

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Karollyne Teodoro Fernandes
Marina Adoni Heller

A UTILIZAÇÃO DA GENÉTICA FORENSE NA ELUCIDAÇÃO DE
CRIMES DE VIOLÊNCIA SEXUAL

São Paulo
2023

Karollyne Teodoro Fernandes – RA: 011340

Marina Adoni Heller – RA: 011798

**A UTILIZAÇÃO DA GENÉTICA FORENSE NA ELUCIDAÇÃO DE
CRIMES DE VIOLÊNCIA SEXUAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Fabio Mitsuo Lima, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Fernandes, Karollyne Teodoro

A utilização da genética Forense na elucidação de crimes de violência sexual / Karollyne Teodoro Fernandes, Marina Adoni Heller. – São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

60 p.

Orientação de Fábio Mitsuo Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Biologia molecular 2. Delitos sexuais 3. DNA 4. Genética forense 5. Métodos I. Heller, Marina Adoni II. Lima, Fábio Mitsuo III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

CDD: 574.8

Karollyne Teodoro Fernandes

Marina Adoni Heller

A UTILIZAÇÃO DA GENÉTICA FORENSE NA ELUCIDAÇÃO DE CRIMES DE VIOLÊNCIA SEXUAL

Data de aprovação:

Professor Orientador Fábio Mitsuo Lima

Professor Examinador

Banca externa

Gostaríamos de dedicar esse trabalho a todas as vítimas que já sofreram ou sofrem qualquer tipo de violência seja sexual, psicológica ou física. Entendemos a importância de expor esse sofrimento que muitas vezes é invalidado, somos mulheres e merecemos justiça, não por pena, quando casos que infelizmente resultam em morte entram na mídia, mas sim por direito.

Esse trabalho é nossa forma de defender a importância da ciência, mas também uma maneira de abraçarmos todas as vítimas, sejam elas sobreviventes ou não, a luta é uma só.

Acreditamos na força da biologia molecular na ciência forense em auxiliar a justiça brasileira a punir devidamente os responsáveis, para que o mínimo do amparo às vítimas e seus familiares seja proporcionado, de maneira geral, continuaremos tentando fazer a diferença no mundo após a conclusão deste trabalho, porque a luta é constante e nenhuma de nós está livre de passar por essa situação.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer ao nosso Professor orientador Fábio Mitsuo por nos acompanhar nessa jornada, sempre solícito e carinhoso, nos acalmando nessa fase final, mas também nos fortalecendo com seu conhecimento durante o processo.

Aos nossos pais Monica, Dany, Janaina e Robson por sempre nos apoiarem, independente de tudo e acreditarem na nossa força de conquistar todos nossos sonhos.

Aos nossos Irmãos Fernando e Jefferson que de maneira única nos acolheram no processo, seja ouvindo nosso trabalho ou emprestando o computador durante a madrugada para que tudo desse certo.

Aos avós da Marina, Sueli e Vitor por sempre incentivarem ela, e um adendo especial ao Vitor que é o maior incentivador de sua carreira biomédica.

No decorrer da formação da Karollyne muitas provações foram necessárias para que hoje o diploma fosse uma realidade, esse trabalho carrega uma garra enorme de seus pais e uma força que ela nunca imaginou ter.

De maneira geral, muitas pessoas foram importantes para a conclusão dessa etapa, cada uma somou da maneira que pôde, deixamos aqui nosso muito obrigada.

“Porque quando uma mulher é estuprada, é como se sua alma fosse arrancada da maneira mais brusca que se pode imaginar.

Tire a dignidade de alguém e esse alguém não terá nada...

Insistem em culpar a vítima, ela usava roupa curta, usava batom forte, saía com vários homens ... Bom, essa é sua desculpa para infligir o corpo de alguém? Esse é seu melhor argumento?

Você não imagina a dor que um estupro causa, não somente no físico... Mas também no psicológico... a pessoa deixa de confiar na humanidade, nos amigos e em qualquer homem que se aproxime, imaginando que pode voltar a sofrer, e sempre passa um filme em sua mente daqueles momentos dolorosos...

Eu sou mulher e a sociedade faz isso ser o pior castigo... Há sempre os que dizem para você imaginar sua mãe ou sua filha na mesma situação... Mas eu quero que VOCÊ se imagine sendo estupro, seja homem ou mulher... Imagine sua roupa sendo arrancada sem seu consentimento e seu corpo se sujeitando a dolorosas sessões de dor...

Você se depara com seu corpo banhado por sangue e seu emocional já não reage mais...

Agora me diz, alguém merece ser estupro?”

– Ellen01, em Pensador.com

RESUMO

Estima-se que no Brasil anualmente ocorrem no mínimo 527 mil tentativas ou casos de violência sexual, na grande parte dos casos as vítimas são mulheres, menores de 13 anos pretas ou pardas, um fato alarmante visto que se trata de adolescentes e crianças que estão no processo de amadurecimento psicológico e formação de autoestima. Esse tipo de crime deixa marcas psicológicas, mas também físicas e é neste momento que a ciência molecular atua. A análise de DNA ganhou muita visibilidade na área forense, visto que permitiu a identificação de agressores analisando o perfil genético de vestígios deixados durante o ato. A biologia molecular proporciona técnicas que permitem a identificação de cadáveres, agressores ou até mesmo casos de paternidade. Técnicas como PCR, lise diferencial, eletroforese, entre outras são usadas nessas amostras para comparação genética, averiguando se tem a presença ou não do material na amostra e confirmando a identidade de um ser humano. Foi realizado uma revisão de literatura cujo o objetivo foi demonstrar as possibilidades de uso da biologia molecular na elucidação de casos forenses de violência sexual.

Palavras-chave: DNA; crimes sexuais; biologia molecular; genética forense; técnicas.

ABSTRACT

It is estimated that in Brazil, there are at least 527,000 attempted or actual cases of sexual violence annually, with the majority of victims being women under the age of 13 who are Black or mixed-race. This is a concerning fact given that these are adolescents and children who are in the process of psychological maturation and developing their self-esteem. This type of crime leaves both psychological and physical scars, and it is at this point that molecular science comes into play. DNA analysis has gained significant visibility in forensic science as it has enabled the identification of perpetrators by analyzing the genetic profile of traces left during the act. Molecular biology provides techniques that allow for the identification of corpses, perpetrators, or even paternity cases. Techniques such as PCR, differential lysis, electrophoresis, among others, are used in these samples for genetic comparison, verifying the presence or absence of material in the sample and confirming the identity of a human being. A literature review was conducted with the objective of demonstrating the possibilities of using molecular biology in elucidating forensic cases of sexual violence.

Keywords: DNA; sex crimes; molecular biology; forensic genetics; techniques.

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

A – Adenina

BNPG – Banco Nacional de Perfil Genético

C – Citosina

CODIS – Combined DNA Index System

DDT – Ditiotreitól

DNA – Ácido disoxirribonucleico

FBI – Federal Bureau of Investigation

G – Guanina

IML – Instituto Médico Legal

LGMG – Laboratório de Genética Molecular Forense

LIC – Identificação Criminal do Civilmente Identificado

PCR – Reação da Cadeia Polimerase

PSA – Antígeno Prostático Específico

RIBPG – Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos

Senasp – Secretaria Nacional de Segurança Pública

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

STR – Short Tandem Repeats

TM – Ponto de Fusão Media

T – Timina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Estrutura molecular das bases nitrogenadas | 17 |
| Figura 2 - Estrutura de um nucleotídeo | 18 |
| Figura 3 - Estrutura do DNA..... | 19 |
| Figura 4 - Representação esquemática do cromossoma Y humano, com alguns dos seus genes assinalados..... | 27 |
| Figura 5 - Esquema do processo de lise diferencial | 30 |
| Figura 6 - Exemplo visual da ligação dos primers com a fita de DNA..... | 31 |
| Figura 7 - Reação em cadeia da polimerase..... | 33 |
| Figura 8 - Esquema de funcionamento da eletroforese capilar | 35 |
| Figura 9 - Microscopia óptica do IMB ligado a um espermatozoide intacto | 36 |
| Figura 10 - Microscopia óptica para IMB ligado ao esperma sem cauda | 36 |
| Figura 11 - Microscopia eletrônica de varredura para IMB ligado à cabeça de um espermatozoide intacto | 37 |
| Figura 12 - Esquema de funcionamento do <i>Southern Blot</i> | 38 |
| Figura 13 - Resultados obtidos após a realização da técnica | 39 |
| Figura 14 - Visualização do teste de azul de Toluidina..... | 40 |
| Figura 15 - Resultados obtidos pelo experimento..... | 41 |
| Figura 16 - Identificação das vítimas Lynda Mann e Dawn Ashworth..... | 43 |
| Figura 17 - Identificação do autor do crime Colin Pitchfork | 45 |
| Figura 18 - Identificação do autor do crime Massimo Giuseppe (esquerda) e da vítima Yara Gambirasio (direita) | 46 |
| Figura 19 - Vítima Rachel Genofre | 47 |
| Figura 20 - Identificação do agressor Carlos Eduardo dos Santos | 47 |
| | |
| Gráfico 1 - Total de investigações auxiliadas pelo BNPG no Brasil entre 2019 e 2020 | 24 |
| Gráfico 2 - Dados do Programa Bem-Me-Quer..... | 50 |
| | |
| Tabela 1 - Pesquisa sobre vítima de violência ou agressão..... | 13 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | OBJETIVO | 15 |
| 3 | METODOLOGIA | 15 |
| 4 | DESENVOLVIMENTO | 16 |
| 4.1 | REVISÃO DE GENÉTICA..... | 16 |
| 4.2 | LEGISLAÇÃO..... | 20 |
| 4.3 | A REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS..... | 22 |
| 4.4 | BACKLOG DE VESTÍGIOS DE CRIMES SEXUAIS..... | 25 |
| 4.5 | GENÉTICA FORENSE | 25 |
| 4.6 | EXAME PSA (ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO) | 28 |
| 4.7 | EXTRAÇÃO DO DNA | 28 |
| 4.8 | TÉCNICA DE LISE DIFERENCIAL | 29 |
| 4.9 | PCR – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE | 30 |
| 4.10 | ELETROFORESE CAPILAR..... | 33 |
| 4.11 | GRÂNULOS IMUNOMAGNÉTICOS REVESTIDOS COM ANTICORPO ANTI-PH20 (IMB ANTI-PH20) | 35 |
| 4.12 | <i>SOUTHERN BLOT</i> | 37 |
| 4.13 | AZUL DE TOLUIDINA | 39 |
| 5 | ANÁLISES DE CASOS | 43 |
| 5.1 | CASO LYNDA MANN E DAWN ASHWORTH..... | 43 |
| 5.2 | CASO YARA GAMBIRASIO | 45 |
| 5.3 | CASO RACHEL GENOFRE | 46 |
| 6 | PROGRAMA BEM-ME-QUER | 49 |
| 7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 51 |
| | REFERÊNCIAS | 52 |

1 INTRODUÇÃO

A violência sexual é entendida como uma questão de saúde pública, segurança e acesso à justiça, que exige do Estado políticas e ações integradas para responder a esta demanda. Pode acometer crianças, adolescentes, mulheres, homens e pessoas idosas em espaços privados e públicos e causar traumas, ferimentos visíveis e invisíveis, em algumas situações levar à morte (MINISTÉRIO DOS DIREITOS HUMANOS E DA CIDADANIA, 2020).

Esse tipo de violência é definido pela ONU (apud WHO, 2021) como

qualquer ato sexual, tentativa de obter um ato sexual ou outro ato dirigido contra a sexualidade de uma pessoa usando coerção, por qualquer pessoa, independentemente de seu relacionamento com a vítima, em qualquer ambiente. Inclui estupro, definido como a penetração fisicamente forçada ou de outra forma coagida da vulva ou ânus com um pênis, outra parte do corpo ou objeto. (ONU apud WHO, 2021, tradução livre)

Como mencionado, a violência sexual constitui um grave problema de saúde pública, pois representa uma das principais causas de morbidade, especialmente de meninas e mulheres. Nesse sentido, cabe reconhecer os serviços de saúde como importantes portas de entrada para aqueles(as) que sofreram violência sexual, assegurando-lhes acolhimento adequado e atendimento imediato, a partir das demandas de cada pessoa. A Lei 12.845/2013 estabelece que os hospitais deverão oferecer atendimento emergencial, integral e multidisciplinar às pessoas que forem vítimas de violência sexual (BRASIL, 2012).

