

Processamento e análise de *backlog* de vestígios de crimes sexuais pelo Laboratório Forense da Polícia Científica do Amapá

M.P.M. de Souza^{a,b,*}, M.A. Cáceres-Durán^{a,c}, T.M. Amaral^{a,c}, A.F.S. Brito^{a,d}, T.A.C. Oliveira^a, P.A.C. Francez^{a,e}

^a Instituto Nacional de Perícias e Ciências Forense (INFOR), Belém (PA), Brasil.

^b Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Evandro Chagas (IEC), Ananindeua, PA, Brasil

^c Laboratório de Genética Humana e Médica (LGHM), UFPA, Belém (PA), Brasil.

^d Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus (AM), Brasil.

^e Laboratório Forense da Polícia Técnico-Científica (POLITEC-AP), Macapá (AP), Brasil.

*Endereço de e-mail para correspondência: mmirand7@kent.edu. Tel.: +55-91-98019-3226.

Recebido em 24/03/2020; Revisado em 06/09/2023; Aceito em 12/09/2023

Resumo

No Brasil, os crimes sexuais são muito frequentes. A devida coleta, acondicionamento, transporte e processamento de amostras biológicas é importante para o prosseguimento da investigação e solução de casos. A formulação de leis específicas e a implementação dos bancos de perfis genéticos, fizeram com que perfis oriundos de amostras biológicas fossem submetidos aos bancos genéticos para realizar confrontos genéticos. Neste contexto, o objetivo deste artigo consistiu em analisar amostras de DNA provenientes de crimes sexuais, atendidos pelo Laboratório Forense da Polícia Científica do Amapá (PCA-AP), armazenadas entre os anos de 2008 e 2021, avaliando a qualidade dessas amostras. Um total de 876 amostras foram processadas, o qual compreendem amostras coletadas da região vaginal, vulvar, anal, oral, dentre outras. Desse total, 229 amostras (26,14%) apresentaram DNA degradado, sendo o ano de 2008, o ano com maior percentual de amostras degradadas, em relação ao total de amostras armazenadas para cada ano, com 61,54%, e o ano de 2014 com o menor percentual, correspondendo a 10,91%. Das amostras processadas, 299 (34,13%) corresponderam a misturas de perfis genéticos, sendo o ano de 2021 o que apresentou o maior percentual de mistura de DNA, com 55,88%, e o ano de 2008, com a menor porcentagem de mistura de DNA (25,00%). Um total de 332 amostras (37,90%) tiveram seus perfis genéticos depositados no Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG), sendo o ano de 2016 com maior porcentagem de perfis depositados (64,63%). Perfis genéticos depositados no BNPG podem ajudar na resolução e investigação de crimes sexuais e de outras vertentes, contribuindo assim para a redução de crimes.

Palavras-Chave: BNPG; RIBPG; Perfis Genéticos; Crimes Sexuais; Degradação do DNA.

Abstract

In Brazil, sexual crimes are very frequent. The proper collection, packaging, transport and processing of biological samples is important for the continuation of the investigation and resolution of cases. The formulation of specific laws and the implementation of genetic profile banks meant that profiles from biological samples were submitted to genetic banks to carry out genetic confrontations. In this context, the aim of this article was to analyze DNA samples from sexual crimes, attended by the Forensic Laboratory of Polícia Científica do Amapá (PCA-AP), stored between 2008 and 2021, evaluating the quality of these samples. A total of 876 samples were processed, which included samples collected from the vaginal, vulvar, anal, oral region, among others. From total, 229 samples (26.14%) presented degraded DNA, with the year 2008 having the highest percentage of degradation, in relation to the total samples stored for each year, with 61.54%, and the year 2014 with the lowest percentage, corresponding to 10.91%. About the processed samples, 299 (34.13%) corresponded to mixtures of genetic profiles, with the year 2021 having the highest percentage of DNA mixing, with 55.88%, and the year 2008, with the lowest percentage of DNA mix (25.00%). A total of 332 samples (37.90%) had their genetic profiles deposited in the National DNA Database (BNPG), with 2016 being the year with the highest percentage of deposited profiles (64.63%). Genetic profiles deposited in the BNPG can help in the resolution and investigation of sexual and other crimes, thus contributing to the reduction of crimes.

Keywords: BNPG; RIBPG; Genetic Profiles; Sexual Crimes; DNA Degradation.

1. INTRODUÇÃO

A violência sexual abrange uma variedade de atos e contatos sexuais nos quais a vítima é utilizada para a gratificação sexual do agressor, sem o seu consentimento. Isso pode ocorrer por meio do uso da força, intimidação, coerção, chantagem, suborno, manipulação, ameaça ou aproveitamento de situação de vulnerabilidade [1]. Nesse contexto, o Código de Processo Penal (CPP) brasileiro prevê a obrigatoriedade de exames periciais, dentre eles, o exame do corpo de delito (Art. 158, CPP). Tal exame tem a função de comprovar a prática do ato sexual e as lesões corporais provocadas pelo agressor, sendo estas indicativas do não consentimento da vítima, onde se busca observar a presença de escoriações, equimoses, sinais de esganadura, presença de sêmen, dentre outros [2]. No Brasil, o Instituto Médico Legal (IML), subordinado às Secretarias de Segurança Pública, é o órgão oficial autorizado a realizar o exame do corpo de delito, por meio dos exames de Sexologia Forense [3].

