

Janaína Mendes Sousa

Faculdade Anhanguera de Brasília

janauiera@gmail.com

Paulo Roberto Martins Queiroz

Faculdade Anhanguera de Brasília

pqsilva@uol.com.br

COLETA E PRESERVAÇÃO DE VESTÍGIOS BIOLÓGICOS PARA ANÁLISES CRIMINAIS POR DNA

RESUMO

O DNA forense teve grande aplicação na identificação humana por meio da comparação de perfis genéticos obtidos de amostras biológicas sendo possível a identificação da vítima ou autor, por meio de marcadores baseados em DNA. Para o sucesso desse procedimento é importante uma correta metodologia de coleta, preservação e acondicionamento visando atender padrões físicos e jurídicos. O objetivo desse trabalho foi demonstrar a importância de se estabelecer protocolos de coleta, preservação e análise de vestígio biológico e relatar a necessidade da criação de um banco de dados de DNA. Porém, para total desenvolvimento são necessárias algumas adaptações na legislação vigente, treinamento de profissionais e investimento em equipamentos modernos de análise de DNA. Dessa forma, a adoção de metodologias adequadas permitirá atingir um nível elevado de qualidade na análise de vestígios biológicos.

Palavras-Chave: vestígios; coleta; preservação; criminalística; perícia.

ABSTRACT

The forensic DNA had great application in human identification through comparing of genetic profiles obtained from biological samples is possible to identify the victim or by the author based on DNA markers. For the success of this procedure is important to a correct methodology of collection, preservation and packaging to meet physical standards and legal. The aim of this study was to demonstrate the importance of establishing protocols for collection, preservation and analysis of biological trace and report the necessity of creating a database of DNA. However, to fully develop certain changes in legislation, professional training and investment in moderns equipment for DNA analysis. Thus, the adoption of appropriate methodologies will achieve a high level of quality in the analysis of biological evidence.

Keywords: traces; collection; preservation; criminalistics; forensic.

Anhanguera Educacional Ltda.

Correspondência/Contato

Alameda Maria Tereza, 4266

Valinhos, São Paulo

CEP 13.278-181

rc.ipade@anhanguera.com

Coordenação

Instituto de Pesquisas Aplicadas e

Desenvolvimento Educacional - IPADE

Revisão de Literatura

Recebido em: 12/09/2011

Avaliado em: 10/10/2011

Publicação: 2 de abril de 2013

1. INTRODUÇÃO

Ferreira (1999) define vestígio como sendo um sinal que homem ou animal deixa com os pés no lugar por onde passa, podendo também denominar de rastro, pegada, pista ou indício. Estes podem ser utilizados como instrumentos de investigação criminal e, ao serem analisados, permitem a correlação com a autoria do ato, delito ou, até mesmo, a identificação da vítima (DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010).

Os principais vestígios nos locais de crime são as impressões papilares, terras e sujidades, projéteis, estojos, armas de fogo, peças de roupa, fragmentos de pintura (lascas de pintura) e vestígios biológicos como sangue, sêmen, saliva, urina, material fecal, pelos, placenta, ossos e outras secreções ou tecidos biológicos podem ser objetos de análises forenses (BYRD, 1999; BEZERRA, 2004; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010). Sendo assim, os vestígios biológicos são classificados quanto à localização em que são coletados. Os instrumentos e a cena do crime, assim como, os corpos da vítima e do suspeito são as fontes primárias de obtenção dos vestígios biológico (RIBEIRO, 2003).

Após minuciosa análise laboratorial em conjunto com os dados policiais, caso o vestígio estabeleça uma ligação com o fato delituoso, deixará de ser chamado de vestígio e receberá o nome de indício (DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010). No Código de Processo Penal, artigo 239, o termo indício é definido como: *“circunstância conhecida e provada, que, tem relação com o fato, autorize, por indução, concluir-se a existência de outra ou outras circunstâncias”*.

Os indícios ligados diretamente ao crime recebem o nome de indícios próprios que são os relacionados diretamente ao crime, já os indícios manifestos são resultantes da natureza do crime. Também há os indícios distantes que possuem uma aceitável relação com o crime (SILVA; PASSOS, 2006; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010). Os envolvidos no ato podem produzir indícios propositais, sendo eles autênticos ou falsos. Estes últimos são gerados pelo autor do delito e tem como finalidade ocultar, dificultar a descoberta seja da autoria ou do ato em si. Os indícios acidentais são produzidos sem a intenção do autor. Por exemplo, no manuseio de um objeto as impressões papilares ficam gravadas e, se interpretados com lealdade e exatidão, constituirão um papel importante no inquérito policial com a função legal de fornecer ao juiz o conhecimento da verdade por meio da prova por indícios. Ressalta-se, então, a importância de se manter grande rigor e minucioso cuidado na coleta e no manuseio das amostras que possivelmente serão úteis na elucidação dos fatos (SILVA; PASSOS, 2006; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA,

2010). A relação vestígio e indício foi definida com precisão por Gilberto Porto (1969), em poucas palavras na frase “*O vestígio encaminha; o indício aponta*”.