Segundo a quarta edição da pesquisa Visível e Invisível: a Vitimização de Mulheres no Brasil, realizada pelo Fórum Brasileiro de Segurança Pública, no que diz respeito aos últimos 12 meses, 28,9% das mulheres relatam ter sido vítima de algum tipo de violência ou agressão, em 2022, sendo assim esses dados tornam 2022 o ano de maior prevalência já verificada na série histórica de violência ou agressão sexual (Tabela 1) (FÓRUM BRASILEIRO DE SEGURANÇA PÚBLICA, 2023).

Tabela 1 - Pesquisa sobre vítima de violência ou agressão

| | PESQUISA 2017 | PESQUISA 2019 | PESQUISA 2021 | PESQUISA 2023 |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|
| SOFREU ALGUM TIPO DE VIOLÊNCIA OU AGRESSÃO | 28,6 | 27,4 | 24,4 | 28,9 |
| Insulto, humilhação ou xingamento (Ofensa verbal) | 22,2 | 21,8 | 18,6 | 23,1 |
| Ameaça de apanhar, empurrar ou chutar | 10,0 | 9,5 | 8,5 | 12,4 |
| Amedrontamento ou perseguição | 9,3 | 9,1 | 7,9 | 13,5 |
| Batida, empurrão ou chute | 8,9 | 9,0 | 6,3 | 11,6 |
| Ofensa sexual (algumas vezes as pessoas agarram, tocam ou agridem fisicamente e verbalmente outras pessoas por motivos sexuais) | 8,1 | 8,9 | 5,4 | 9,0 |
| Ameaça com faca ou arma de fogo | 4,3 | 3,9 | 3,1 | 5,1 |
| Lesão provocada por algum objeto que lhe foi atirado | 4,0 | 3,9 | 2,6 | 4,2 |
| Espancamento ou tentativa de estrangulamento | 3,4 | 3,6 | 2,4 | 5,4 |
| Tiro ou esfaqueamento | 1,9 | 1,7 | 1,5 | 1,6 |
| Outras respostas | 0,1 | 0,7 | 1,5 | 0,5 |

Fonte: Fórum Brasileiro de Segurança Pública; Instituto Datafolha. Pesquisa Visível e Invisível: a vitimização de mulheres no Brasil, edições 1, 2, 3 e 4; 2017, 2019, 2021 e 2023. Só mulheres, resposta estimulada e única, em %.

Fonte: Fórum Brasileiro de Segurança Pública (2023)

A biologia molecular tem contribuído para que tais atrocidades sejam elucidadas e o responsável punido. A análise de DNA evoluiu a ponto de se tornar indispensável como parte da rotina para estudos de casos forenses, por empregar técnicas extremamente sensíveis, permitindo, devido a estabilidade química e molecular do DNA, a obtenção de padrões genéticos específicos (DECANINE, 2016).

As técnicas utilizadas na biologia molecular para extração e análise de DNA consistem em sua maioria na utilização dos microssatélites ou sequências repetidas in tandem (STR) que constituem aproximadamente 3% do genoma humano e podem ser utilizados como marcadores moleculares na genotipagem do DNA, visando detectar a variabilidade genética populacional (SILVA; MOURA, 2015). Estas técnicas podem ser seguidas por uma amplificação por PCR, *southern blot* ou até mesmo uma eletroforese capilar (MAXIMIANO, 2017).

Outras técnicas que se conhecem, porém, não são muito utilizadas são a de Grânulos Imunomagnéticos revestidos com anticorpo anti-pH20. Essa técnica envolve o uso de um anticorpo contra uma enzima angiotensina- convertase testicular. Com essa metodologia conseguimos isolar os espermatozoides das células epiteliais misturadas obtidas no esfregaço vaginal (ANSLINGER *et al.*, 2008).

A outra técnica é a de *Southern Blot* que consiste na fragmentação do DNA em pedaços menores, através de uma eletroforese e, em seguida, a transferência para

uma membrana e a detecção do fragmento de DNA de interesse por hibridação com uma sonda específica. O único problema dessa técnica é que precisa de uma grande quantidade de amostra de DNA, o que no caso de amostras forenses não é muito vantajoso (THERMO FISHER SCIENTIFIC).

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico de artigos científicos e revisões, visando analisar e revisar a utilização da genética forense e técnicas moleculares como auxílio para elucidar crimes sexuais, com destaque ao uso do DNA para identificação do agressor.

3 METODOLOGIA

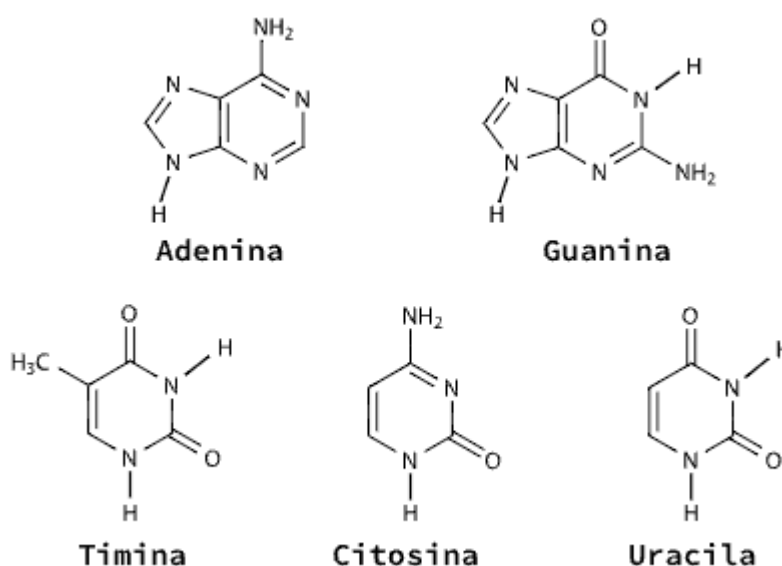
Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos publicados em português e em inglês, entre 2002 e 2022, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Acadêmico, utilizando-se as seguintes palavras-chave: DNA, Genética Forense, Violência Sexual, Marcadores moleculares.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 REVISÃO DE GENÉTICA

O ácido desoxirribonucleico (DNA) guarda toda informação genética de um indivíduo. É composto por duas cadeias polinucleotídicas helicoidais, que formam uma dupla hélice em torno de um eixo central. As cadeias são unidas por pontes de hidrogênio localizadas entre os pares de base, sendo eles adenina (A) com timina (T) e citosina (C) com guanina (G) (Figura 1). Ressaltando que entre A-T há duas pontes de hidrogênio e entre C-G três, a tornando mais estável (SCHRANK, 2014).

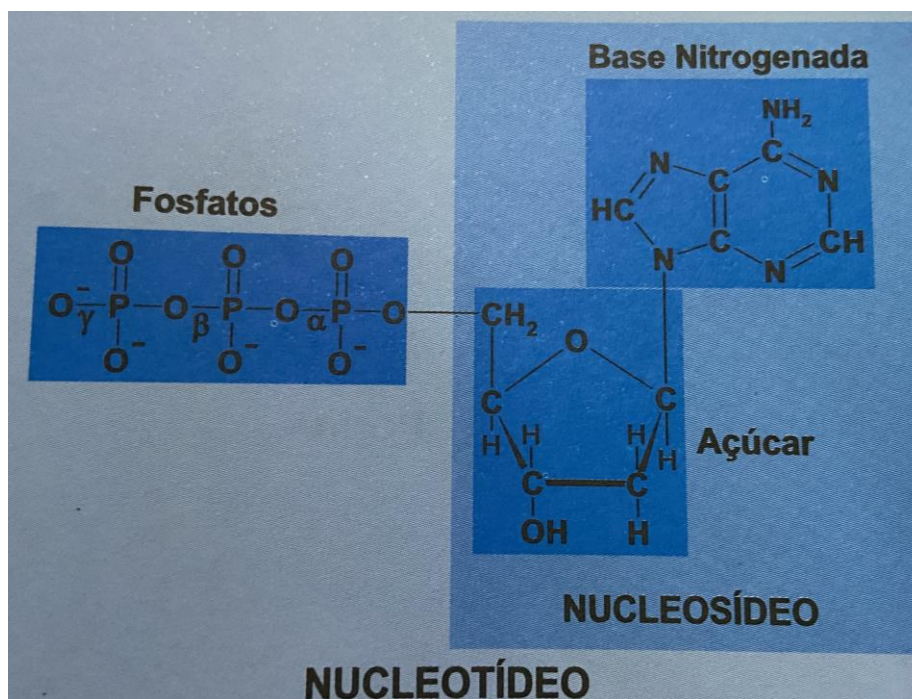
Figura 1 - Estrutura molecular das bases nitrogenadas



Fonte: Realize Educação. Disponível em: <https://realizeeducacao.com.br/wiki/dna-e-sintese-de-proteinas/>.

O nucleotídeo é composto por um açúcar, a pentose (2'-desoxi-D-ribose); uma base nitrogenada ligada ao carbono 1' da pentose; e um ou até três grupos fosfato ligados ao carbono 5' da pentose (Figura 2) (SCHRANK, 2014).

Figura 2 - Estrutura de um nucleotídeo



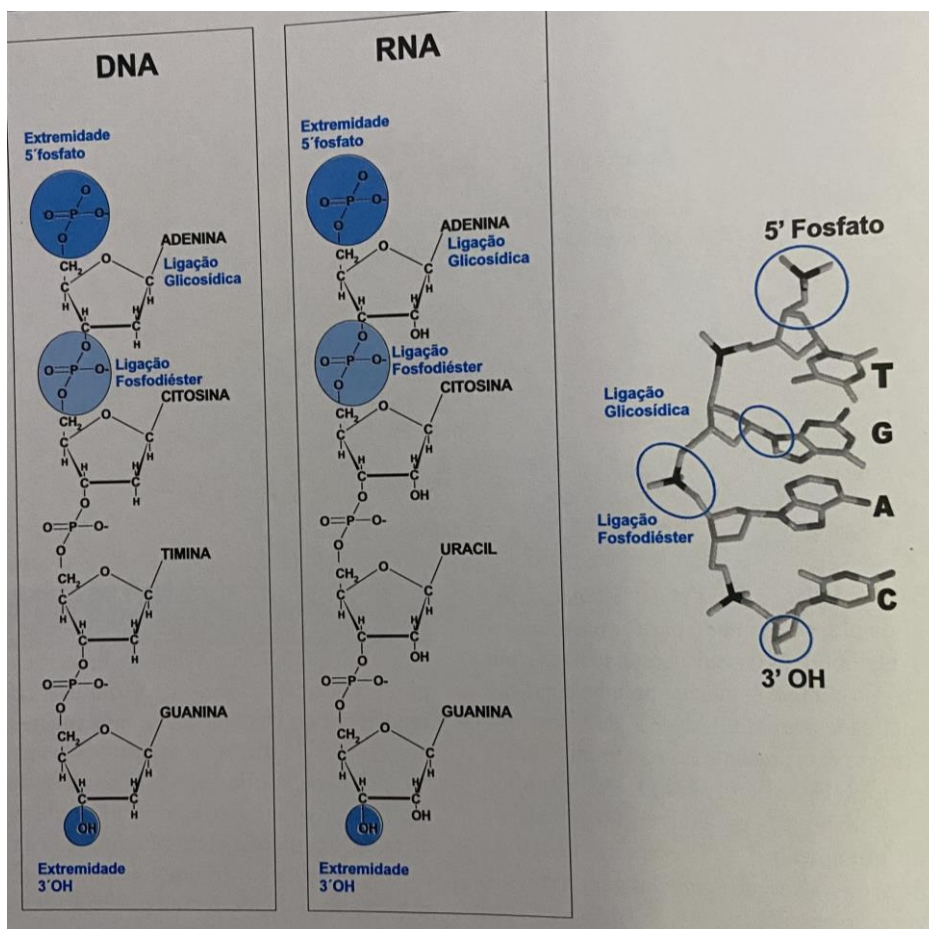
Fonte: SCHRANK, 2014.

As bases nitrogenadas podem ser púricas (derivadas das purinas A e G) ou pirimídicas (derivadas das pirimidinas C e T), elas se ligam ao 1º carbono por meio de uma ligação glicosídica. A molécula composta somente pela ligação da base nitrogenada, a pentose, se chama nucleosídeo, mas quando o grupo fosfato se liga passa a ser chamada de nucleotídeo que pode ser mono, di ou trinucleotídeo (depende da quantidade de fosfatos ligados) (SCHRANK, 2014).

O DNA é formado por cadeias ligadas por pontes fosfodiéster, localizadas entre o grupo fosfato e o grupo hidroxila do carbono 3' do nucleotídeo adjacente. Todos eles seguem uma orientação relativa às suas extremidades 5'-P e 3'-OH, com o carbono 5' da pentose voltado para cima e o restante dos nucleotídeos da cadeia na mesma posição, garantindo que a cadeia tenha direcionalidade, 5'-->3' (Figura 3) (SCHRANK, 2014).