Nos crimes de natureza sexual, é muito frequente que sejam encontradas misturas de fluídos biológicos com frações masculino e feminino. Por isso, o método de extração de DNA de sêmen nas vestes, objetos, secreção vaginal ou conteúdo anal da vítima é um procedimento importante no diagnóstico forense [4]. Por meio do exame de DNA, é possível realizar o confronto genético entre as amostras questionadas coletadas do corpo da vítima ou da cena do crime e amostras de referência coletadas dos suspeitos. Quando não há suspeitos, os perfis genéticos gerados podem ser depositados no Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG) [2].

Avanços no campo da Genética Forense e das técnicas de Biologia Molecular foram decisivos para que os bancos de dados de perfis genéticos tenham auxiliado, de forma determinante, na identificação de autoria de crimes sexuais. Dentre os principais marcadores moleculares utilizados atualmente nos bancos de dados de perfis genéticos, estão os marcadores microssatélites, também conhecidos como *short tandem repeats* (STRs) [5]. Os polimorfismos observados nos STRs permitem a diferenciação de indivíduos ao avaliar o número de repetições em uma sequência que cada pessoa apresenta, tornando o perfil STR de cada pessoa único [6].

Atualmente a identificação humana por análise forense de perfil genético tem sido aceita em vários processos judiciais em todo o mundo. Porém para que se possa garantir a autenticidade, integridade e a precisão dos resultados, regras rígidas empregadas na coleta e processamento das amostras devem ser adotadas [7].

Sendo assim, é essencial manter o cuidado na identificação e armazenamento da amostra proveniente de crimes sexuais após a obtenção de todos os dados necessários durante o processo penal, para uma possível

solicitação posterior de análise de DNA em caso de pedido de novo julgamento.

Em crimes sexuais, quanto maior a quantidade de espermatozoide, maior será a quantidade de DNA obtida do agressor, que conseqüentemente, após inserir o perfil genético no banco de dados, possibilitará identificar o autor do crime, porém, em casos anteriores ao surgimento dos bancos de perfis genéticos, essas amostras eram armazenadas, o acúmulo e processamento em massa dessas amostras é conhecido como *backlog* [8].

Diante disso, este estudo teve como objetivo analisar amostras de *backlogs* provenientes de crimes sexuais, atendidos pelo Laboratório Forense da Polícia Científica do Amapá (PCA-AP), armazenadas entre os anos de 2008 e 2021, descrevendo a porcentagem de amostras degradadas, com mistura (DNA masculino/feminino), origem das amostras coletadas e por fim, informar as amostras que tiveram seus perfis genéticos depositados no BNPG.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Origem das Amostras

O presente trabalho realizou uma análise descritiva quali-quantitativa baseada em amostras provenientes de casos de crimes sexuais atendidos no Departamento do Laboratório Forense da PCA-AP, na cidade de Macapá, no extremo norte da região amazônica do Brasil (0°02'20" N; 51°03'59" W).

As amostras empregadas no estudo estão relacionadas aos casos de crimes sexuais atendidos pela PCA-AP entre os anos de 2008 a 2021, triadas positivamente para pesquisa de espermatozoide ou Antígeno Prostático Específico (PSA), e compreendem amostras coletadas da região vaginal, vulvar, anal, oral e outras (crimes sexuais sem identificação da amostra, preservativos, vestimentas e outros tecidos) cujo os crimes não tinham suspeitos e não existia banco de dados para confronto de perfis genéticos, sendo assim, as amostras permaneceram armazenadas em freezers (entre -20 e -10 °C) no Laboratório de Genética Forense da PCA-AP até o momento do processamento, que ocorreu a partir do ano de 2019.

2.2. Procedimentos Laboratoriais

As amostras analisadas tiveram seu DNA extraído empregando o método de lise diferencial e purificação utilizando kit e o equipamento Maxwell (Promega, Madison, WI, USA) para extração automatizada. O DNA extraído foi quantificado por meio de qPCR empregando o kit Quantiplex® (Qiagen, Germany) de acordo com o protocolo do fabricante [9], e o equipamento de PCR em tempo real QuantStudio (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Após a realização de cada quantificação, os dados brutos eram inseridos em uma planilha fornecida pela Qiagen que permitia a inferência destes parâmetros. Especificamente em relação à inibição, utilizou-se o valor de Ct 20 no controle interno como valor de corte. Acima deste valor a amostra era indicada como com possível presença de inibidor.

Os extratos de DNA da fração espermática de cada amostra foram amplificados utilizando 23 (vinte e três) marcadores genéticos autossômicos (D3S1358, D1S1656, D2S441, D10S1248, D13S317, Penta E, D16S539, D18S51, D2S1338, CSF1PO, Penta D, TH01, vWA, D21S11, D7S820, D5S818, TPOX, D8S1179, D12S391, D19S433, SE33, D22S1045 e FGA), 3 marcadores YSTRs (DYS391, DYS576, DYS570) e a amelogenina por meio do método de PCR, utilizando o kit PowerPlex® Fusion 6C (Promega, Madison WI, USA). Após a amplificação, as amostras foram submetidas a eletroforese capilar no analisador genético ABI 3500 (Applied Biosystems, USA), utilizando o ABI 3500 *Series Data Collection Software 3* (Applied Biosystems), seguindo o protocolo de Kobachuk e col. [1].