Portanto, devido ao conhecimento da análise laboratorial, anatomia, fisiologia e outras áreas de conhecimento em ciências da saúde, o Biomédico tem importante função para os laboratórios de criminalística, pois será capaz de executar os exames de identificação da vítima e possíveis autores de delitos pela interpretação dos vestígios biológicos, que podem ser extraídos dos vestígios encontrados na cena de crime. Além disso, esses profissionais podem estar diretamente ligados à coleta e ao transporte desse material, por conhecer a melhor forma de manipular cada tipo de amostra sem torná-la inválida de acordo com os pontos de vista técnico e jurídico.

A metodologia usada para a realização desse trabalho de revisão bibliográfica foi a utilização de referências publicadas e encontradas em bibliotecas de universidades e faculdades, sites de organizações e instituições de investigações e artigos de periódicos especializados, como também, livros de acervo pessoal.

O objetivo desse trabalho foi apresentar os principais métodos para a coleta, preservação e análise de vestígios de natureza biológica.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Banco de Dados de DNA Forense

A resolução de crimes utilizando os exames de DNA tem revolucionado a investigação criminal em todo o mundo. Por meio da comparação dos perfis genéticos obtidos nos vestígios coletados na vítima ou na cena do crime, torna-se possível o estabelecimento da culpa ou inocência dos suspeitos e a identificação de restos mortais ou de pessoas desaparecidas (DOLINSKY; PEREIRA, 2007; MICHELIN et al., 2008).

A Inglaterra foi a primeira a implantar um banco de dados de perfis genéticos de criminosos. Contudo, o mais conhecido é o CODIS (*Combined DNA Index System*) que foi criado pelo FBI (*Federal Bureau of Investigation*) em 1990. Este foi totalmente estabelecido em 1994 em nível nacional (*National DNA Index System - NDIS*) (KOCH; ANDRADE, 2008; SOUZA, 2009).

A estrutura do sistema CODIS conta com laboratórios estaduais e uma coordenação central que é composta por dois tipos de arquivos de perfis genéticos, o *Offender Profiles* (perfil de criminosos) como o próprio nome sugere são perfis genéticos de criminosos, condenados por crimes sexuais e/ou violentos e o *Forensic Profiles* (perfil

forense) que são obtidos de vestígios coletados em cenas de crimes (KOCH; ANDRADE, 2008; SOUZA, 2009).

Mais de 50 países possuem banco de dados de DNA forense com comprovada eficiência na resolução de crimes, resultando em alto índice de resolução de casos. Por isso, há uma grande necessidade de que o Brasil desenvolva um banco de dados semelhante ao CODIS/NDIS para que se possa contar com essa estratégia na elucidação de crimes (MICHELIN et al., 2008; SOUZA, 2009).

A ausência de um banco de dados de DNA forense no Brasil dificulta a investigação criminal, já que na maioria das vezes não existe um suspeito conhecido ou o ele se nega a fornecer material biológico. Então, na maioria das vezes não é possível fazer uma correlação entre o vestígio de DNA presente na cena de crime e possíveis suspeitos, que nesse caso ficaram impune ou livre (MICHELIN et al., 2008).

Nesse sentido, o estado de Minas Gerais é pioneiro, uma vez que, mantém um banco de dados de perfis genéticos obtidos em casos de crimes sexuais. Mas, devido a legislação que não obriga o suspeito a doar amostra biológica para análise, a polícia mineira tem dificuldades em relacionar o agressor ao crime. Por exemplo, em um dos casos em que foi possível fazer tal relação, foram mais de trinta vítimas associadas a um único agressor, porém o agressor não foi identificado (MICHELIN et al., 2008).

O Brasil deveria estabelecer como prioridade mudanças em alguns aspectos da legislação e investimentos na implantação do banco de dados de DNA, assim como, uma legislação sobre o uso e as penalidades severas quanto ao uso irregular dos dados gerados por essa tecnologia. Juntamente com a criação de um protocolo de coleta, análise, armazenamento e conservação das amostras biológicas, que deve ser seguido, obrigatoriamente, pelos laboratórios e institutos de criminalística do país e treinamento de pessoal habilitado na análise de DNA. Por meio dessas medidas e superando as dificuldades financeiras e técnicas, poder-se-ia aumentar a eficiência na elucidação de crimes, aumentando a taxa de investigações concluída com êxito.

Implantado nos EUA pelo FBI, o CODIS forma um banco de dados de perfis genéticos de DNA extraídos nas cenas do crime e DNA de criminosos condenados por delitos que envolvam violência física e agressão sexual. O CODIS/NDIS (*Nacional DNA Index System*) está disponível para que qualquer estado americano fazer comparações do perfil genético do suspeito de um crime, com os perfis contidos no banco de dados, sendo possível por meio dessa comparação a elucidação do crime e averiguação de outra infração. Também contém perfis genéticos de restos mortais não identificados, de pessoas desaparecidas e seus parentes para possíveis comparações (FBI, 2010).

O CODIS tem como seleção padrão 13 *loci* de STR com sua posição no genoma humano para análise do perfil genético. Os códigos de identificação são D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, TH01 e D16S539, sua localização no cromossomo e a unidade de repetição encontra-se na Tabela 1 (FBI, 2010).

Tabela 1 – Descrição dos 13 principais *loci* utilizados nos procedimentos de identificação por DNA a partir da obtenção de vestígios biológicos.

