://app.uff.br/riuff/handle/1/6070>