Em 1953, Francis Crick, James Watson e Maurice Wilkins sugeriram um modelo da estrutura tridimensional do DNA, baseado principalmente em estudo de difração de raios-x que permitiram identificar a localização espacial de átomos em uma molécula cristalizada. Essa proposta mostrou uma molécula de hélice dupla onde ambas as fitas se enrolam em torno de seu eixo (SCHRANK, 2014).

Figura 3 - Estrutura do DNA



Fonte: SCHRANK, 2014.

As bases estão pareadas através de pontes de hidrogênio, o que garante a manutenção da hélice dupla. Este pareamento entre as bases nitrogenadas leva em consideração a estrutura química (há a presença de grupos ceto e amino que permitem a ligação da ponte de hidrogênio com as bases) e seu tamanho. A fita apresenta um sulco menor e um maior, onde as bases estão expostas ao meio solvente. As estruturas desta região são distinguidas quimicamente permitindo que outras moléculas, como as proteínas, interagem com a hélice sem quebrar a estrutura (SCHRANK, 2014).

O DNA do núcleo é separado em cromossomos, extremamente compactado e protegido pelas histonas. Uma cópia do genoma humano é formada por mais ou menos 3,2 bilhões de pares de bases. Cada célula somática possui 22 pares de cromossomos autossômicos e um par de cromossomos sexuais (X, Y no homem e X,

X na mulher). Logo, cada célula somática normal possui 46 cromossomos (diploide). Os gametas são haplóides, ou seja, tem 23 cromossomos, sendo apropriado visto que após a fecundação um zigoto diplóide é gerado (SCHRANK, 2014).

4.2 LEGISLAÇÃO

De acordo com o Código Penal Brasileiro, no artigo 213 (na redação dada pela Lei nº 12.015, de 2009) estupro pode ser definido por constranger alguém, mediante violência ou grave ameaça, a ter conjunção carnal ou a praticar ou permitir que com ele se pratique outro ato libidinoso. É classificado como um crime hediondo, que pode ser praticado juntamente com violência real (agressão) ou presumida (quando praticado contra menores de 14 anos, alienados mentais ou contra pessoas que não puderem oferecer resistência). No Brasil a pena é de 6 a 10 anos de reclusão para o autor do crime, podendo aumentar de 8 a 12 anos se houver alguma lesão corporal na vítima ou se ela tiver entre 14 e 18 anos de idade, e de 12 a 30 anos, se o crime resultar em morte (BENIGNO, 2019).

O DNA pode oferecer uma individualização extremamente única e segura, quando usado como ferramenta no âmbito criminal. Ele proporciona evidências que podem provar, inocentar ou indiciar culpados. O uso desta tecnologia de reconhecimento ganhou destaque e com isso foi proposto o projeto de Lei nº 417, que sugere a inclusão da análise de DNA nos casos de identificação criminal, assim como os processos datiloscópico e fotográfico na Lei nº 10.054. A Lei nº 12.654, de 28 de maio de 2012 possibilitou que o programa de gerenciamento de perfis genéticos fosse usado no Brasil, permitindo que a genética forense auxiliasse a justiça a combater crimes tão cruéis. Portanto, esta lei é a responsável por inserir no ordenamento jurídico pátrio uma nova forma de identificação criminal, colocando a datiloscopia, fotografia e a identificação genética como suplementos para elucidação desses casos (HAMMERSCHMIDT; GIACOIA, 2012).

Conforme a Lei nº 12.654, todas as informações que estão no Banco de Dados de Perfis Genéticos são sigilosas, garantindo a privacidade e confidencialidade exigida pela Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. As informações genéticas armazenadas nos BNPG não poderão revelar traços somáticos ou comportamentais das pessoas, exceto determinação genética de gênero, consoante

as normas constitucionais e internacionais sobre direitos humanos, genoma humano e dados genéticos (art. 5º-A, § 1º, Lei nº 12.037/09). Infelizmente no Brasil, os crimes sexuais são os mais eficazes para demonstração da excelente utilidade dos bancos de perfis genéticos. A fim de regulamentar a Lei nº 12.654/2012 foi assinado o Decreto nº7.950/2013 que estabelece o uso do Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG) e a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) usados para o armazenamento dos dados coletados e compartilhamento/comparação dos perfis genéticos, respectivamente (HAMMERSCHMIDT; GIACOIA, 2012).

Esta lei tem um critério de inclusão para condenados, ou seja, será incluído no BNPG autores de crimes hediondos e crimes violentos contra a vida, levando em consideração a probabilidade de reincidência desses criminosos e por esse tipo de delito deixar vestígios biológicos.

Por fim, a Lei nº 12.654/12 acrescentou o art. 9º- A (com dois parágrafos) à Lei de Execução Penal:

Art.9º - A. Os condenados por crime praticado, dolosamente, com violência de natureza grave contra pessoa, ou por qualquer dos crimes previstos no art.1º da Lei 8.072, de 25 de julho de 1990, serão submetidos, obrigatoriamente, à identificação do perfil genético, mediante extração de DNA –ácido desoxirribonucleico, por técnica adequada e indolor. § 1º A – A identificação do perfil genético será armazenada em banco de dados sigiloso, conforme regulamento a ser expedido pelo Poder Executivo. § 2º A – A autoridade policial, federal ou estadual, poderá requerer ao juiz competente, no caso de inquérito instaurado, o acesso ao banco de dados de identificação de perfil genético. (HAMMERSCHMIDT; GIACOIA, 2012)

Ou seja, os condenados por crimes praticados dolosamente, com violência de natureza grave ou hediondos, a identificação do perfil genético é obrigatória com técnicas adequadas e que não causem dor/desconforto ao criminoso.

Porém, existe um olhar a respeito desta lei que deve ser registrado, segundo a Carta Maior no Art.5º como garantias fundamentais de todo cidadão consta a) não ser considerado culpado até o trânsito em julgado de sentença penal condenatória (LVII); b) quando preso, ser informado de seus direitos, entre os quais o de permanecer calado (LXIII). Com isso, essas garantias constitucionais permitem não produzir provas contra si, direito implícito na CF/88 é expresso no Art.8.2 da Convenção

Americana de Direitos Humanos, toda pessoa tem direito de não ser obrigada a depor contra si mesma nem a confessar-se culpada. Deste modo, obrigar que uma pessoa forneça seu DNA para que seja feito um perfil genético mesmo que de forma ética (técnicas corretas e sem dor) é constrangê-la a produzir prova contra si mesma (HAMMERSCHMIDT; GIACOIA, 2012).

4.3 A REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS

Como já mencionado acima a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) surgiu da iniciativa conjunta do Ministério da Justiça e Segurança Pública e das Secretarias de Segurança Pública Estaduais tendo como objetivos manter, compartilhar e comparar perfis genéticos a fim de ajudar na apuração criminal e propiciar o intercâmbio de perfis genéticos de interesse da Justiça, obtidos em laboratórios de perícia oficial (BRASIL, s.d.).

Os perfis genéticos são confrontados em busca de coincidências que pretendem juntar o suspeito ao local de crime ou diferentes locais de crime, por meio do processamento de amostras de material biológico (fios de cabelo, sangue, saliva). Os perfis são inseridos na rede integrada de banco de perfil genético, que é composta por um software CODIS (combined DNA index system) criado pelo Federal Bureau of Investigation (FBI) com o intuito de identificar autores de crimes de violência sexual ou pessoas desaparecidas, comparando seus perfis genéticos (FBI, s.d.).

A partir da lei 12.654, pessoas condenadas por crimes de violência de natureza grave como homicídios, latrocínio, sequestro e estupro são obrigadas a terem seu perfil genético cadastrado no RIBPG. No caso de pessoas desaparecidas ou pessoas com identidade desconhecida, são utilizados como material genético restos mortais e são confrontadas essas amostras com as de perfis de familiares ou de referência direta do desaparecido/ desconhecido (escova de dente ou roupas íntimas) (MINISTÉRIO DA SEGURANÇA PÚBLICA, 2018).

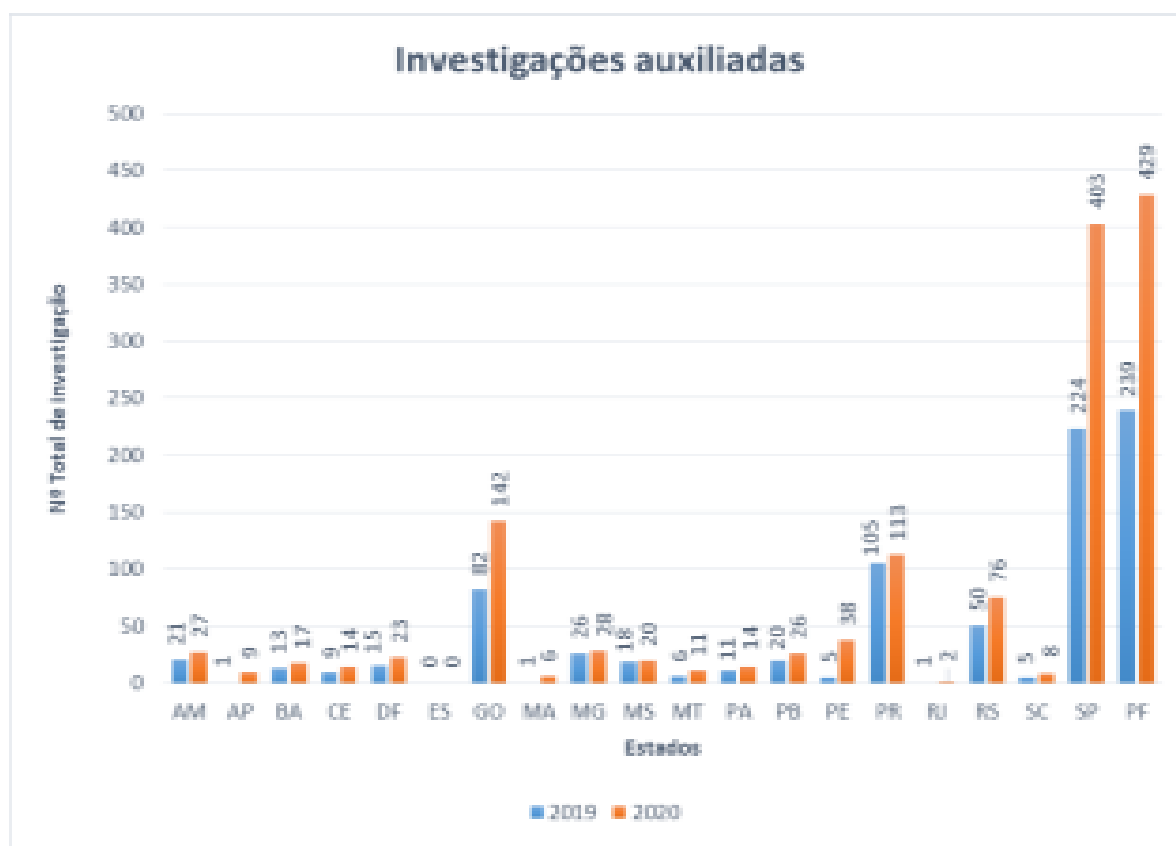
É garantido pela legislação vigente que a comparação de amostras e perfis genéticos doados voluntariamente por parentes de pessoas desaparecidas serão utilizadas exclusivamente para a identificação da pessoa desaparecida, sendo vedado seu uso para outras finalidades. Como citado anteriormente, a lei nº 12654/2012, de

28 de maio de 2012, determina que as informações genéticas contidas nos bancos de dados de perfis genéticos não poderão revelar traços somáticos ou comportamentais das pessoas, exceto determinação genética de gênero. De fato, o perfil genético é obtido a partir de regiões não-codificantes do DNA, sendo incapaz de revelar qualquer característica física ou de saúde. A única aplicação é a individualização (MINISTÉRIO DA SEGURANÇA PÚBLICA, 2018).

Cada estado faz a adesão à rede para criar o banco nacional. Assim os estados conseguem compartilhar e comparar os perfis genéticos obtidos em diferentes regiões do país. Os perfis genéticos gerados pelo RIBPG são enviados rotineiramente ao Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG) onde acontece o confronto dos perfis de forma nacional e através da Interpol de forma internacional. Até 2021, 100 mil perfis já haviam sido cadastrados no RIBPG, sendo cerca de 75 mil condenados e 16 mil vestígios de local de crime (MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA, 2021).