Nome do <i>loci</i>	Localização no cromossomo	Unidade de repetição
CSF1PO	5q33.1	TAGA
FGA	4q31.3	CTTT
TH01	11p15.5	TCAT
TPOX	2p25.3	GAAT
VWA	12p13.31	TCTG TCTA
D3S1358	3q21.31	TCTG TCTA
D5S818	5q23.2	AGAT
D7S820	7q21.11	GATA
D8S1179	8q24.13	TCTA TCTG
D13S317	13q31.1	TATC
D16S539	16q24.1	GATA
D18S51	18q21.33	AGAA
D21S11	21q21.1	TCTA TCTG

Adaptado de Butler (2007).

No Brasil o Ministério da Justiça através da Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP), criou em 2006 o protocolo de “padronização de exame de DNA em perícias criminais”, onde utiliza o padrão CODIS de 13 *loci* de STR, para a realização dos exames de DNA forenses no Brasil; além desses 13 *loci* de STR, o protocolo contém diversas metodologias para a análise de DNA forense. Porém, o conteúdo desse protocolo não é de uso obrigatório para os laboratórios forenses no Brasil, ficando na responsabilidade de cada laboratório estabelecer seu próprio protocolo.

2.2. Técnicas para Análise de DNA Forense

Extração de DNA

Os diversos métodos de obtenção de DNA são a extração orgânica, que é o método mais tradicional, e orgânica com utilização de filtro concentrador que serve para otimizar a análise, extração pela resina Chelex, já a extração pelo método inorgânico (*salting out*) pode ser por FTA que é um papel quimicamente tratado destinado à coleta, transporte, armazenamento e extração de ácidos nucleicos. A extração tem por objetivo solubilizar os ácidos nucleicos, processo realizado com a desintegração dos tecidos, onde, por fim, é separado o extrato do material insolúvel por meio de uma série de centrifugações (SALAZAR et al., 1998; MOCELLIN, 2002; GENERAL ELECTRIC COMPANY, 2003).

Cada técnica possui indicações, vantagens e desvantagens. Por exemplo, se é necessário a 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 (PINHEIRO, 2004; BAREA et al., 2004). A técnica mais eficaz dependerá do tipo da amostra biológica coletada, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Metodologia de extração de DNA recomendada pelo FBI para alguns vestígios de natureza biológica.

Método	Vestígios
Orgânica com fenol-clorofórmio	Sangue líquido, manchas de fluidos corpóreos, esperma e células vaginais
Orgânica com utilização de filtro concentrador	Manchas de sangue, saliva, sêmen e <i>swabs</i> vaginais
Orgânica tradicional	Saliva em objetos, tecidos mole, cabelos, ossos e dentes
Método inorgânico	Sangue total
Chelex	Sangue total, manchas de sangue e sêmen, saliva em <i>swabs</i> , envelopes, saliva em objetos e cabelos para análise de DNAm

Adaptado de Budowle et al. (2000).

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A PCR descrita por Kary Mullis (1985) é uma técnica *in vitro* para amplificação seletiva de um fragmento de DNA de interesse, previamente estudado para a construção dos *primers* (oligonucleotídeos) que servem como iniciadores para a síntese, que é realizada por uma DNA polimerase, e delimitam o local do DNA a ser amplificado (EISELE; CAMPOS, 2003; PINHEIRO, 2004; ALBERTS et al., 2004).

A PCR envolve três etapas a desnaturação que ocorre quando a molécula de DNA é aquecida (aproximadamente 90°C), provocando a separação das cadeias complementares devido ao rompimento das ligações de hidrogênio da dupla hélice, já o

anelamento, cujos iniciadores se ligam especificamente às sequências de DNA complementar, mediante temperaturas que variam de 45°C a 60°C e a extensão que ocorre em torno de 72°C a partir da extremidade 3', esse processo resulta de uma mistura do DNA molde com a *Taq* DNA polimerase e os quatro deoxirribonucleotídeos trifosfato (ALBERTS et al., 2004; PINHEIRO, 2004).

Esta é uma técnica de grande importância para a análise forense, pelo fato da sua sensibilidade tornar capaz a 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 (ISFH, 1992; PINHEIRO, 2004; SILVA; PASSOS, 2006).

Vestígios Biológicos

Qualquer tipo de tecido ou fluido biológico encontrado no local de crime pode ser fonte de DNA. Entretanto, no local de crime muitas vezes esse material é escasso, requerendo regras próprias, rigorosas e com critérios necessários para coleta e preservação, evitando-se perdas desnecessárias de material e tempo (BEZERRA, 2004; SILVA; PASSOS, 2006; NASCIMENTO, 2008; NASCIMENTO, 2009; PINHEIRO; SOUZA, 2009).

Para que haja controle da integridade física do vestígio biológico é necessária a documentação com a identificação das pessoas que ficaram responsáveis pela guarda da amostra e as condições em que as mesmas se encontravam a cada nova transmissão, da coleta até a análise. Esse procedimento chama-se de cadeia de custódia (JOBIM, 2003; SILVA; PASSOS, 2006; SENASP, 2006; SILVEIRA, 2009).