Os perfis genéticos obtidos que atenderam os critérios de admissibilidade previstos no Manual de Procedimentos Operacionais da RIBPG v.5 [10] foram inseridos no *software* CODIS da Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos.

2.3. Análise de Dados

Para análise deste estudo, foram selecionadas apenas as amostras que apresentaram resultado positivo para espermatozoide (pesquisa de espermatozoide a fresco ou com coloração panótica) ou com resultado positivo para o exame de PSA empregando os métodos imunocromatográfico ou ELISA. Algumas amostras que apresentavam duplicatas, optou-se por utilizar apenas uma das duas, em que apresentasse melhor qualidade na quantificação.

Durante os anos 2008 e 2021, o Laboratório Forense da PCA-AP, armazenou 1.041 amostras referentes a crimes sexuais e que se encontravam no arquivo de evidências biológicas, após a filtragem das duplicatas de mesma origem, o quantitativo final de 876 amostras foram analisadas.

Os dados referentes ao número de amostras armazenadas nesse período, porcentagem de mistura de DNA das amostras e a porcentagem de amostras degradadas, bem como o percentual de degradação do DNA e mistura, de acordo com a origem do material coletado, foram plotados em planilhas utilizando-se o *software Excel®* do pacote *Office da Microsoft*.

Para análise estatística, as variáveis foram testadas quanto a sua distribuição de Gauss através do teste Shapiro-Wilk, seguido do teste T quando apresentava

normalidade e Wilcoxon quando não apresentava normalidade, o nível de significância estabelecido foi de $p \leq 0,05$. Quando apresentado em significância os resultados foram submetidos aos testes de correlação de Spearman e regressão linear. Todas as análises foram realizadas no *software Rstudio*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as amostras selecionadas para participar deste estudo, o ano que apresentou maior representatividade foi 2009 com 11,19% (98/876), seguido pelos anos de 2018 e 2019 com 10,96% (96/876) cada (Tabela 1). Nos anos de 2017, 2018 e 2019 amostras classificadas na categoria “outros”, obtiveram o maior percentual, enquanto nos outros anos a categoria vaginal se manteve com o maior percentual (Gráfico 1). O processamento dessas amostras possibilitará a resolução de crimes, mostrando a importância da cooperação da RIBPG na elucidação de crimes sexuais, na redução da impunidade e exoneração de inocentes [2,12,14].

Ano	Vaginal	Anal	Oral	Vulvar	Outros	Total	Upload
2008	36	8	0	1	7	52	17
2009	57	24	0	5	12	98	8
2010	31	4	0	3	5	43	24
2011	37	8	0	1	3	49	17
2012	51	18	2	5	5	81	31
2013	57	17	0	1	5	80	29
2014	25	7	0	3	20	55	25
2015	15	3	0	3	5	26	11
2016	36	11	1	3	31	82	53
2017	23	16	0	0	24	63	25
2018	28	29	0	1	38	96	32
2019	19	26	2	12	37	96	39
2020	25	11	4	9	6	55	16
2021	19	6	3	4	2	34	5
Total	440	182	9	47	198	876	332

Tabela 1. Quantitativo de armazenamento das amostras de acordo com a origem, ano e *upload* de perfis no BNPG.

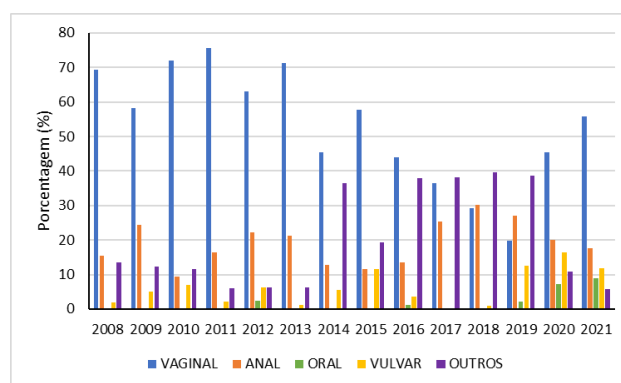


Gráfico 1. Porcentagem de amostras armazenadas de acordo com a origem da coleta.

O Laboratório de Genética Forense da PCA funciona desde 2008, e cerca de 2 mil perfis genéticos já foram enviadas para o Banco Nacional de Perfis Genéticos, contribuindo com mais de 92 investigações, e 60

coincidências (*matches*) nas esferas estadual, nacional e internacional por intermédio da INTERPOL [2,15].

O registro de coincidências na base de dados, denomina-se “*macth*”, os primeiros *matches* ocorreram nos anos de 2014 e 2015, motivando aos bancos de perfis genéticos de cada Estado a processarem as amostras já armazenadas em seus laboratórios. Após a consolidação da RIBPG e o início do projeto de *backlog* de crimes sexuais, juntamente com investimentos em laboratórios e incentivo do ministério da justiça, com ação conjunta entre a Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP), a Polícia Federal e as secretarias de segurança pública estaduais, no ano de 2019 começa o processamento de perfis genéticos de vestígios de crimes sexuais, que passaram a ser incluídos no BNPG [15,16].