No ano de 2020, o Ministério da Justiça investiu mais de R\$ 80 milhões no trabalho do banco de perfis, numa ação conjunta entre a Secretaria Nacional de Segurança Pública (Senasp), a Polícia Federal e as Secretarias de Segurança Pública Estaduais para o compartilhamento de perfis genéticos obtidos em laboratórios de Genética Forense. Em 2019, o investimento foi de R\$ 35 milhões. Neste intervalo de tempo, o departamento da Polícia Federal (PF), o Instituto de Criminalística de São Paulo (SP) e Superintendência de Polícia Técnico-Científica de Goiás foram os que mais tiveram investigações auxiliadas pelo banco de dados, com o aumento da inclusão de amostras cadastradas, esperasse que esse número continue aumentando em outros laboratórios do Brasil (Gráfico 1) (SOUZA *et al.*, 2019).

Gráfico 1 - Total de investigações auxiliadas pelo BNPG no Brasil entre 2019 e 2020



Fonte: Souza *et al.* (2019)

A Rede Integrada de Bancos de Perfil Genéticos já conta com 20 laboratórios estaduais, um no Distrito Federal e um na Polícia Federal (MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA, 2021). A Superintendência da Polícia Científica do Estado de São Paulo usa em seu laboratório de genética o software CODIS criado pelo FBI com o intuito de identificar autores de crimes de violência sexual ou pessoas desaparecidas. Comparando seus perfis genéticos a Superintendência já conseguiu os seguintes dados. De acordo com informações colhidas junto da Superintendência da Polícia Científica de São Paulo – Núcleo de Genética Forense, os dados atuais do CODIS em 2022 foram de:

- 93 coincidências (matches), ou seja, vestígios com autor = condenado pelo crime;
- 1.195 coincidências entre vestígios coletados de vítimas, porém sem autor;
- 197 vestígios com condenados.

4.4 BACKLOG DE VESTÍGIOS DE CRIMES SEXUAIS

O projeto de processamento de Backlog de vestígios de crimes sexuais foi criado em 2018-2019 pelo Comitê Gestor da Rede Integrada de Bancos de Perfil Genético (RIBPG). O projeto visa o processamento passivo de mais de 150 mil amostras biológicas de crimes sexuais que aguardam análise nas perícias do país (MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA, 2021).

Já foi iniciado em vários estados o processamento das amostras de crimes sexuais, alvo deste projeto. Em São Paulo, a Superintendência da Polícia técnico-científica trabalha em parceria com o projeto bem-me-quer, processando amostras biológicas armazenadas desde 2001 na criação do programa. A Polícia Científica do Paraná, por meio do projeto Backlog, fez o processamento completo de mais de 2 mil vestígios (amostras de DNA) relacionados a casos de violência sexual no Laboratório de Genética Molecular Forense (LGMF) (COMVCPORTAL, 2022).

A inserção destes perfis genéticos nos bancos de dados da RIBPG possibilitará que investigações de crimes sexuais sejam auxiliadas, bem como que possíveis condenações equivocadas possam ser revistas (BRASIL, s.d.).

4.5 GENÉTICA FORENSE

A genética forense é uma ciência que evoluiu muito nos últimos anos e tem como objetivo a identificação genética em materiais biológicos com o intuito investigacional criminalístico, determinação de parentesco e determinação individual que pode ser feita em cadáveres. As amostras usadas, geralmente, são coletadas no local do crime ou na vítima. No caso do estupro é muito comum ser usado como vestígio o sêmen, que após o ato fica alojado na vítima. Esse DNA/material genético pode ser encontrado em qualquer célula que tenha núcleo, sendo única de cada pessoa (SILVA; MOURA, 2015).

As técnicas usadas baseiam-se no polimorfismo do DNA das regiões não codificantes do genoma humano, que apresentam regiões em tandem (sequências de DNA não codificante que se repetem) que permitem a individualização através do número de repetições que cada ser humano pode ter em um locus no cromossomo.

As repetições podem ser longas (satélites), curtas (minissatélites) ou muito curtas (microssatélites). Os microssatélites são chamados também de Short Tandem Repeats (STRs), são importantes nessas análises por não estarem relacionados a síntese de proteínas, por sofrerem recombinação genética (são capazes de produzir combinações de genes diferentes dos seus originais) proporcionando uma enorme variabilidade genética, exceto os STRs dos cromossomos Y e DNA mitocondrial (haploides) que têm essa capacidade reduzida (SILVA; MOURA, 2015).

A individualização do ser humano é dada pelo número dessas repetições, visto que as sequências de DNA codificante (ligadas a síntese de proteínas) são quase iguais para todos os indivíduos. Os STRs possuem alelos com tamanhos parecidos facilitando a análise em multiplex (ao mesmo tempo). Outro ponto relevante é que seus produtos de amplificação são pequenos facilitando a análise de amostras degradadas (CUNHA, 2019).

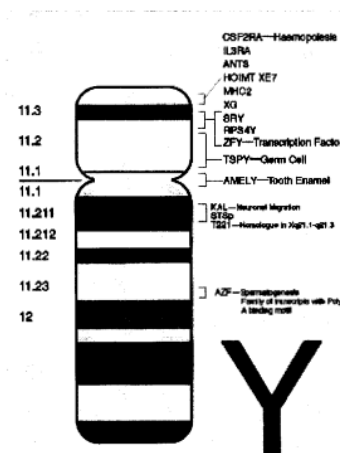
A genética forense criminal segue um padrão de procedimentos, sendo eles recebimento e observação do material biológico, descrição, identificação da natureza da amostra, extração do DNA, amplificação da molécula por meio da técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), análise dos produtos amplificados e dos resultados (comparação dos perfis genéticos- amostras problemas com amostras referências) e elaboração do laudo final (CUNHA, 2019).

Como primeiro procedimento com os STRs autossômicos é realizado a análise simultânea de 15 loci e a Amelogenina (proteína localizada no esmalte dental utilizada na identificação do gênero). Os principais kits usados são o AmpFISTR® Identifier™ (Applied Biosystems) e o Powerplex®16 (Promega) que levam em consideração novos polimorfismos e o uso de amostras degradadas com STRs extremamente pequenos proporcionando melhores resultados (CUNHA, 2019).

O sêmen é composto pela junção dos líquidos uretral, prostático, seminal que são excretados por glândulas e dos espermatozoides que são produzidos pelos testículos (SILVA; MOURA, 2015). Esse líquido viscoso é constituído de 99% do líquido adicionado pelas glândulas seminais e da próstata e 1% de espermatozoides (TAMAI, 2015). O cromossomo Y representa apenas 2% do genoma masculino e é o segundo menor cromossomo (60Mb de comprimento). Seu braço longo é formado por heterocromatina polimórfica cujo tamanho varia para cada indivíduo onde ficam

localizados os STRs, já o restante das estruturas é formado por eucromatina (SILVA; MOIRA, 2015).

Figura 4 - Representação esquemática do cromossoma Y humano, com alguns dos seus genes assinalados



Fonte: Rebelo (2003)

No âmbito médico-legal a utilização do cromossomo Y é de extrema importância. Desde que começou a ser usado com essa finalidade, foram empregadas diversas técnicas moleculares para tentar auxiliar a lei com a identificação correta de um indivíduo. Uma das técnicas já utilizadas para essa diferenciação de sexo (entre exsudatos vaginais e vestígios masculinos) tinha como base sondas para sequências da região não codificante, heterocromatina do braço longo, mas havia algumas limitações como identificar cromossomos Y sem essa região (apresentam alguma deleção) o que pode ser comum em homens normais ou até mesmo pode ser presente em mulheres portadoras da Síndrome de Turner ocasionando uma taxa alta de resultados incorretos (REBELO, 2003).

A “Alphoid Satellite Family” (Família Satélite Alfoide) é um conjunto de sequências localizadas nas regiões pericentroméricas, que no cromossomo Y, tem repetições com um número superior que podem ser detectadas por enzimas de restrição produzindo um fragmento com tamanho específico onde podem ser usados sondas para sua identificação (REBELO, 2003).

4.6 EXAME PSA (ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO)

O exame de Antígeno Prostático Específico mais conhecido como PSA tem como objetivo a detecção de uma glicoproteína com função de enzima, uma protease produzida exclusivamente pelas células epiteliais da próstata (INSTITUTO DA PRÓSTATA, 2023).

O procedimento mais comum utilizado para detectar e identificar sêmen é a citologia do espermatozoide, porém em alguns casos a sua detecção não é possível, como por exemplo, se o autor do crime tiver utilizado preservativo, se não ocorrer penetração vaginal/ anal, penetração sem ejaculação. Se o autor é oligospermico ou passou por uma vasectomia a detecção do espermatozoide não será possível (PIROLA, 2018).

Por esse motivo o exame de PSA é muito utilizado na elucidação de crimes de violência sexual, é realizado por radioimunoensaio, a técnica se baseia em anticorpos conjugados com radioisótopos que competem ligação com os antígenos da amostra, seguido de uma quantificação e é utilizado para identificar a presença de fluidos seminal independente da presença de espermatozoide, além de ser considerado um exame de alta eficácia (PIROLA, 2018).

4.7 EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA pode ser retirado de várias amostras, como sangue, saliva, fio de cabelo, sêmen entre outros. A integridade deste material depende da maneira que foi extraído ou de como ficou exposto a fatores ambientais e de composição corporal. Após a coleta, esse DNA será isolado de outras substâncias celulares que podem comprometer a avaliação. Para começar o processo de extração celular é importante que seja levado em consideração o tipo de amostra a ser usada, mas no geral o processo se dá por lise celular, seguida de remoção das proteínas celulares precipitadas e por último a precipitação do DNA (CUNHA, 2019).

O método mais tradicional envolve o fenol e o clorofórmio, dois solventes orgânicos, que conseguem remover os resíduos de proteínas do DNA, garantindo uma alta purificação do mesmo e com um custo baixo, entretanto, a desvantagem deste

método é a demora do processo. A técnica que envolve a lise celular baseia-se em lise seguida de desnaturação ou inativação das proteínas usando a proteinase K. Usa-se solventes orgânicos para que o DNA possa ser separado de macromoléculas e, posteriormente, precipitado em etanol (CUNHA, 2019).

Outra técnica que poderia ser usada é a resina magnética, onde uma resina paramagnética captura uma quantidade de DNA. Por ter uma capacidade definida de se ligar a ele, portanto, não importa quanto a amostra tenha de material genético a resina se ligará sempre a mesma quantidade já definida. Em seguida, é usado um ímã para retirar essas partículas das amostras (CUNHA, 2019).

4.8 TÉCNICA DE LISE DIFERENCIAL

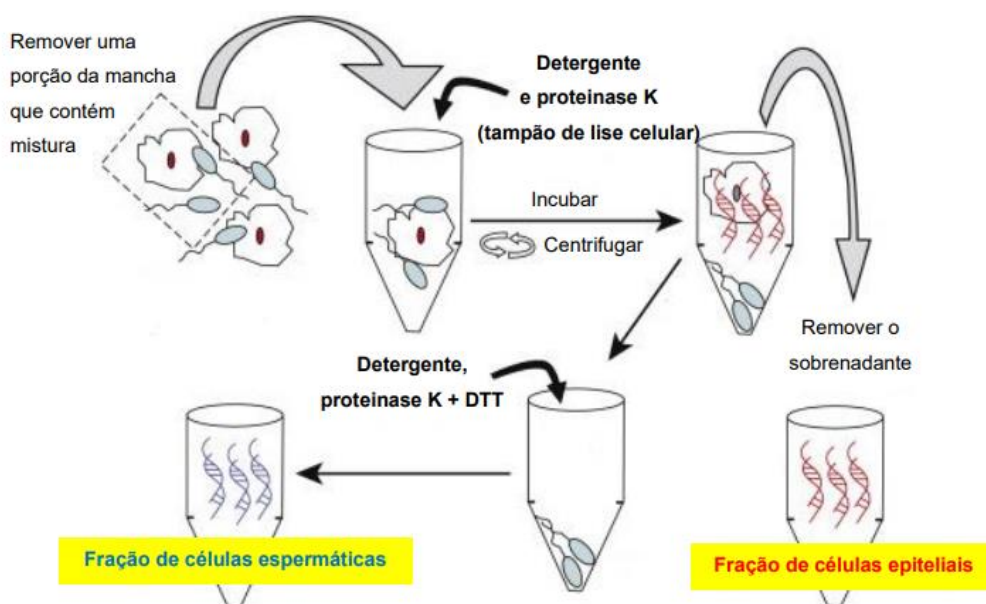
A técnica de Lise diferencial é um método tradicional comumente usado nos laboratórios de crimes forenses para isolar frações celulares masculinas e femininas em casos de crimes de violência sexual, separando a fração masculina do perfil do DNA da vítima (BUTLER, 2009; CUNHA, 2019).