Um dos procedimentos complicados é o isolamento do local do crime, devido a possibilidade de violação da cena do crime, pelas autoridades policiais, parentes da vítima, curiosos e, até mesmo, do autor do delito. Por intermédio da Lei nº 8.862, decretada pelo Congresso Nacional e sancionada pelo Presidente da República em 28 de março 1994, fez com que ocorresse mudança nesse cenário, pois a lei obriga a autoridade policial à iniciativa de resguardar os vestígios conforme foram produzidos durante a ocorrência do crime, o que significa que cabe a autoridade policial que chegar primeiro no local a responsabilidade de isolar e preservar o local do crime, até a chegada dos profissionais responsáveis pela perícia, sendo passível de punição caso a autoridade policial desrespeite a lei (REIS, 2005; SANTOS, 2009; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010).

Sangue

Tecido conjuntivo líquido que tem como funções: transportar oxigênio, nutrientes e hormônios, regular o pH e a temperatura corporal, proteger da perda excessiva de água devido a lesão e sede da defesa humoral contra ação de patógenos (GUYTON, 2008). É formado por elementos figurados ou suspensão de células que são os glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas e por um líquido que tem em sua composição água, proteínas, vitaminas, sais minerais, glicídios e lipídios (VERRASTRO; LORENZI, 2006).

O sangue é um vestígio comum em cena de crime, especialmente quando envolve agressão corporal (homicídios e/ou lesão corporal). Pode ser encontrado na forma líquida, coagulada, úmida ou seca (BEZERRA, 2004; SILVA; PASSOS, 2006; NASCIMENTO, 2008).

A coleta dependerá de sua forma e localização. Se estiver na forma líquida podem apresentar-se como manchas (empoçamento, gotejamento, projeção) ou misturado a outros líquidos (água, urina, produtos de limpeza). Existem várias maneiras de realizar a coleta, os mais utilizados são por meio do *swab*, seringas e pipetas, o que será levado em consideração para o melhor método é a localização e forma da amostra.

Na forma líquida proceder na coleta fazendo uso de uma seringa ou pipeta, transferindo o sangue para um tubo de coleta sanguínea com propriedades anticoagulantes e preservativas. Existe também alternativas como o uso de *swab*, algodão, FTA; nesses casos deve-se secar o material antes do armazenamento, para assim evitar a proliferação de microrganismos. O material seco pode ser acondicionado em envelope de papel, frasco de vidro ou saco plástico e refrigerado (SCHIRO, 1995; FBI, 2007; FDLE, 2009).

Na forma seca coletado com *swab* umedecido com água destilada ou raspagem com lâmina, canivete ou espátula. No caso da coleta com *swab* ressalta-se a importância da secagem antes do armazenamento. O material resultante da raspagem deve ser acondicionado em um envelope (JOBIM, 2003; SILVEIRA, 2009; INTERPOL, 2009).

Na forma úmida geralmente encontrada em peças de roupa, deve ser recolhida a peça embalada em saco plástico e transportada ao laboratório, onde deve proceder na secagem e, posteriormente, acondicionamento em envelope de papel pardo, cada peça em um envelope separado para evitar contaminação. Caso a peça seja grande, corta a parte onde encontra o sangue, deixa-se secar à temperatura ambiente e procede-se o acondicionamento em envelope de papel pardo. É importante ressaltar que os envelopes e

recipientes de acondicionamento devem ser obrigatoriamente identificados (BEZERRA, 2004; NASCIMENTO, 2008).

Amostras em meios líquidos proceder com uso de *swab*, algodão, gaze, seringa, pipeta, o mais rápido possível para evitar a diluição do vestígio (JOBIM, 2003; FBI, 2007; FDLE, 2009; INTERPOL, 2009).

Em objetos transportáveis devem ser recolhidos e enviados ao laboratório, onde após secos, serão acondicionados em envelope de papel vegetal e posteriormente em envelope de papel pardo ou caixa, devendo-se sempre selar os cantos dos envelopes. Deve-se ter cuidado para não remover a mancha por atrito durante o transporte e manuseio (JOBIM, 2003; SILVEIRA, 2009; INTERPOL, 2009).

Em objetos não transportáveis a coleta ocorre com auxílio de *swab*, gaze, algodão umedecido em água destilada. Além da amostra com o vestígio deve coletar-se uma amostra na periferia do local onde o vestígio foi coletado, servido com amostra para possível acareação. Deve-se secar antes do acondicionamento (SILVA; PASSOS, 2006; FDLE, 2009).

Sêmen

Este vestígio é definido como uma suspensão de espermatozóides contida no líquido seminal. O líquido seminal depois de 5 min que foi ejaculado coagula, devido às proteínas das vesículas seminais. Após 10 a 20 min o sêmen dissolve-se pelo fato das enzimas e dos antígenos produzidos pela próstata causarem a decomposição do coágulo (GUYTON, 2008; TORTORA; GRABOWSKI, 2008).

Um vestígio de grande importância devido aos casos de agressão sexual e por ser uma ótima fonte de DNA. O DNA que será analisado é extraído dos espermatozóides. Primeiramente, é de fundamental importância a pesquisa microscópica na amostra para verificar a existência de espermatozóide e do teste ou reação de brentamina que determina a atividade da fosfatase ácida, na qual o resultado positivo indica a presença de células seminais (PINHEIRO, 2004).

Frequentemente é encontrado na forma seca aderido em roupas de cama e peças íntimas e na forma líquida em preservativos e na vítima (BEZERRA, 2004; NASCIMENTO, 2008).