É perceptível que a maioria das amostras coletadas pelo laboratório da PCA-AP são de conteúdo vaginal, com 440 amostras (50,23%) e anal 182 amostras (20,78%), o que pode significar que o número desses vestígios esteja relacionado a casos de estupro e de indivíduos vulneráveis (Tabela 1). Com a introdução da Lei 12.015/2018, vítimas menores de idade ou vítimas que não podem consentir o ato por motivo de doença, deficiência ou alcoolismo são classificadas como estupro de grupos vulneráveis, e apenas em 2021, novos casos no Brasil mostraram um aumento de 73,70 % [17].

Segundo os dados do Fórum Brasileiro de Segurança Pública [17], em 2021, mais de 85% dos criminosos eram conhecidos das vítimas – parentes e outras pessoas próximas que têm livre acesso às crianças e tornam a denúncia ainda mais difícil – e 96,3% do sexo masculino. A taxa média de estupros e estupro de vulnerável no Brasil foi de 51,80 para cada 100 mil habitantes do sexo feminino no país. No estado do Amapá foi de 107,70 para cada 100 mil habitantes (459 casos), mais que o dobro da média nacional.

Apesar dos casos de feminicídio no país terem apresentado queda de 2,40% no número de vítimas em 2021, os casos de estupros (incluindo vulneráveis), apenas do gênero feminino, tiveram crescimento de 3,7% em relação a 2020. Dessa forma, o Estado do Amapá não fica longe da estatística, ocupa o terceiro lugar dos Estados com maior incidência de casos de estupro [17]. Mostrando a importância de políticas públicas voltadas para a redução no número de casos, principalmente no processamento das amostras oriundas de crimes sexuais e na coleta de perfis de condenados.

3.1 Qualidade das amostras: Mistura e Degradação de perfis genéticos

Do total de amostras armazenadas no período, 299 amostras (34,13%) corresponderam a misturas de perfis genéticos, conferindo assim, a presença de DNA do

agressor e da vítima. O ano de 2021 apresentou o maior percentual de mistura de DNA no período analisado, com 55,88% (19/34), seguido pelos anos de 2011, com 38,78% (19/49) e 2020, com 38,18% (21/55). O ano com menor percentual de mistura foi 2008, com 25,00% (13/52), o que pode ser observado na Tabela 2.

Ano	Mistura					Degradação						
	Vaginal	Anal	Oral	Vulvar	Outros	Total	Vaginal	Anal	Oral	Vulvar	Outros	Total
2008	8	3	0	0	2	13	24	6	0	0	2	32
2009	22	8	0	1	3	34	19	8	0	1	3	31
2010	8	1	0	2	0	11	4	1	0	1	0	6
2011	12	4	0	0	3	19	8	4	0	0	3	15
2012	14	7	1	2	0	24	9	6	1	2	0	18
2013	17	7	0	1	1	26	13	4	0	1	1	19
2014	12	1	0	0	2	15	4	1	0	0	1	6
2015	5	2	0	1	1	9	3	1	0	0	1	5
2016	17	0	0	1	11	29	6	0	0	0	4	10
2017	5	5	0	0	6	16	2	5	0	0	3	10
2018	7	15	0	0	9	31	6	12	0	0	9	27
2019	6	7	1	6	12	32	2	4	0	5	7	18
2020	9	5	1	5	1	21	6	5	2	5	1	19
2021	9	3	3	3	1	19	5	2	3	3	0	13
Total	151	68	6	22	52	299	111	59	6	18	35	229

Tabela 2. Quantitativo de armazenamento das amostras de acordo com a origem das amostras, mistura de DNA e degradação.

Durante o período analisado, amostras de mistura não apresentaram diferenças significativas entre as categorias e nem ao longo dos anos, ($p>0,05$), embora, as categorias que apresentaram maior percentual de mistura foram a vaginal e anal com 50,50% (151/299) e 22,74% (68/299) respectivamente, em amostras de origem de crimes sexuais são mais comuns encontrarem fluidos biológicos do agressor e da vítima juntos nesses tecidos locais. Por diferentes fatores, nem sempre esta separação ocorre plenamente e em alguns casos persiste uma mistura de DNA como observado neste percentual de amostras relatadas.

As amostras degradadas segundo a origem e o tempo não apresentaram diferenças significativas, durante o período analisado ($p>0,05$), porém, ao analisar o quantitativo de amostras degradadas ao longo dos anos, 26,14% (229/876) apresentaram material genético degradado (Tabela 2). Constatou-se que as amostras de origem vaginal e anal também apresentaram maior quantitativo de amostras degradadas, com 48,47% (111/229) 25,76% (59/229) respectivamente. A categoria vaginal apresentou o maior número de amostras degradadas em onze dos quatorze anos avaliados, exceto para os anos 2017, 2018 e 2019, onde a categoria “outros” obteve o maior quantitativo de amostras (Gráfico 1).

O ano que apresentou o maior percentual de amostras degradadas foi 2008, com 61,54% (32/52), seguido por 2021, com 38,24% (13/34), e 2020, com 34,55% (19/55). Por outro lado, o ano com menor percentual de amostras degradadas foi 2014, com 10,91% (6/55) (Gráfico 2). A linha de tendência linear mostra uma regressão negativa, o que indica que ao longo dos anos há uma redução na taxa de degradação das amostras, embora os anos de 2020 e 2021 tenham apresentado um aumento.