O processo de lise diferencial funciona da seguinte maneira: em primeiro lugar, o material biológico é incubado em uma solução tampão. Essa solução vai desestabilizar as membranas, permitindo a ruptura da parede celular. A solução é uma mistura de um detergente, o dodecil sulfato de sódio (SDS), com uma proteinase K. O detergente irá agir como um desnaturante proteico, usado para romper as paredes celulares e dissociar os complexos entre os ácidos nucléicos e as proteínas. A proteinase K (enzima com atividade proteolítica) permite inativar nucleases endógenas e impedir a degradação do DNA. Após a incubação, as células epiteliais femininas e masculinas são lisadas e passam por um processo de centrifugação, onde as células espermáticas sedimentam (pellet) intactas à ação da protease (GOODWIN; LINACRE; HADI, 2010; BUTLER, 2012; MCKIERNAN; DANIELSON, 2017; CUNHA, 2019).

Na segunda fase, o sobrenadante é removido para outro tubo, retirando a parte das células epiteliais (a fração não espermática). O tubo original, onde ainda se encontra a fração espermática (pellet) após a centrifugação, é lavado várias vezes para remover possíveis vestígios de DNA feminino. Após isso, é necessário adicionar

à solução de lise um agente redutor, o ditioneitol (DTT), que quebra as ligações de dissulfeto e libera o DNA dos espermatozoides. Ao separar a amostra em duas frações, pode-se aumentar a probabilidade de obter um perfil autossômico masculino isolado na fração espermatozoide, facilitando a interpretação dos resultados (Figura 5) (GOODWIN; LINACRE; HADI, 2010; BUTLER, 2012; MCKIERNAN; DANIELSON, 2017; CUNHA, 2019)

Figura 5 - Esquema do processo de lise diferencial



Fonte: Cunha (2019)

4.9 PCR – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

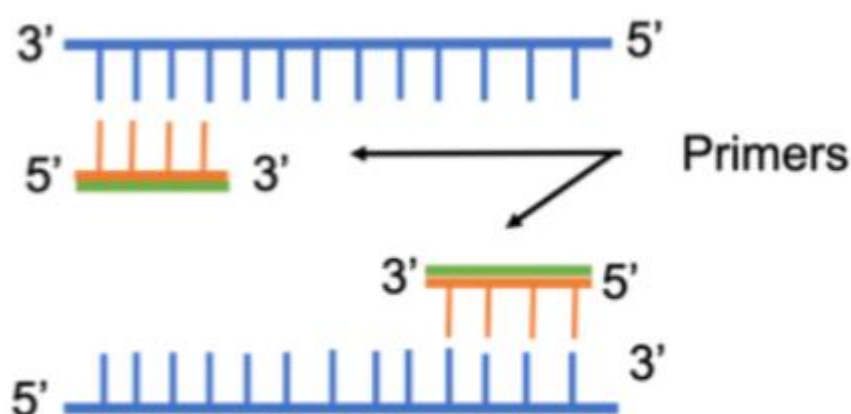
Essa técnica foi desenvolvida por R. K. Saiki e colaboradores no ano de 1985 e realiza a amplificação de um fragmento específico de DNA (sequência alvo) a partir de uma sequência heterogênea de DNA, utilizando oligonucleotídeos complementares a uma região alvo específica de ambas as fitas do DNA de interesse (chamado também de DNA molde). A enzima utilizada nesse processo é chamada de DNA polimerase que irá direcionar os precursores de DNA, ou seja, é a responsável por sintetizar uma nova fita com base na fita molde acrescentando nucleotídeos na extremidade 3' da fita (posição terminal). A mais usada é chamada de *Taq polimerase*

que é mais ativa aos 70°C, o que facilita sua utilização visto que um dos processos dessa reação envolve o aquecimento da molécula (VIEIRA, s.d.).

Essa técnica é dividida em 3 etapas sendo elas a desnaturação (onde ocorre o aquecimento do DNA em uma temperatura acima de 90°C, proporcionando a quebra das pontes de hidrogênio e separação das fitas complementares), hibridização (resfria a reação para que os primers possam se ligar as suas sequências complementares) e polimerização (ocorre novamente o aquecimento da reação para que a *Taq polimerase* possa agir sintetizando novas fitas de DNA) (VIEIRA, s.d.).

A PCR utiliza reagentes específicos pré padronizados para cada tipo de análise, com isso podem ser usados diversos kits que existem hoje no mercado, facilitando a rotina e qualidade de um laboratório forense. O primeiro reagente que será usado na reação, é chamado de primer, que são formados por pequenas sequências de DNA com geralmente 20 nucleotídeos, que irão se ligar as extremidades do DNA molde sinalizando onde irá acontecer a amplificação. São usados dois primers na reação, o primer forward no sentido 5'-3' e o primer reverse no sentido 3'-5' que se ligará ao final da sequência alvo', para garantir que a região que será copiada esteja englobada completamente, sem a perda de nenhum nucleotídeo (Figura 6). O desenho dos primers pode ser feito por programas que hoje em dia garantem a qualidade da reação (VIEIRA, s.d.).

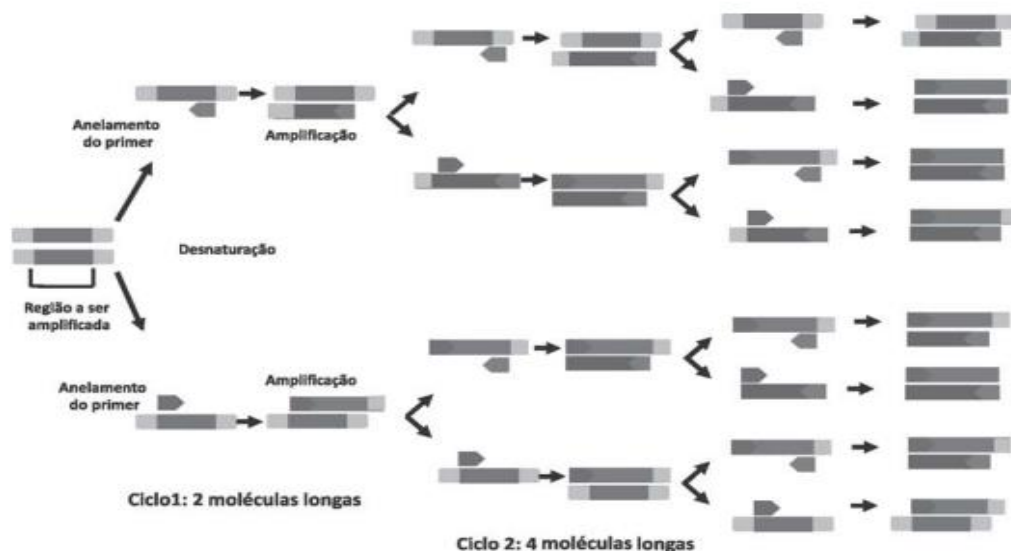
Figura 6 - Exemplo visual da ligação dos primers com a fita de DNA



Uma característica que deve ser levada em consideração durante a montagem dos primers é a temperatura de melting (T_m) que pode ser calculado com a equação $2(A+T) + 4(C+G)$ onde A corresponde a quantidade de adenina, T de timina, C de citosina e G de guanina no primer. Esse fator indica a temperatura em que 50% dos pares base do DNA dupla fita estão separados em fita simples, com isso os primers usados devem ter o ponto de fusão médio iguais ou muito próximos para evitar que ocorra primer-dimers, ou seja, os primers ficam anelados entre si, impedindo o funcionamento da amplificação. Com o valor de T_m , é possível chegar no valor de T_a que corresponde a temperatura ideal para a reação. Uma observação importante é que a temperatura da reação é diretamente afetada pela concentração de íons Na^+ na solução, que se for acima do ideal, pode precipitar os primers no fundo do tubo, prejudicando a reação (VIEIRA, s.d.).

Para definir a sequência dos primers é necessário conferir a probabilidade de formação de Primer-dimers (anelamento forward/reverse), Self-dimers (anelamento forward/forward ou reverse/reverse) ou hairpins (quando a cadeia do primer se dobra e ela anela com ela mesma), visto que essas situações podem interferir no resultado final da reação de PCR. A desnaturação é a etapa inicial do processo, consiste na incubação do DNA em altas temperaturas (entre 92°C e 95°C) onde o objetivo é separar a dupla fita em fita simples. Em seguida, ocorre o anelamento dos primers (que estão em maior concentração na reação) na fita simples (que não volta ser fita dupla porque está em menor quantidade). Para que isso ocorra a temperatura é diminuída gradualmente ficando em torno de 50°C e 65°C para que o pareamento seja possível e a sequência alvo seja evidenciada. A última etapa é a amplificação, onde a enzima polimerase irá sintetizar novas fitas do DNA alvo adicionando nucleotídeos nas extremidades 3' dos primers. Ocorre com a temperatura em torno dos 72°C que garante o bom funcionamento da enzima (Figura 7) (VIEIRA, s.d.).

Figura 7 - Reação em cadeia da polimerase



Fonte: Vieira (s.d.)

Em casos forenses, utiliza-se a técnica de PCR para amplificar as Repetições Curtas em Tandem (STRs) que são sequências curtas repetidas de DNA (2-6 pares de bases) que representam aproximadamente 3% do genoma humano (LANDER *et al.*, 2001), mas que proporciona individualidade para cada pessoa visto que são responsáveis pela variabilidade genética. Essa região é o alvo da reação, porque com os resultados obtidos é possível obter o perfil genético do agressor (VIEIRA, s.d.).

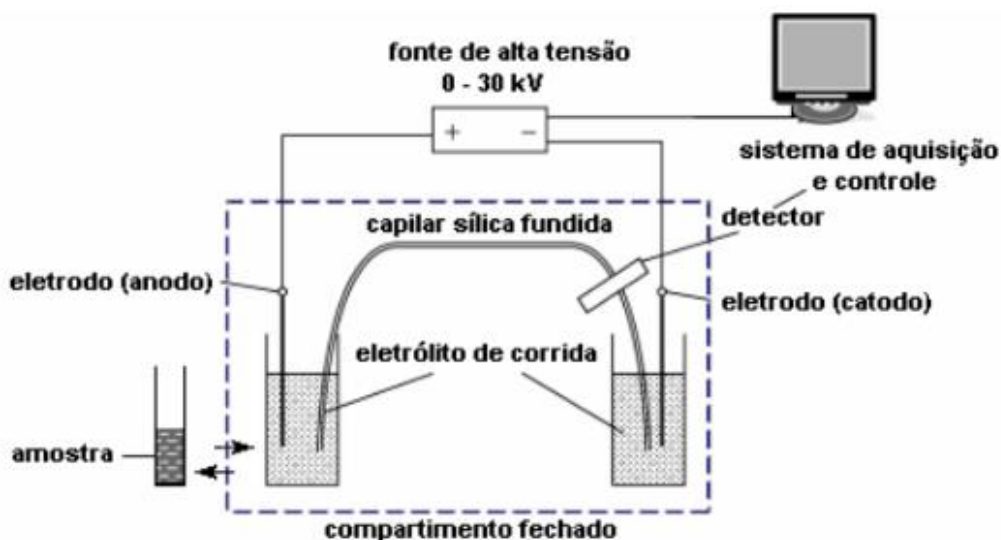
4.10 ELETROFORESE CAPILAR

Após a PCR, as frações amplificadas de DNA são submetidas a eletroforese capilar que consiste em uma técnica de separação baseada na diferença de migração de compostos iônicos ou ionizáveis na presença de um campo elétrico. Ao longo dos anos essa técnica foi sendo aprimorada e foi implementado o uso de colunas capilares. O uso do capilar oferece muitas vantagens sobre os outros meios utilizados para eletroforese (placas de gel, papel, etc). Devido a fatores geométricos, um capilar possibilita a dissipação eficiente do calor gerada pela passagem da corrente elétrica (efeito Joule) (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012).

A grande vantagem de se usar a eletroforese capilar ao invés de outros tipos de eletroforeses são que, as etapas de injeção, separação e detecção podem ser totalmente automatizadas, permitindo que várias amostras sejam executadas sem supervisão. Além disso, apenas pequenas quantidades de amostra (1-10nL) são consumidas no processo de injeção, deixando amostra suficiente para ser facilmente retestada, se necessário. Esta é uma importante vantagem para amostras forenses que muitas vezes não podem ser facilmente substituídas (BUTLER, 2009).