Na forma seca geralmente encontrada em peças íntimas, roupa de cama. Coleta-se a peça toda sendo armazenada em saco de papel ou plástico e acondicionada em local refrigerado até o envio para o laboratório. Deve-se ter cuidado para não armazenar a peça

úmida, uma vez que, pode resultar na perda da amostra devida a proliferação de microrganismos. Caso o objeto que contenha a mancha não possa ser transportado, utiliza-se *swab* ou gaze umedecida em água destilada para proceder à coleta (BEZERRA, 2004; FBI, 2007; MENEGATI, 2008; FDLE, 2009).

Na forma líquida normalmente encontrado no preservativo que deve ser amarrado para evitar perda da amostra, colocado em recipiente que evite o vazamento e congelá-lo. Há grande possibilidade de encontrar material biológico da vítima nesse tipo de vestígio. Se a amostra não estiver no preservativo utiliza-se uma pipeta ou seringa para coletar o líquido e transferir para um recipiente ou coleta-se com *swab* (JOBIM, 2003; NASCIMENTO, 2008; SILVEIRA, 2009; INTERPOL, 2009).

Saliva

Fluido aquoso, que lubrifica os movimentos da língua e lábios durante o ato de falar e umedece as túnicas mucosas e o esôfago, sendo secretado pelas glândulas parótidas, submandibular e sublingual em menos quantidade por pequenas glândulas na boca (GUYTON, 2008). Esse vestígio pode passar por exames de reações químicas (pesquisa de sulfocianeto de potássio e cloreto férrico), físico e microscópio. O exame microscópico é o teste de maior interesse, pois procura células da mucosa bucal para análise de DNA (DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010).

Pode ser encontrada no local do crime em diversos objetos, tais como envelopes, selos, pontas de cigarro, copos, garrafas, talheres e no corpo humano associado a lesão por mordida (PINHEIRO, 2004; MENEGATI, 2008).

Na forma seca (mancha) coletar-se o vestígio com *swab* ou gaze umedecida em água destilada e deixar secar a temperatura ambiente, armazenar em envelope ou caixa de papel e transportar à temperatura ambiente, durante a coleta é importante deixar uma parte do material usado, sem vestígio para servir de controle negativo (PINHEIRO, 2004; FBI, 2007; FDLE, 2009).

Caso o vestígio se encontre em um objeto que seja possível o transporte, tais como, envelopes, pontas de cigarro, copos, goma de mascar, garrafas, talheres e guardanapos, coloca-se o objeto em um envelope de papel vegetal, utilizando-se pinça ou luvas para seu manuseio. Requer o máximo de cuidado para que a mancha do vestígio não seja degradada por atrito com o envelope durante o transporte (JOBIM, 2003; NASCIMENTO, 2008; MENEGATI, 2008; INTERPOL, 2009).

Urina

Água e os solutos restantes da filtração do sangue pelos rins compõem a urina, que tem um importante papel na regulação do balanço de líquidos, eletrólitos e no equilíbrio entre ácidos e bases (GUYTON, 2008). A maior importância da análise desse vestígio está relacionada aos crimes de agressão sexual e infanticídio. O exame de identificação ocorre por meio da extração de DNA das células das vias urinárias, leucócitos, sêmen e mecônio, que podem estar associados à urina (SILVA; PASSOS, 2006; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010). Porém, na urina encontram-se bactérias e outros agentes contaminantes que tornam a obtenção de resultados difícil (PINHEIRO, 2004).

A coleta dependerá da forma como o vestígio for encontrado, ou seja, se na forma líquida utiliza-se uma pipeta ou seringa para transferir o líquido para um tubo estéril. Na forma de mancha deve ser levado o objeto como um todo ao laboratório, caso não seja possível, é feito um corte onde a mancha se encontra, guardando-a em um envelope para se evitar a contaminação e/ou a degradação do DNA (JOBIM, 2003; PINHEIRO, 2004; SILVA; PASSOS, 2006).

Placenta

É um órgão formado pelo córion do embrião e por parte do endométrio materno, fornecendo as necessidades nutricionais e respiratórias básicas ao feto (GRACIA; FERNÁNDEZ, 2001). Esse vestígio geralmente está relacionado com o crime de aborto. Por meio da placenta é possível a identificação materna. Porém, normalmente são encontrados em lixões, aterros sanitários e estações de tratamento de esgoto o que prejudica a análise da amostra e, conseqüentemente, a localização da genitora. Mesmo que seja obtido sucesso na análise do DNA, ainda tem a complicação por não existir amostra referência para realizar a comparação (SOUSA, 2009).

Escolher uma parte do material que apresente melhor estado de conservação. Com uso de lâmina de bisturi cortar pelo menos dois fragmentos do tecido, com bastante cuidado para não ocorrer contaminação com DNA exógeno. Armazenar em tubo plástico estéril e acondicionar em local com temperatura mínimo a 4°C (JOBIM, 2003; NASCIMENTO, 2008).

Também pode-se utilizar um *swab* para coletar sangue após corte dos vasos no tecido, sendo necessária a secagem em temperatura ambiente, procedimento que facilita onde não se dispõe de local de baixa temperatura para acondicionamento do vestígio (NASCIMENTO, 2008).