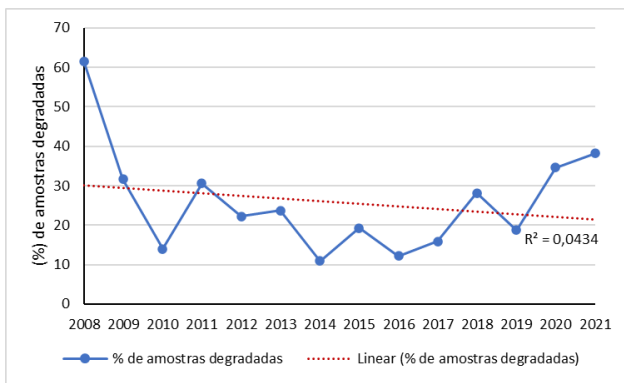


Gráfico 2. Percentual de amostras degradadas e linha de tendência de degradação do DNA, ao longo de 2008 a 2021.

O processo de degradação, pode ser explicado devido ao longo tempo de armazenamento e devido ao processamento tardio. Em um melhor cenário, seria recomendado realizar a extração do material genético imediatamente após a coleta e posteriormente armazenar até análises futuras. Os dois últimos anos apresentaram uma taxa significativa de degradação devido a fatores potenciais que devem ser considerados, destacam-se: o acondicionamento, o método de coleta, a temperatura de armazenamento, ciclos de descongelamento e congelamento das amostras, entre outros fatores.

Ainda em relação ao resultado do **Gráfico 2**, no segundo semestre do ano de 2020 o Estado do Amapá passou por um apagão elétrico, que afetou a polícia científica-AP. Embora exista gerador no prédio, muitas vezes ele não atendia a todos os equipamentos do prédio e não funcionava de forma ininterrupta. Sendo observado que alguns freezers ficaram algumas horas desligados e sofreram variação de temperaturas neste período.

Sobretudo as amostras que ainda estavam no Laboratório Forense e que ainda não haviam sido transferidas para o laboratório de genética forense, podem ter degradado devido as frequentes quedas de energia e mal funcionamento de alguns freezers em decorrência das oscilações da rede elétrica. Este fato pode explicar parcialmente os resultados obtidos para o ano de 2020 em relação à degradação. Danos na rede elétrica e em alguns freezers posterior a este episódio podem ter contribuído para a taxa de degradação observada em 2021.

A análise de DNA pode ser realizada em diversas amostras biológicas como sangue, ossos, sêmen, saliva, pelos e outros materiais de origem biológica comuns coletadas na cena do crime ou coletadas por médicos legistas em casos de crimes sexuais [18]. Apesar das melhores condições laboratoriais disponíveis hoje em dia, a degradação do DNA coletado ainda pode ocorrer, especialmente quando estocado em temperatura inadequada [19]. Martinez e colaboradores [19], evidenciaram em sua pesquisa que fatores como de congelamento e descongelamento, podem interferir na concentração do DNA, mas não necessariamente na

viabilidade das amostras. Fora do laboratório, em ambientes não controlados, as amostras podem sofrer ações físico-químicas, sendo assim, o devido acondicionamento permite a grande taxa de sucesso da obtenção de um perfil de DNA [20].

O papel do perito criminal na coleta de vestígios no local de crimes sexuais é de suma importância, para localizar e selecionar possíveis perfis genéticos. No estado do Amapá, os vestígios coletados são acondicionados devidamente e enviados para análises complementares no Laboratório Forense da PCA-AP, que é responsável por exames dessa natureza [2].

Técnicas promissoras como miniSTRs (não-CODIS) e SNPs têm sido utilizadas como acréscimo de informações relevantes em casos em que o DNA se encontra extensivamente degradado, em baixo número de cópias, ou quando as análises demandam reconstruções familiares complexas. Sendo assim, estes marcadores poderão ser úteis para complementar os resultados dos STRs [21,22].

Para obtenção do perfil STR, o método de estocagem do DNA pode promover a degradação do material obtido, por exemplo, as amostras de sêmen são necessárias serem mantidas congeladas e do mesmo modo longe de luz e umidade, pois com o passar do tempo o material pode ser degradado devido ações ambientais [23].

Apesar desses marcadores amplificarem regiões curtas do DNA, quando este se encontra degradado, a amplificação não ocorre efetivamente e a metodologia de análise convencional não é capaz de gerar resultados conclusivos [24]. Esta contaminação que leva a degradação do DNA pode ocorrer durante a coleta, armazenamento, ou análise da amostra, podendo ainda ser de vários tipos, como a contaminação química, por microrganismos ou por outro DNA humano [25].

Sendo assim, vestígios de crimes sexuais, principalmente provenientes de misturas, devem ser coletadas e manipuladas cuidadosamente, com técnicas que maximizem a estabilidade e recuperação do material genético, de forma a possibilitar a geração de um perfil de DNA utilizável [23,26,27]. Uma vez que as amostras ficam expostas às condições ambientais como calor, umidade, degradação enzimática, autólise, em regiões de mucosa como a vagina, o pH, oxigênio, fontes de carbono e micro lesões favorecem a proliferação de microrganismos [25,28].