O sistema compreende em uma fonte de alta tensão, capilares (sílica fundida é o material mais comumente empregado), eletrodos (geralmente platina), e um detector apropriado. Uma fonte de alta tensão é utilizada para estipular um campo elétrico ao longo do capilar. Essas fontes podem, geralmente, ser operadas à voltagem constante ou corrente constante, com valores típicos de voltagem no intervalo de 0 – 50 kV e corrente de 0 – 200 uA. O operador é protegido contra um possível contato acidental com a alta voltagem pela inserção do sistema inteiro, ao menos o terminal de alta voltagem, em uma caixa de acrílico, equipada com chaves de segurança. A fonte de alta tensão é conectada, através de eletrodos de platina, a dois reservatórios, comportando uma solução de um eletrólito conveniente. Tubos capilares de sílica fundida são então ocupados com a solução e servem como canal de migração. As extremidades do capilar são submersas nos reservatórios da solução para completar o contato elétrico. Para reduzir os efeitos térmicos, o capilar deve ser conservado à temperatura constante (Figura 8). Há várias possibilidades para termostatização do sistema, envolvendo circulação de um líquido ou ar por intermédio de um cartucho contendo o capilar, além do uso de ventiladores e fornos (TAVARES, 1996).

Figura 8 - Esquema de funcionamento da eletroforese capilar



Fonte: Tavares (1996)

As moléculas de DNA apresentam carga negativa (iniciam o processo no anodo) e migram para o polo positivo (catodo). As amostras são analisadas por um programador (como por exemplo o Data Collection) que capta a fluorescência e transfere para um conversor que irá mostrar a posição e o tamanho das sequências anteriormente amplificadas. Dito isso, o resultado se baseia na comparação entre as posições da amostra com a posição de um fragmento conhecido, como por exemplo o material genético do suspeito (TAVARES, 1996).

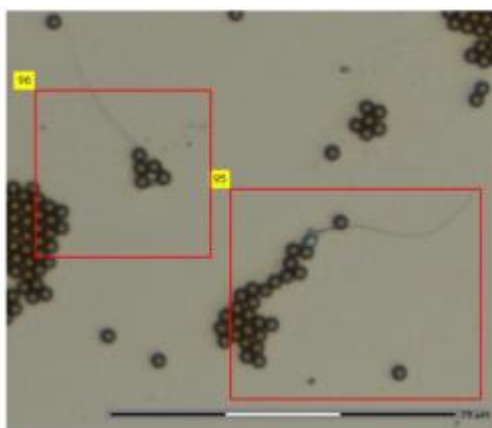
4.11 GRÂNULOS IMUNOMAGNÉTICOS REVESTIDOS COM ANTICORPO ANTI-PH20 (IMB ANTI-PH20)

Segundo alguns autores, como Hung, essa técnica também pode ser usada para realizar o isolamento do espermatozoide de amostras vaginais das vítimas. Em primeiro momento é preparado grânulos magnéticos revestido com anticorpo anti-PH20, que é uma hialuronidase (facilita a penetração do espermatozoide na zona pelúcida) ligada a um glicosilfosfatidilinositol (responsável por ancorar proteínas na membrana celular). Esse complexo se liga à cabeça do espermatozoide possibilitando

seu isolamento das células epiteliais que podem estar contaminando a amostra (figura A, B e C) (ZHAO *et al.*, 2016).

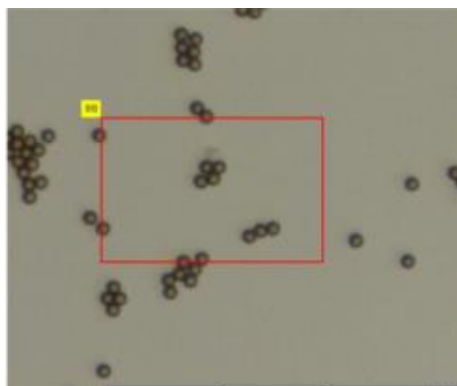
Após a ligação do IMB anti-pH20 com o espermatozoide, é feita uma incubação deste material com a DNase I que será responsável por clivar as ligações fosfodiéster do DNA. Em seguida, é realizada uma eletroforese capilar que fornecerá um perfil genético com os STR do suspeito (ZHAO *et al.*, 2016).

Figura 9 - Microscopia óptica do IMB ligado a um espermatozoide intacto



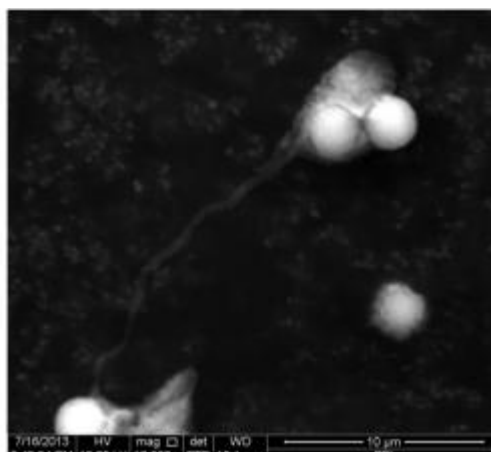
Fonte: Zhao *et al.* (2016)

Figura 10 - Microscopia óptica para IMB ligado ao esperma sem cauda



Fonte: Zhao *et al.* (2016)

Figura 11 - Microscopia eletrônica de varredura para IMB ligado à cabeça de um espermatozoide intacto



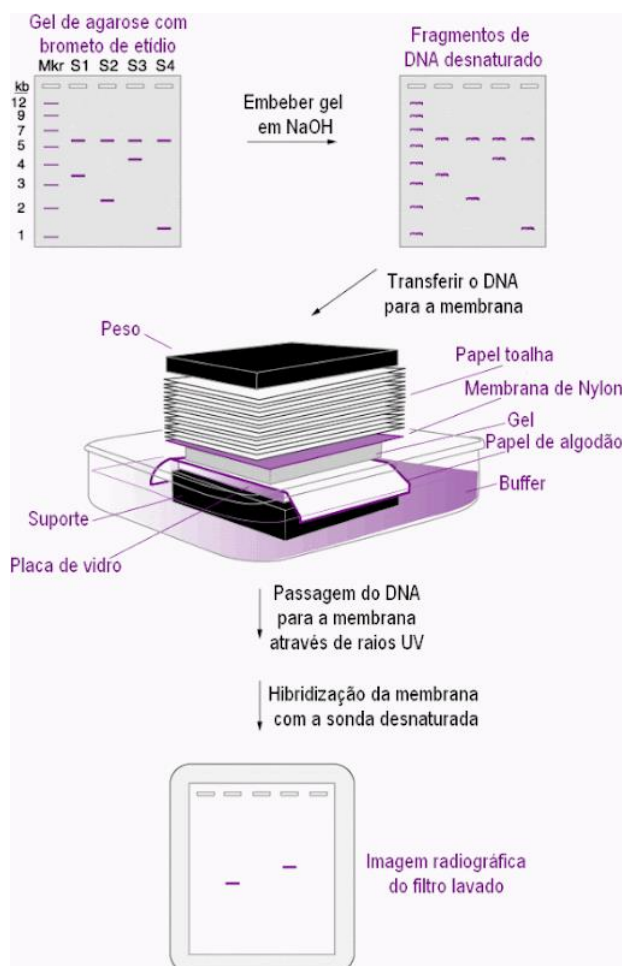
Fonte: Zhao *et al.* (2016)

4.12 SOUTHERN BLOT

A tipagem dos microssatélites era feita utilizando a técnica *Southern*, que tem como fundamento identificar ou não a presença de DNA na amostra. Em primeiro momento é necessário a preparação do gel que será usado na eletroforese, então, coloca-se uma solução alcalina para que possa promover a desnaturação do DNA para que, durante o procedimento, a sonda possa parear com a fita simples e criar aderência à membrana. Feito isso, uma membrana de nitrocelulose (ou nylon) é colocada em cima do gel, onde o DNA ficará aderido. Após essa junção a membrana passará por um processo de aquecimento (se for nitrocelulose) ou exposição a luz ultravioleta (caso seja nylon) para que a ligação DNA e membrana ocorra da melhor forma (CÂMARA, 2010).

A membrana então passa por um tratamento com uma sequência de DNA conhecida chamada de sonda hibridizadora com marcadores de imunofluorescência que é complementar ou igual a sequência da amostra. O excesso de sonda é lavado e somente quem se ligou ao DNA da amostra fica na membrana. Em seguida, ela passa por uma autorradiografia que irá revelar os resultados (Figura 12). Caso não haja pareamento, a sequência desejada não está presente. O resultado mostra onde as sequências de DNA estão ou não na amostra, ou seja, onde o DNA foi clivado pela enzima (CÂMARA, 2010).

Figura 12 - Esquema de funcionamento do *Southern Blot*

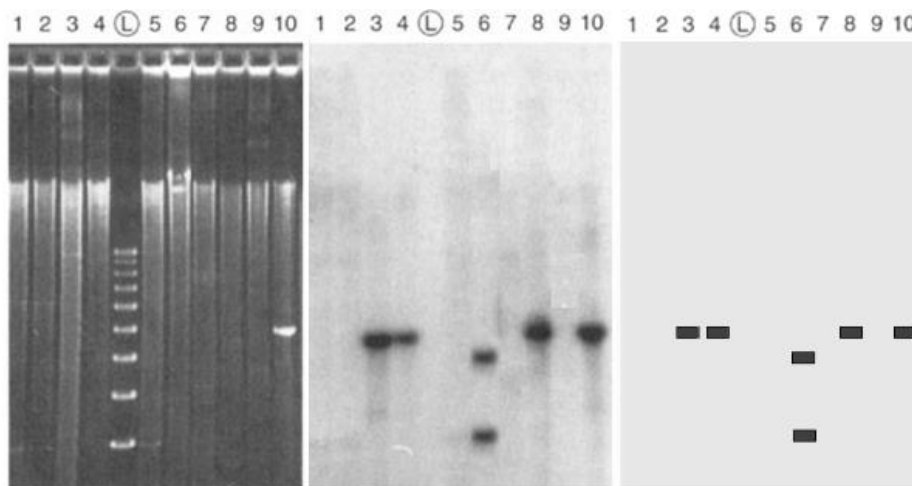


Fonte: Câmara (2010). Disponível em: <https://www.biomedicinapadiao.com.br/2010/06/southern-blot.html>.

A imagem a seguir demonstra como é visualizado o resultado. Neste caso, a primeira imagem é um painel eletroforético corado com brometo de etídeo, com a amostra digerida por endonuclease de restrição. A segunda é o autorradiograma *Southern Blot* do mesmo gel e a terceira imagem se trata da localização e presença das sequências desejadas, além de mostrar o tamanho de cada banda. A sonda utilizada foi feita a partir do DNA alvo e está localizada na linha de número 10 (que durante o processo fez o anelamento com ela mesmo). A presença de uma banda demonstra uma sequência de DNA homóloga à sonda (o caso das linhas 3 e 4) e a ausência de banda indica que não havia a sequência na amostra (linhas 1, 2, 5 e 9). No caso da linha 6, a sequência está presente, entretanto, tem 2 sítios de restrição,

por isso aparecem dois fragmentos. Essa obtenção de resultado indica que a técnica deu certo, confirmando e negando a presença de uma sequência de DNA alvo (CARR, 2008).

Figura 13 - Resultados obtidos após a realização da técnica



Fonte: Carr (2008). Disponível em: https://www.mun.ca/biology/scarr/Southern_Blot_analysis.html.

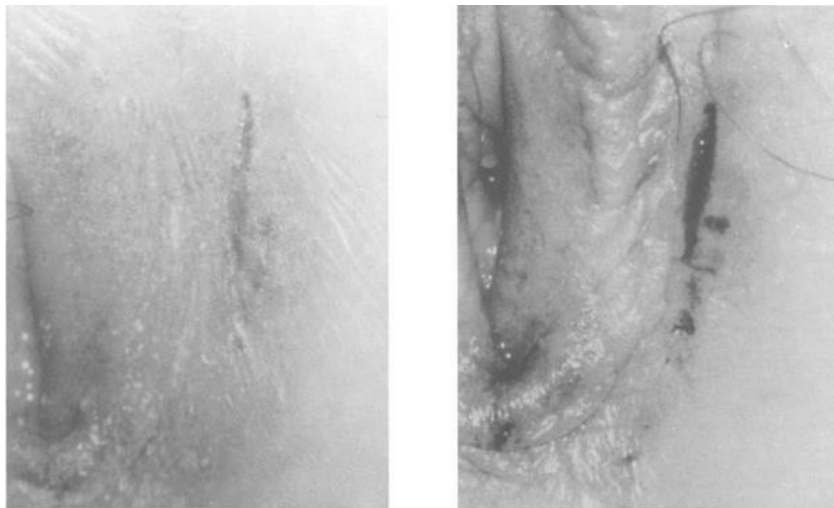
Apesar da técnica ser muito eficiente em seus resultados, ela exige um custo muito alto e uma quantidade muito grande de DNA na amostra e com boa qualidade, que em casos de crimes sexuais é comum que o vestígio seja escasso ou em condições de degradação. Por ser complexa e com padrões de amostras altos, a PCR acaba sendo mais usada e vantajosa para laboratórios criminais (CARR, 2008).