Ossos e Dentes

É um tecido vivo, complexo e dinâmico formado por células e material extracelular endurecido pela presença de cálcio, cada osso é considerado um órgão (TORTORA; GRABOWSKI, 2008; GUYTON, 2008). Os ossos longos são fontes importantes de DNA a partir da medula óssea localizada no canal medular. Se a amostra estiver em bom estado de conservação, é possível extrair muito DNA de pequenos pedaços de ossos. Dentes, em especial, os molares também são fontes importantes de DNA, extraído a partir da polpa dentária. Vestígio de grande importância nos casos onde o material encontra-se muito deteriorado, pois é possível encontrar DNA mitocondrial (DNAMt) de pequenas porções de osso (JOBIM, 2003; BEZERRA, 2004; SANTOS, 2009; VIEIR; TAVARES; BOUCHARDET, 2010).

Escolher tecido ósseo compacto que não esteja com sua superfície coberta de bactérias e fungos. Dois dentes de preferência molares e pré-molares, não tratados e não cariados. Podem ser embalados em qualquer papel, desde que não soltem tinturas e acondicionados em temperatura ambiente; caso não haja tecido mole aderido, se houver, deve ser acondicionado em congelador a -20° C. Evitar o acondicionamento em locais quentes, úmidos e de acesso de roedores e insetos, prevenindo a degradação da amostra (BEZERRA, 2004; NASCIMENTO, 2008; SANTOS, 2009; SILVEIRA, 2009).

Pêlos e Cabelos

Constituídos principalmente por queratina, pequenas quantidades de metais e melanina, o bulbo (raiz) do cabelo ou do pêlo é irrigado por sangue, sendo a região de maior probabilidade de extração de DNA nuclear. A partir do cabelo sem o bulbo pode-se extrair o DNAMt. Porém, existe grande possibilidade dos resultados não serem conclusivos, pois fatores como tratamentos químicos podem impedir uma extração de DNAMt com qualidade (PINHEIRO, 2004; BEZERRA, 2004; SILVEIRA, 2009).

Com uma pinça, transfere-se o vestígio para uma folha de papel, dobrando para evitar a perda, em seguida coloca-se em um envelope devidamente identificado e na ausência de umidade, colocando cada fio em envelopes separados. Nos casos onde o vestígio esteja aderido a tecidos orgânicos coleta-se a amostra por inteiro. Para extração de DNA nuclear deve-se usar apenas o bulbo devido a existência da melanina na composição dos pêlos ou cabelos o que inibe a amplificação por PCR (JOBIM, 2003; PINHEIRO, 2004; SILVA; PASSOS, 2006; NASCIMENTO, 2008; SILVEIRA, 2009).

Material Fecal

As fezes são formadas por resíduos da digestão, bactérias, células do revestimento do trato gastrintestinal e materiais que não foram absorvidos pelo organismo. Sua composição compromete os resultados, uma vez que, na maioria das vezes, não possui material genético e contém elementos que impendem o êxito do estudo. Por isso, a coleta só ocorrerá caso seja verificada alguma possibilidade de obter resultado significativo, o que ocorre no caso onde o material fecal apresenta secreção sanguinolenta (PINHEIRO, 2004; SILVA; PASSOS, 2006).

Proceder-se na coleta da parte do vestígio onde há secreção sanguinolenta com uma espátula de plástico e acondicionar em coletor universal (PINHEIRO, 2004; NASCIMENTO, 2008).

Unhas

O estudo deste vestígio trata-se não exatamente dele, mas sim do que as unhas são capazes de armazenar embaixo delas. Em situações onde haja desconfiança de luta corporal entre a vítima e o autor ou outro tipo de contato físico, onde exista a possibilidade de conter amostra biológica armazenada sob a unha, deve-se realizar um exame minuciosamente procurando qualquer vestígio passível de análise (SILVA; PASSOS, 2006).

Procede-se na coleta de material colocando-se o dedo da vítima sobre uma folha de papel limpo, passa-se o palito embaixo da unha para retirar o vestígio, faz um envelope do papel onde foi coletado o vestígio e coloca-se junto a ponta do palito utilizado para a coleta e acondiciona em um envelope devidamente identificado. A amostra de cada dedo deve ser coletada e embalada separadamente (JOBIM, 2003; SILVA; PASSOS, 2006).

Se algum fator impossibilitar a coleta no local, a amostra será coletada no IML, para que isso ocorra sem perda ou contaminação, é feito o isolamento das mãos ou pés com sacos de papel, preservando-se assim o membro onde será realizada a coleta (SILVA; PASSOS, 2006).

Preservação

Todos os vestígios biológicos encontrados no local do crime devem ser fotografados antes de serem manuseados (JOBIM, 2003). É indispensável durante a coleta a proteção individual e a proteção do vestígio.

Proteção individual por tratar-se de vestígio biológico sempre deve existir a preocupação com a própria contaminação durante a coleta, por isso é fundamental o uso de luvas descartáveis, máscara, sapato fechado, não beber ou comer no local da coleta, o material descartável utilizado deve ser colocado em sacos para resíduos biológicos e posterior descarte em local adequado e estar previamente vacinado (BEZERRA, 2004; SILVEIRA, 2009).