Outros fatores que colaboram para a má qualidade das amostras são a falta de informações a respeito dos procedimentos pré-exame, tais como: banho, tempo entre a agressão e o exame, lavagem das roupas íntimas, lavagem de lençóis, entre outros. Com relação a lavagem de roupas íntimas e roupas de cama, por exemplo, pode influenciar na degradação das células, pois, apesar do espermatozoide ser uma célula resistente, a quantidade de DNA isolado pode distinguir-se dependendo do tipo de reagente de

limpeza usado, tipo de tecido manchado, temperatura e condições de secagem, bem como do período de preservação [29].

Devido a dificuldade em obter novas amostras do crime sexual e seu valor potencialmente alto nos casos forenses, é fundamental que métodos ideais sejam empregados para o armazenamento de DNA dessas amostras a longo prazo, padronização de procedimentos e controle de qualidade, sempre atentando para a documentação da cadeia de custódia [30].

3.2 Correlação de amostras de DNA com mistura e amostras degradadas

Todas as categorias de amostras não apresentaram diferença significativa entre mistura e degradação ($p > 0,05$), entretanto, todas as categorias apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$) entre mistura e degradação como mostra a **Tabela 3**.

	Coefficiente de correlação	Taxa de regressão
Vaginal	0,74	0,65
Anal	0,86	0,76
Oral	0,85	1
Vulvar	0,71	0,46
Outros	0,94	0,56
Longo de tempo	0,62	0,59

Tabela 3: Relação de amostras de mistura e degradação com seus respectivos coeficientes de correlação e taxa de regressão.

Todas as categorias apresentaram coeficiente de correlação forte ($r > 0,6$), exceto a categoria outros que obteve correlação muito forte ($r > 0,9$), esse modelo de degradação é reforçado na análise de regressão que apresenta, a cada nova unidade de amostra de mistura teria uma taxa de degradação, em todas as categorias apresentaram uma taxa superior a 0,50, exceto vulvar (0,46). Nossos dados apresentam indícios de que a cada nova amostra de mistura poderia contribuir para a taxa de degradação em cerca de 0,50%, indicando que amostras oriundas de mistura são mais suscetíveis à degradação ao longo do tempo.

A maior parte dos erros cometidos no levantamento pericial ocorre ao se coletar as amostras. O vestígio deve ser coletado de modo que não se contamine, o que é fundamental para não comprometer a qualidade da prova (perfil genético) e conseqüentemente a investigação [31].

Amostras de origem vaginal apresentam maior relação a degradação do DNA pois esta está mais exposta ao meio ambiente, ação de microrganismos, pH ácido e DNases o que podem acabar acelerando os processos de degradação, além de que numerosas modificações ou substâncias diversas podem se acumular durante o processo de decomposição e podem ser co-extraídas com o DNA, afetando assim as ampliações e comprometendo os resultados [28,32].

A natureza da amostra influencia no tipo de material do recipiente a ser escolhido para acondicioná-la; amostras biológicas, por exemplo, devem ser acondicionadas em invólucro de papel. Os recipientes devem ser selados com lacres, para garantir a inviolabilidade durante o transporte, com numeração que permita a individualização [33].

A técnica empregada na coleta da fonte do material biológico de vestígios deixados em local de crime e/ou em vítimas é de suma importância para encontrar perfis do agressor, pois amostras de crimes sexuais contêm mistura, visto que estas são em muitas das vezes a única fonte para determinar o perfil genético do agressor, sendo assim, devem ser coletadas e manipuladas de forma cuidadosa para evitar degradação do material genético [34].

O adequado isolamento e preservação do local de crime são essenciais para evitar que vestígios sejam perdidos, e assegurar a autenticidade do vestígio. Para que um vestígio seja incorporado em um processo de investigação é necessário a devida coleta, identificação e armazenamento adequado. Nesse sentido, a cadeia de custódia é de suma importância para garantir a autenticidade e a idoneidade da prova pericial na cena do crime, o que consolida o ponto de partida para a cadeia de custódia, devendo ser mantida para demonstrar cada etapa, assegurando assim o rastreamento da evidência desde o local de crime até o tribunal. Caso ocorram falhas, a perícia oficial pode ser invalidada total ou parcialmente [25,34,35].

Adicionalmente, é possível evitar a contaminação do material tomando medidas de biossegurança adequadas, como o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) e implementando uma rotina diária de limpeza e desinfecção dos ambientes e equipamentos. Recomenda-se também que os laboratórios de genética forense realizem monitoramentos regulares para garantir a qualidade e participem de atividades de avaliação de desempenho e exercícios interlaboratoriais. Adicionalmente, submeter-se a auditorias internas e externas é uma prática recomendada [36].

3.3 Amostras depositadas no Banco Nacional de Perfis Genéticos

Com relação ao total de amostras de perfis genéticos selecionadas e com qualidade a serem enviadas ao Banco Nacional de Perfis Genéticos, obteve-se um percentual de 37,90% (332/876). Os maiores percentuais de perfis genéticos depositados no BNPG por ano, foi de 2016 com 64,63% (53/82), seguido pelos anos de 2010, com 55,81% (24/43), e 2014 com 45,45% (25/55) (**Tabela 1**), uma vez que estes anos apresentaram um baixo percentual de degradação do DNA.