4.13 AZUL DE TOLUIDINA

Em Washington, D.C foi realizado um estudo com aproximadamente 2 mil mulheres vítimas de estupro onde somente 20% dos casos ocorreram lesões vaginais. No geral os autores chegaram à conclusão que a incidência de lacerações e machucados vaginais variam de 15% a 20% dos casos. Dito isso, Lauber e Souma, em 1982 desenvolveram uma coloração (uma solução aquosa de azul de toluidina a 1%) que ajuda a identificar lacerações no canal vaginal decorrentes de estupro. A coloração é aplicada na fúrcula posterior e no períneo antes da observação com

instrumentos médicos. Em seguida, é feita a pulverização da região com ácido acético com o intuito de retirar o excesso para a observação (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

Figura 14 - Visualização do teste de azul de Toluidina



Legenda: Esquerda: Área genital antes da aplicação do azul de toluidina. Uma laceração linear é visível. Direita: Laceração destacada em azul de toluidina após aplicação do corante e descoloração por pulverização com ácido acético a 1%.
Fonte: Hochmeister *et al.* (1997)

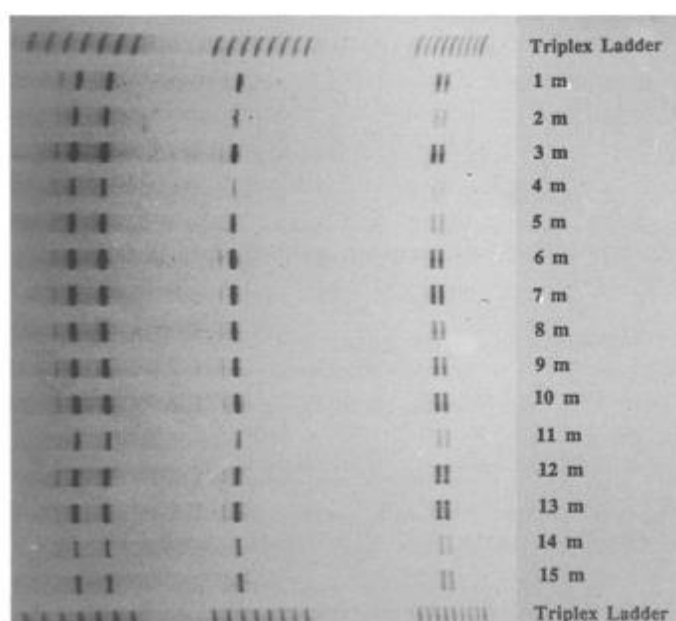
Como pode-se observar na imagem acima, o azul de toluidina evidencia a lesão causada durante o crime. Isso é considerado um resultado positivo, caso contrário é negativo. Esse é um corante nuclear, que teve sua primeira utilização em 1963 para delimitar carcinomas *in situ* e displasias no colo do útero, para que essa técnica seja eficiente é necessária a presença de células nucleadas expostas, ou seja, em um tecido vaginal em contato com o corante (as células escamosas) geram um resultado negativo. Quando esse tecido é lesionado as células da derme profunda (compostas por células nucleadas) são expostas e em contato com o azul de toluidina mostram a laceração (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

Como relações consentidas também podem gerar machucados no canal vaginal, a utilização desse método pode ser questionada por não ser tão conclusivo visto que nem todo estupro gera lesões. Um fato importante sobre o uso desse método é que ele seja aplicado antes de qualquer exame, porque o mesmo pode causar machucados que podem ser interpretados como falsos positivos e ser usado como defesa ou questionamentos perante o júri (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

A grande questão é que esse corante foi considerado espermicida podendo prejudicar a coleta de material genético para identificação do agressor. Com isso os autores do artigo “Effects of Toluidine Blue and Destaining Reagents Used in Sexual Assault Examinations on the Ability to Obtain DNA Profiles from Postcoital Vaginal Swabs” realizaram uma comparação entre o azul de toluidina com outros materiais que podem ser usados para ponderar o prejuízo e vantagens do mesmo. Foram usados o azul de toluidina em solução aquosa e mais 10 tipos de reagentes. Além disso, foram coletadas amostras de sangue venoso de homens e mulheres e armazenados em tubos EDTA, outro material coletado foram swabs vaginais 6 horas após a relação sexual que seriam usados como amostra controle (aproximadamente 14 zaragatoas por doadora) (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

Com isso, cada reagente foi colocado em contato com uma amostra dos swabs. O passo seguinte foi uma extração diferencial e quantificação de DNA em cada amostra pelos métodos slot blot e eletroforese em gel de agarose com brometo de etídeo. Então, os seguintes loci foram identificados: D2S44, D4S139, D5S110, D10S28, H01, TPOX, CSF1PO (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

Figura 15 - Resultados obtidos pelo experimento



Legenda: Perfis de DNA corados com prata dos três amplificados simultaneamente STR loci TH01, TPOX e CSFIPO demonstrando que o azul de toluidina e diferentes reagentes de descoloração não têm efeito na capacidade de obter Perfis de DNA baseados em PCR de zaragatoas vaginais pós-coito. Cada pista apresenta informação genética para três loci. Os perfis mostram as frações masculinas de

esfregaços vaginais após exposição a: Astroglide (1 m), Echotrak (2 m), Omnigel (3 m), Sonotrak (4 m), K-Y Jelly (5 m), Instilla Gel (6 m), Surgilube (7 m), Cathejell (8 m), Lubo Gel ((9 m) Endosgel (10 m), Gleitgelen (11 m), Atarost Vaginal Lubricant (12 m), 10% de ácido acético (13 m), azul de toluidina em solução aquosa a 1% (14 m). A fração masculina de o swab de controle não tratado é mostrado na pista 15 (15 m). A escada STR os alelos (número de repetições) da esquerda para a direita são: TH01: 5,6, 7,8,9,10,11; TPOX: 8,9,10,11,12; CSFIPO: 7,8,9,10,11,12,13,14,15. A digitação resulta de a fração de células espermáticas das zaragatoas vaginais pós-coito são: para TH01; para TPOX; para CSFIPO; e para o DNA de controle alélico K562: 9,3,9,3 para TH01; 8,9 para TPOX; e 9,10 para CSFIPO.
Fonte: Hochmeister *et al.* (1997)

O estudo demonstrou (Figura 15) que o DNA alvo pode ser usado e recuperado de todas as amostras de swab vaginal pós coito após o uso de azul de toluidina em solução aquosa e os outros reagentes usados. Também não foi observada qualquer mudança quanto a qualidade e quantidade de DNA quando comparado aos swabs controle. Com isso, foi concluído que a maior razão do teste não ser utilizado nesses casos é a falta de conhecimento quanto ao uso em exames de agressão, por seus reagentes não serem facilmente distribuídos em kits comumente usados e suspeita de efeitos deletérios no DNA (o que poderia influenciar na identificação de um possível suspeito). Para comprovação da sua aplicação na ciência forense, as amostras expostas anteriormente aos reagentes passaram por RFLP e PCR para tipagem de identidade e foi comprovado que a qualidade destas técnicas não sofreu alteração (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

Para seu uso se popularizar, campanhas para divulgar a aplicabilidade e importância de exames de lesões sexuais devidamente documentadas devem ser realizadas, além de treinamento quanto a interpretação dos resultados positivos e negativos (HOCHMEISTER *et al.*, 1997).

5 ANÁLISES DE CASOS

A utilização do DNA teve início no ano de 1985 para a resolução de um problema de imigração. O caso ocorreu com uma família nascida em Gana, residente na Inglaterra, que decide fazer uma viagem a seu país natal. Quando decidem voltar foram barrados e presos com a alegação de uso de documentos falsos. O médico Alec Jeffreys, que será citado novamente posteriormente, foi convocado pelo governo inglês a analisar amostras dessa família comprovando sua inocência e permitindo que voltassem à Inglaterra, esse caso abriu portas para que casos como os citados neste trabalho fossem resolvidos utilizando a comparação de perfis genéticos na ciência forense.

5.1 CASO LYNDA MANN E DAWN ASHWORTH

Durante o ano de 1983, em Narborough, na Inglaterra, foi encontrado o corpo de Lynda Mann, que na época tinha 15 anos. O crime foi identificado como estupro seguido de morte. A menina foi assassinada logo após o ato, com isso, o estupro havia deixado vestígios no corpo da vítima. A equipe coletou o sêmen do criminoso (KRASTEVA, 2021).

Infelizmente, em 1986, outro corpo foi encontrado na mesma cidade, o da adolescente Dawn Ashworth, que também tinha 15 anos, cujo a pior coincidência era que havia sido assassinada e estuprada como Lynda (Figura 16) (KRASTEVA, 2021).

Figura 16 - Identificação das vítimas Lynda Mann e Dawn Ashworth



Lynda Mann

Dawn Ashworth

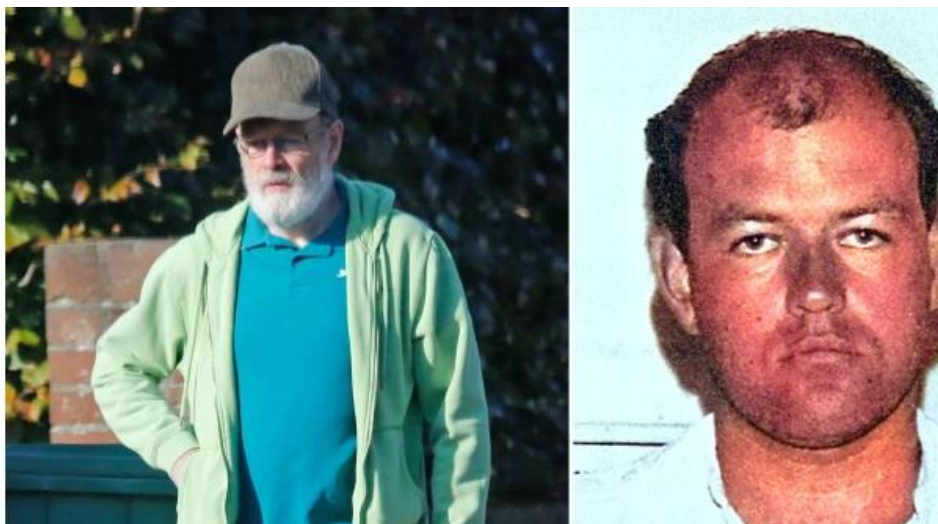
Fonte: Câmara (2013). Disponível em: <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2013/01/primeiro-caso-de-identificacao-criminal.html>.

Após a coleta do sêmen deixado em Dawn, o médico e geneticista Alec Jeffreys que já havia publicado sobre o uso de microssatélites para identificação humana, realizou o exame de DNA comparando os dois vestígios coletados. No início da investigação, quando as autoridades haviam coletado o sêmen do corpo da primeira vítima, foi constatado que o assassino tinha o sangue tipo A e com um perfil enzimático de apenas 10% dos homens. Com o segundo assassinato, foi notório que se tratava de um duplo assassino, visto que os corpos encontrados seguiam a mesma assinatura (KRASTEVA, 2021).

No mesmo período, um rapaz chamado Richard Buckland confessou o crime de ambos os casos, portanto, o exame realizado pelo geneticista foi baseado em comparar o perfil genético dos sêmens encontrados com o do réu confesso. O resultado comprovou que ambos os estupros eram do mesmo autor, entretanto, o suspeito que confessou não era o responsável pelo crime. Com isso a polícia local simulou e incentivou uma doação de sangue falsa para que houvesse amostras a serem analisadas pelo médico (essa foi considerada a primeira triagem em massa do mundo). Nesse período foram analisadas 3.600 amostras de homens entre 14 e 40 anos, entretanto, nenhum poderia ter sido o autor dos crimes contra essas jovens (KRASTEVA, 2021).

Em 1988, uma testemunha relatou à polícia que há 2 anos atrás um homem se recusou a doar sangue (no decorrer de uma campanha de doação) e mandou um terceiro doar e se passar por ele. Com isso, as autoridades tomaram conhecimento de um homem chamado Colin Pitchfork que atualmente tem 61 anos, fazendo com que ele doasse seu material genético para a análise do caso. O doutor Alec realizou o exame e comparou com as amostras chegando à conclusão de que esse homem era o autor dos dois crimes. O mesmo foi condenado à prisão perpétua, cumpriu 28 anos da pena, mas atualmente está passando por um processo chamado recall, ou seja, pode ser solto e voltar a sua vida normal (KRASTEVA, 2021).