Já para a proteção do vestígio deve-se isolar e proteger a cena do crime o mais rápido possível, fotografar todos os vestígios antes da coleta, fazer coleta de material próximo ao vestígio para servir de controle, documentar cada local de coleta, identificar corretamente os envelopes e recipientes, trocar as luvas a cada coleta distinta e preferencialmente usar material descartável, os vestígios úmidos e líquidos devem ser transferidos o mais rápido possível para o laboratório, evitar ao máximo transitar no local, sempre que possível embalar as amostras em papel vegetal e posteriormente em envelope de papel pardo embalando separadamente cada vestígio, ter cuidado no manuseio e transporte para mantê-lo conforme encontrado e armazenar em local de acesso restrito, e os cuidados necessário para a conservação da integridade de cada tipo de amostra (SILVA; PASSOS, 2006; NASCIMENTO, 2008).

Contaminação

Segundo Pinheiro (2004); Silva e Passos (2004) e Silveira (2009) a contaminação do vestígio pode ocorrer durante os procedimentos de coleta e preservação por:

- Produtos químicos (formol, substâncias cáusticas, água oxigenada, algumas tinturas) que interferem na replicação da molécula de DNA, tornando os resultados inconclusivos ou inválidos.
- Contaminações provocadas por microrganismos (bactérias e fungos) geralmente ocorrem na cena do crime antes mesmo da coleta ou depois, pois as amostras são excelentes ambientes para o desenvolvimento de microrganismos. Este tipo de contaminação pode degradar o DNA ou interferir no momento da amplificação, o que impede a obtenção do resultado.
- Contaminação por DNA estranho é muito comum durante e depois da coleta devido a imperícia no manuseio, acondicionamento, armazenamento e análise de vários vestígios juntos. O resultado do perfil obtido será questionado e, conseqüentemente, invalidado.

Por isso, é importante avaliar quais protocolos devem ser empregados em cada tipo de amostra e seguir rigorosamente os padrões e normas de conduta laboratorial evitando-se, assim, essas situações (SILVEIRA, 2009).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A população mundial sofre constantemente com o aumento da violência, isso não é diferente no Brasil que enfrenta diversas dificuldades na resolução de crimes violentos (homicídio, estupro e outros).

Pode-se contar com a técnica para análise de DNA que proporciona ao Biomédico a possibilidade de identificação humana baseada na tecnologia de PCR, utilizando-se quantidades mínimas de amostras, tais como, uma gota de sangue ou um fio de cabelo.

Porém, ainda existem sérios problemas relacionados à comparação do perfil genético obtido em vestígios biológicos coletados na cena do crime ou na vítima, uma vez que, o suspeito tem o direito de não produzir prova contra si mesmo, o que significa que não é obrigado a doar amostra para comparação, prevalecendo o interesse individual e, não, o coletivo.

Além dessa dificuldade, os profissionais da área forense passam por sérios problemas durante a coleta, acondicionamento, preservação e análise, seja por falta de recursos materiais e físicos, ou de pessoal especializado para a realização dos procedimentos adequados, não sendo possível gerar uma prova de importância para a elucidação do ato delituoso, tornando a prova inidônea, não sendo possível sua utilização para condenação ou exclusão de um suspeito.

A adoção de algumas metodologias diferentes, quebrando antigos paradigmas e estabelecendo novos procedimentos, seguindo modelos implantados em outros países e com índices de sucesso comprovados permitirão atingir um nível elevado na resolução de crimes.

REFERÊNCIAS

- BAREA, J.A. et al. Extração de DNA de materiais de arquivo e fontes escassas para utilização em reação de polimerização em cadeia (PCR). **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.26, n. 4, p. 274-281, 2004.
- BEZERRA, C.C. Exame de DNA: coleta de amostras biológicas em local de crime. **Perícia Federal: DNA forense - técnicas de coleta em locais de crimes**, n. 18, p. 6-14, 2004.
- BUDOWLE, B.; CHAKRABORTY, R.; CARMODY, G.; MONSON, K.L. Source attribution of a forensic DNA profile. **Forensic Science Communications**, v. 2, n. 3, 2000.
- BUTLER, J.M. Short tandem repeat typing Technologies used in human identity testing. **Bio Techniques**, v. 43, n. 4, p. sii-sv, 2007.
- BYRD, M. **DNA, the next generation technology is here!**. 1999. Disponível em: <<http://www.crime-scene-investigator.net/dna.html>>. Acesso em: 01 nov. 2009.