Por outro lado, o menor percentual de perfis depositados foi o ano de 2009, com apenas 8,16% (8/98) do total de amostras coletadas naquele ano. Este mesmo

ano possui o maior quantitativo de amostras armazenadas, porém possui cerca de 1/3 de amostras degradadas, o que sugere que o longo tempo de armazenamento dessas amostras até o seu devido processamento, pode ter contribuído para o elevado percentual de amostras degradadas observado neste ano, e conseqüentemente, uma baixa porcentagem de amostras depositadas no BNPG (Gráfico 2 e Tabela 1).

Esses perfis genéticos depositados no BNPG poderão ajudar na resolução e investigação de crimes sexuais e de outras vertentes futuramente, principalmente na redução dos crimes em série.

4. CONCLUSÕES

O processamento das 876 amostras armazenadas ao longo dos anos de 2008 e 2021 no estado do Amapá, mostrou que 26,14% apresentaram DNA degradado e 34,13% corresponderam a misturas de DNA, evidenciando um importante percentual de amostras degradadas e de amostras com mistura de DNA, em crimes sexuais ocorridos no Estado.

Do total de amostras coletadas e processadas de crimes sexuais no Estado do Amapá, evidenciou-se que a maioria delas é de origem vaginal (50,23%) e anal (20,78%), estando a maioria destes, relacionados a casos de estupro e de indivíduos vulneráveis.

Foram incluídas mais de 1/3 (37,90%) do total de amostras de crimes sexuais em bancos de perfis genéticos, aumentando assim, a possibilidade de identificação de autoria de crimes sexuais, principalmente em casos em que não existem suspeitos conhecidos. Outrora, o adequado isolamento e preservação do local de crime, o armazenamento, transporte e acondicionamento apropriado são essenciais para evitar que vestígios biológicos sejam degradados, como a exemplo de amostras de origem vaginal (48,47%) e anal (25,76%) que apresentaram maior percentual de degradação, permitindo assim, que ocorra a materialização de provas criminais e que a cadeia de custódia seja preservada.

Sendo assim, é necessário treinamento adequado aos grupos de peritos, visando o reforço de alimentar constantemente os bancos de perfis genéticos, e aos centros de polícia científica, para evitar o acúmulo de amostras armazenadas por longos períodos, visto que as diversas variáveis podem acabar degradando o material genético, uma vez que um vestígio perdido, é mais um caso arquivado e mais um criminoso passível a cometer outros crimes.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Instituto Nacional de Perícias e Ciências Forenses (INFOR) e a

Polícia Científica do Amapá (PCA-AP) por todo o apoio concedido durante o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] L.D.G. Kobachuk, et al. Processamento de backlog de vestígios de crimes sexuais no Estado do Paraná. *Revista Brasileira de Criminalística* 12(2), 55-60, 2023.
- [2] P.A.C. Francez, et al. Avaliação dos casos de crimes sexuais atendidos em um laboratório forense do extremo norte da região amazônica brasileira entre os anos de 2007 a 2017. *Revista Criminalística e Medicina Legal* 5(1), 34-44, 2020.
- [3] J. Drezett, et al. Influência do exame médico-legal na responsabilização do autor da violência sexual contra adolescentes. *Revista Brasileira Crescimento e Desenvolvimento Humano* 21(2), 189-197, 2011.
- [4] C.S.M.G. Miziara, et al. Avanços diagnósticos em violência sexual: aspectos forenses. *Saúde Ética & Justiça* 27(2), 84-92, 2022.
- [5] J.A. Hamoi, S. Guerreiro, S. Santos. Genética molecular aplicada à conservação de peixes amazônicos. *In: Ecossistemas Aquáticos: Tópicos Especiais*, 276-294, 2018.
- [6] P.A.C. Francez, et al. Comparação entre extração automatizada de DNA empregando a plataforma EZ1 e métodos manuais usando amostras forenses reais. *Revista Brasileira de Criminalística* 10(1), 2021.
- [7] G.M. Carvalho, H.H. Belloto. A Lei nº 12.654, de 2012 (Perfis Genéticos Criminais) e as Alterações do Pacote “Anticrime” na Lei de Execução Penal: uma Análise Crítica. *Revista ESMAT* 13(22), 123-143, 2022.
- [8] A.L. Cândido, N.R. Carvalho, P.B. Chaves, B. Martinucci, N.M.O. Godinho, M.F. Mota. Classificação semiquantitativa de espermatozoides otimiza a genotipagem de *backlog* de amostras de crimes sexuais. *Revista Brasileira de Criminalística* 10(1), 36-43, 2021.
- [9] Quiagen, Investigator® Quantiplex® Pro Handbook. For quantification of human and male DNA in forensic samples, 2018.
- [10] Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Comitê Gestor da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Manual de procedimentos operacionais da rede integrada de bancos de perfis genéticos. Brasília: 2021. v.5. Disponível em: <<https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg/manual>>.
- [11] R.G. Garrido, B.R.N. Costa. O Banco Nacional de Perfis Genéticos: Uma Análise da Efetividade e Eficiência Brazilian Genetic Database: An Analysis Of The Effectiveness And Efficiency. *Duc In Altum-Cadernos de Direito* 12.27, 2020.
- [12] Brasil. Lei n. 12.015, de 07 de agosto de 2009. Dos Crimes Contra a Liberdade Sexual. Brasília, 2009.

- Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/lei/112015.htm>. Acesso em 30 de janeiro de 2023.
- [13] Brasil. Decreto 7.950, de 12 de março de 2013. Institui o Banco Nacional de Perfis Genéticos e a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Diário Oficial da União, Brasília, 13 mar. 2013.
- [14] Y.T.C. Lima, M.H.F. Ekert. A Importância da Criação do Banco Nacional de Perfis Genéticos para a Perícia Criminal. *Revista Criminalística e Medicina Legal* 6(1), 2021.
- [15] Brasil, Ministério da Justiça e Segurança Pública - Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos - RIBPG. XVII Relatório da Rede Integrada De Bancos De Perfis Genéticos Brasília, Nov. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg/relatorio>>.
- [16] M.F. Mota, N.C.P. Finotti. Contribuição do Banco de Perfis Genéticos da Superintendência de Polícia Técnico-Científica do Estado de Goiás com a elucidação de crimes após três anos de funcionamento. *Revista Brasileira de Criminalística* 7(1), 26-31, 2018.
- [17] FBSP - Fórum Brasileiro de Segurança Pública. Violência contra mulheres em 2021. 2022. Disponível em: https://forumseguranca.org.br/publicacoes_posts/violencia-contra-mulheres-em-2021/. Acesso em 24 de fevereiro de 2023.
- [18] S.M. Caligiorne, A.T.A. Chaga. DNA forense - o uso da biologia molecular na resolução de casos criminais. *Revista Criminalística e Medicina Legal* 4, 9-15, 2019.
- [19] G.G. Martinez, et al. Estocagem de DNA a temperaturas variadas: análise da concentração. *Rev. Saúde Foco* 10, 42-50, 2018.
- [20] H.Y. Wong, et al. DNA Profiling Success Rates of Commonly Submitted Crime Scene Items. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 7(1), 597-599, 2019.
- [21] J.M. Rodrigues, B.K.F. Silva. A relevância dos marcadores moleculares para elucidação de homicídios e crimes sexuais. *Brazilian Journal of Development* 6(3), 13574-13584, 2020.
- [22] M. Kowalczyk, E. Zawadzka, D. Szewczuk, M. Gryzińska, A. Jakubczak. Molecular markers used in forensic genetics. *Medicine, Science and the Law* 58(4), 201-209, 2018.
- [23] J.D.V. Varejão, et al. The Importance of Laboratory Techniques in Forensic Analysis. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR* 33(2), 104-108, 2021.
- [24] P. Cavalcan, et al. Investigações forenses e análise de DNA degradado. Perícia em genética forense. *Evidência - Edição especial IPPGF 15 ANOS*, p. 72, 2020.
- [25] R.P. Barbosa, L.H. Romano. História e importância da genética na área forense. *Revista Saúde em Foco* 10, 300-307, 2018.
- [26] A.C.L. Alves, E.O. Ferreira. A importância das técnicas moleculares na investigação forense. *Mostra Científica em Biomedicina* 3(2), 2019.
- [27] I.A. Kirgiz, C. Calloway. Increased recovery of touch DNA evidence using FTA paper compared to conventional collection methods. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 47, 9-15, 2017.
- [28] T.A. Silva, P.C. Frangiosa. 5. A aplicação de técnicas moleculares de DNA na investigação forense. *Revista Científica UMC* 3(2), 2018.
- [29] T. Ünsal, et al. Human Identification From Washed Semen Stains. *American Academy of Forensic Sciences – Criminalistics*, 2021.
- [30] A.T.A. Chagas, V.R.D. Santos. A Lei 12.654/12 e os novos desafios para a perícia criminal na área de biologia forense em Minas Gerais. *Revista Criminalística e Medicina Legal* 2(1), 6-11, 2016.
- [31] M.N. Krosch. Variation in forensic DNA profiling success among sampled items and collection methods: a Queensland perspective. *Australian Journal of Forensic Sciences* 53(6), 612-625, 2020.
- [32] Brasil. Ministério da Justiça. Secretaria Nacional de Segurança Pública. Portaria nº 82, de 16 de julho de 2014. Estabelece as diretrizes sobre os procedimentos a serem observados no tocante à cadeia de custódia de vestígios. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de julho de 2014.
- [33] M.C. Santiago, B.O. Siqueira, R.D.S.S. Barcelos. Uso e Benefício da Biologia Molecular nas Ciências Forenses e sua Aplicação no Banco de Perfis Genéticos. *Revista Brasileira de Criminalística* 9(2), 95-104, 2020.
- [34] G. Alderson, H. Gurevitch, T. Casimiro, B. Reid, J. Millman. Inferring the presence of spermatozoa in forensic samples based on male DNA fractionation following differential extraction. *Forensic Sci Int Genet.* 36, 225-232, 2018.
- [35] N.J. Giacomolli, M.E.A. Amaral. A cadeia de custódia da prova pericial na Lei nº 13.964/2019. *Revista Duc In Altum Cadernos de Direito* 12(27), 67-100, 2020.
- [36] P.A.C. Francez, et al. Risco de contaminação por DNA de alto peso molecular e por amplicons em Laboratório de Genética Forense no Brasil. *Revista Brasileira de Criminalística* 9(2), 85-94, 2020.