- DOLINSKY, L.C.; PEREIRA, L.M.C.V. DNA forense artigo de revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 2, n. 2, p.11-22, 2007.
- DOREA, L.E.C.; STUMVOLL, V. P.; QUINTELA, V. **Criminalística**. 4. ed. Campinas: Millennium, 2010. 315 p.
- EISELE, R.L.; CAMPOS, M.L.B. **Manual de Medicina Forense e Odontologia Legal**. 1. ed. Curitiba: Juruá, 2003. 322 p.
- FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION. **CODIS Combined DNA Index System**, Virgínia. Disponível em: <http://www.fbi.gov/hq/lab/html/codisbrochure_text.htm>. Acesso em: 31 ago. 2010.
- FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION. **Handbook of forensic services**. Virgínia, 2007. 202 p.
- FERREIRA, Aurélio Buarque de Holanda. **Novo Aurélio Século XXI: o dicionário da língua portuguesa**. 3. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1999. p. 2066.
- FDLE - FLORIDA DEPARTMENT OF LAW ENFORCEMENT. **Crime laboratory evidence submission manual**, Florida, 2009. 68 p.
- GENERAL ELECTRIC COMPANY. **FTA cards**. Disponível em: <<http://www.whatman.com/References/FTA%20CardsDataSheet%20FINAL%203.25.10%20LR.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2010.
- GUYTON, A.C. **Fisiologia humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 564 p.
- ISFH - INTERNATIONAL SOCIETY FOR FORENSIC HAEMOGENETICS. Recommendations of the DNA commission of the internacional society for forensic haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphism. **Forensic Science International**, v. 55, n. 1, p. 1-3, 1992.
- INTERPOL. **Handbook on DNA data exchange and practice** - recommendations from the Interpol DNA monitoring expert group. França, 2009. 118 p.
- JOBIM, L.F. Identificação humana pelo DNA. In: FIGINI, A.R.L. et al. **Identificação humana**. Campinas-SP, 2003. p. 241-322.
- KOCH, A.; ANDRADE, F.M. A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 1, p. 17-23, 2008.
- MENEGATI, M.A. **O DNA e a investigação criminal**. 2008.18 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Atividade Policial Judiciária). Curso Especial de Polícia. Faculdade Fortium, Brasília, 2008.
- MICHELIN, K. et al. Banco de dados de perfis genéticos no combate aos crimes sexuais. **Perícia Federal: banco de dados de perfis genéticos**, n. 26, p. 13-16, 2008.
- MOCELLIN, E.P. **Procedimento de biossegurança em laboratório de DNA forense**. 2002. 250 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Legal e Deontologia). Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2002.
- NASCIMENTO, E.C.S. **Manual de orientação sobre coleta, acondicionamento, preservação e manuseio de amostras**, Bahia, p. 2-7, 2008. Disponível em: <<http://www.dpt.ba.gov.br>>. Acesso em: 17 ago. 2008.
- NASCIMENTO, E.; PINHEIRO, M.C.; SOUZA, G.N.P. Genotipagem de DNA em condições adversas de amostras low copy number - LCN: amostras de tecidos formolizados e emblocados em parafina. **Prova Material**, v. 1, n. 12, p. 6-9, 2009.
- PINHEIRO, M. Genética e biologia forense e criminalística. In: Rangel, R.; Magalhães, T. **Noções gerais sobre outras ciências forenses**. Porto, 2004. Disponível em: <<http://medicina.med.up.pt/legal/NocoosGeraisCF.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2009.
- PORTO, G. **Manual de Criminalística**. 2. ed. São Paulo: Sugestões Literárias, 1969.
- REIS, A.B. **Metodologia científica e perícia criminal**. Campinas: Millennium Editora, 2005. 232 p.
- RIBEIRO, T. **Manual de recolha e envio de vestígios biológicos para identificação genética**. Delegação do INML de Lisboa, Lisboa, 2003.

- SALAZAR, L.A. et al. Optimized procedure for DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted human blood useful in clinical molecular testing. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 8, p. 1748-1750, 1998.
- SANTOS, R.C.B. **Investigação de homicídios: procedimentos básicos**. 2009. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Atividade Policial Judiciária). Curso de Pós Graduação Lato Sensu. Faculdade Fortium, Brasília, 2009.
- SANTOS, L.S.M. **Viabilidade da utilização de amostras biológicas obtidas de dentes humanos para obtenção de perfis genéticos de DNA**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Legal e Deontologia). Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2009.
- SCHIRO, G. **Collection and preservation of blood evidence from crime scenes**. 1995. Disponível em: <<http://www.crime-scene-investigator.net/blood.html>>. Acesso em: 01 nov. 2009.
- SILVA, L.A.F.; PASSOS, N.S. **DNA forense: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudo do DNA**. 2. ed. Maceió: UFAL, 2006. 84 p.
- SILVEIRA, B.F. **Fontes de contaminação de vestígios que serão objetos de exame de DNA**. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Atividade Policial Judiciária). Curso de Pós Graduação em Polícia *Lato sensu*. Faculdade Fortium, Brasília, 2009
- SOUSA, D.G. **A investigação criminal do crime de aborto**. 2009. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Atividade Policial Judiciária). Curso de Pós Graduação *Lato Sensu*. Faculdade Fortium, Brasília, 2009.
- TORTORA, G.J.; GRABOWSKI, S.R. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1047p.
- VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F. O sangue e sua formação. In: Verrastro, Therezinha et al. **Hematologia e Hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica**. São Paulo: Atheneu, 2006. cap. 1, p. 3-8.
- VIEIRA, D.P. **Técnicas de PCR: aplicações e padronização de reações**. 18 p. Disponível em: <http://www.credesh.ufu.br/sites/credesh.ufu.br/files/documentos/Principios_da_PCR_IPEN.pdf>. Acesso em: 26 set. 2010.
- VIEIRA, G. S.; TAVARES, C. A. P.; BOUCHARDET, F. C. H. Análise de DNA em odontologia forense. **Arquivo Brasileiro de Odontologia**, v. 6, n. 2, p. 64-70, 2010.

Janaína Mendes Sousa

Graduada em Biomedicina pela Faculdade Anhanguera de Brasília.

Paulo Roberto Martins Queiroz

Professor do curso de Biomedicina da Faculdade Anhanguera de Brasília.