Figura 17 - Identificação do autor do crime Colin Pitchfork



Fonte: Krasteva (2021). Disponível em: <https://metro.co.uk/2021/11/22/murderer-colin-pitchfork-victims-mum-now-fears-for-other-young-women-15642604/>.

5.2 CASO YARA GAMBIRASIO

Teve início no dia 26 novembro de 2010 com o desaparecimento de Yara (Figura 18), que tinha 13 anos na época e morava na cidade de Bergamo, Itália. A menina desapareceu após sua aula de ginástica e somente 3 meses depois (26 de fevereiro de 2011) seu corpo foi achado parcialmente decomposto em uma área coberta por neve. Mesmo nas condições de decomposição do cadáver, foi possível identificar em seu corpo e roupas o material genético de outra pessoa e lesões laceradas na garganta e costas. O laudo da perícia supôs que pelas lesões a menina havia sido atingida com algo na cabeça (provavelmente uma pedra) e levado 6 facadas, além da tentativa de estupro (ENGLISH NEWS, 2022).

Após a aparição do corpo, uma enorme operação da polícia começou utilizando o banco de dados de DNA de aproximadamente 15 mil amostras. Em 2012, a equipe responsável pelo caso conseguiu identificar Giuseppe Guerinoni através de amostras de saliva. Quando foram atrás do responsável foi descoberto que ele havia falecido 11 anos antes do ocorrido, inocentando o principal suspeito. Mesmo com a morte do sujeito ele continuou sendo alvo das investigações, com isso a polícia descobriu que ele tinha tido filhos fora do casamento (um casal). Em 2014, o filho de Giuseppe, Massimo Giuseppe Bossett (Figura 18), foi pego em uma blitz falsa para a obtenção de amostras de seu DNA com um teste do bafômetro cenográfico. Com a análise

desse material foram observados 21 marcadores compatíveis com os vestígios deixados no corpo de Yara, a quantidade mínima para ser considerado compatível são de 16 a 17 marcadores. Com esse exame foi possível provar que o criminoso era ele. Então, no mesmo ano, o autor do crime foi preso e condenado à prisão perpétua (ENGLISH NEWS, 2022).

Figura 18 - Identificação do autor do crime Massimo Giuseppe (esquerda) e da vítima Yara Gambirasio (direita)



Fonte: English News (2022). Disponível em: <https://englishnews.eu/massimo-bossetti-e-yara-gambirasio/>.

5.3 CASO RACHEL GENOFRE

Rachel Maria Lobo Oliveira Genofre tinha 9 anos (Figura 19) quando desapareceu no dia 05 de novembro de 2008 e foi encontrada morta dois dias depois na rodoferroviária de Curitiba. A menina estava seminua dentro de uma mala coberta por lençóis. A polícia concluiu que havia sinais de violência sexual, com isso foram coletadas amostras no corpo da vítima e na mala que o agressor teria deixado durante a execução do crime (SOUZA *et al.*, 2019).

Figura 19 - Vítima Rachel Genofre



Fonte: Souza *et al.* (2019)

Foram realizados 116 cruzamentos genéticos com suspeitos que batiam com a descrição falada da época, mas sem sucesso. Após uma coleta em massa de DNA em 2019 de presos da cidade de São Paulo de acordo com o Projeto de Identificação de Condenados pelo Perfil Genético, um suspeito de uma penitenciária de Sorocaba bateu com o perfil genético achado nas amostras do crime, confirmando a identidade de Carlos Eduardo dos Santos que já estava detido desde 2016 por crimes como estelionato, estupro, roubo e falsificação de documentos (G1 PR, 2021).

Figura 20 - Identificação do agressor Carlos Eduardo dos Santos



Fonte: Souza *et al.* (2019)

Quando o perfil genético desse homem foi colocado no software do banco de dados, houve 100% de homologia com o perfil referência. O suspeito confessou o crime durante o interrogatório dizendo que abordou a menina se passando por um produtor de programa de televisão infantil enquanto ela saía da escola, convenceu a garota a ir com ele até o endereço do hotel e deu instruções para que não avisasse os pais. Ele a matou com asfixia, a abusou sexualmente, em seguida tentou se livrar do corpo, abandonando-o na rodoferroviária. Após 11 anos do crime, o agressor foi transferido para Curitiba onde foi condenado a 50 anos de prisão (SOUZA *et al.*, 2019).

6 PROGRAMA BEM-ME-QUER

Desenvolvido pela Secretaria de Segurança Pública, em parceria com as Secretarias da Saúde, Assistência e Desenvolvimento Social e a Procuradoria Geral do Estado, a partir do decreto estadual 46.369/01 em 2001, o programa Bem-me-quer foi criado para atender vítimas de abuso sexual, com amparo policial, jurídico, psicológico e social (POLÍCIA CIVIL SP, 2021).

Antes da criação do programa, vítimas de violência sexual faziam a queixa na delegacia e eram orientadas a procurar o Instituto Médico Legal (IML). Muitas deixavam de ir por falta de dinheiro para o transporte, por falta de tempo, medo, entre outras situações (PORTAL DO GOVERNO, 2002).

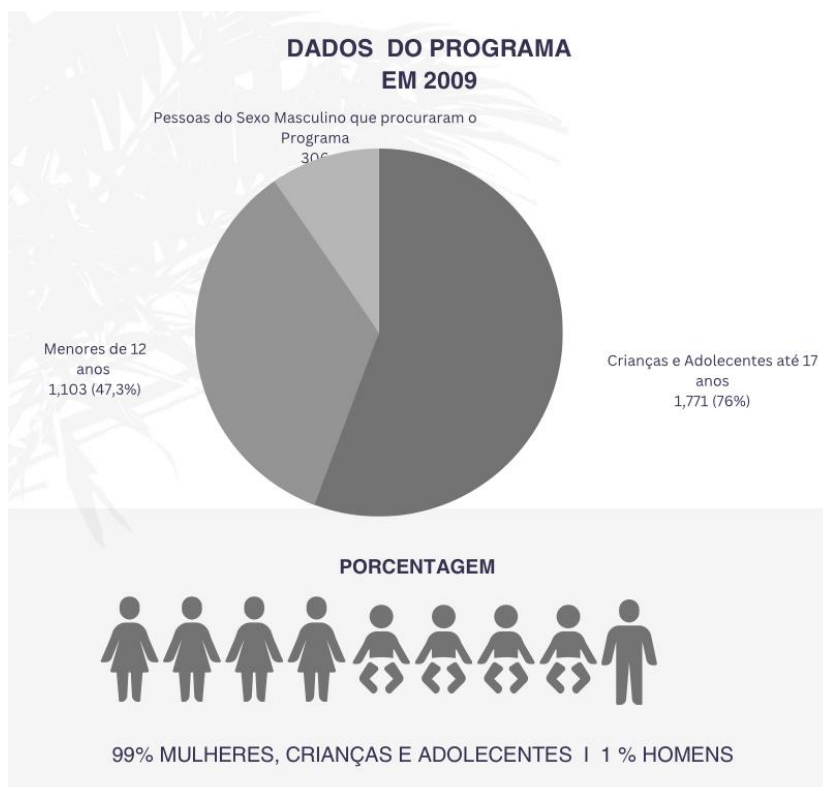
No início da criação do programa, mulheres que abriam boletim na delegacia eram levadas diretamente para o hospital Pérola Byington para atendimento especializado. Em 2022 o programa teve suas atividades transferidas para o hospital da mulher (PORTAL DO GOVERNO, 2002).

Ao chegar ao Hospital, a vítima é examinada por uma equipe multidisciplinar:

Todas as vítimas recebem o apoio à prevenção da gravidez decorrente da violência sexual, incluindo a realização dos abortos previstos em lei, tratamentos para traumatismos genitais, contracepção de emergência, medicação para evitar infecções por HIV, hepatites e outras infecções sexualmente transmissíveis” destacou o secretário de Estado da Saúde, Jean Gorinchteyn. (SECRETARIA ESPECIAL DE COMUNICAÇÃO, 2022)

O programa atende crianças, mulheres e adolescentes do sexo feminino e adolescentes até 14 anos do sexo masculino. Funcionando 24 horas por dia. Cada vez mais estados do Brasil estão implementando o programa em seus governos, O governo do Acre, a região de Teresópolis no Rio de Janeiro, Porto Alegre, Belém, Vitória da Conquista e Brasília já implementaram o programa (G1, 2018).

Gráfico 2 - Dados do Programa Bem-Me-Quer



PROGRAMA ATENDE

5 MIL

VITIMAS POR ANO

LOCALIZADO EM VARIOS ESTADOS DO BRASIL

SÃO PAULO, ACRE, RIO DE JANEIRO, PORTO ALEGRE, BRASILIA

DADOS DO PROGRAMA 2018

4.140

CASOS NOVOS

MÉDIA DE 345 CASOS POR MÊS

**DADOS DO PROGRAMA 2021**

NÚMERO DE CASOS



7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estupro é uma violência de gênero extremamente preocupante no Brasil, os danos a longo e curto prazo são devastadores tanto para a vítima quanto aos seus familiares. A biologia molecular tem um papel enorme nesse processo de elucidar esse tipo de caso, hoje em dia laboratórios forenses investem na análise e alimentação dos bancos de dados de perfis genéticos visando uma identificação mais rápida e certa. A técnica de lise diferencial seguida por PCR e eletroforese são o protocolo mais usado na perícia criminal, por não precisarem de amostras com muita qualidade e quantidade e mesmo assim proporcionarem resultados corretos, outro ponto que viabiliza o uso dessas técnicas é o baixo custo de investimento, quando comparado a outras técnicas como por exemplo *southern blot* que era muito usada, gerando comprovações se havia ou não a presença do DNA referência na amostra, mas necessitava de um custo maior.

Em virtude dos fatos mencionados, o uso da biologia molecular é imprescindível para casos em que o único vestígio deixado são amostras de sêmen, sangue, saliva, entre outros. É o ponto de partida para a elucidação do crime, ou até mesmo identificação de um desaparecido ou cadáver. O foco deste trabalho foram crimes de violência sexual, mas a grandeza das técnicas e da ciência forense é além disso, a constante evolução e aplicabilidade se devem a necessidade desse mundo cada vez mais cruel.

REFERÊNCIAS

- ADDGENE. Protocol - How to Design a Primer: Primer Design for PCR. **Addgene**, 2023. Disponível em: <https://www.addgene.org/protocols/primer-design/>. Acesso em: 23 dez. 2023.
- ANSLINGER, K. *et al.* Application of sperm-specific antibodies for the separation of sperm from cell mixtures. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 394-395, ago. 2008.
- BENIGNO, Núñes Novo. Afinal, você sabe o que é estupro? **Jus Navigandi**, 2019. Disponível em: <https://jus.com.br/artigos/74521/afinal-voce-sabe-o-que-e-estupro>. Acesso em: 20 dez. 2023.
- BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. **Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos**. [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/servicos/rede-integrada-de-bancos-de-perfis-geneticos>. Acesso em: 15 dez. 2023.
- BRASIL. **Lei nº 12.845, de 1º de agosto de 2013**. Dispõe sobre o atendimento obrigatório e integral de pessoas em situação de violência sexual. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1º de agosto de 2013. 2013. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2013/lei/l12845.htm. Acesso em: 20 dez. 2023.
- BUTLER, John M. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology**. 1. ed. Londres: Editora Elsevier Inc., 2012.
- BUTLER, John M. **Fundamentals of Forensic DNA Typing**. 1. ed. Londren: Editora Elsevier Inc., 2009.
- CÂMARA, Brunno. Primeiro caso de identificação criminal através do DNA. **Biomedicina Padrão**, 2013. Disponível em: <https://www.biomedicinapadiao.com.br/2013/01/primeiro-caso-de-identificacao-criminal.html>. Acesso em: 22 dez. 2023.
- CÂMARA, Brunno. Southern blot. **Biomedicina Padrão**, 2010. Disponível em: <https://www.biomedicinapadiao.com.br/2010/06/southern-blot.html>. Acesso em: 23 dez. 2023.
- CÂNDIDO, Alexandra Lopes *et al.* Classificação semiquantitativa de espermatozoides otimiza a genotipagem de backlog de amostras de crimes sexuais. **Revista Brasileira de Criminalística**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 36-43, 19 fev. 2021.
- CARR, Steven M. **Southern Blot analysis of DNA**. 2008. Disponível em: https://www.mun.ca/biology/scarr/Southern_Blot_analysis.html. Acesso em: 19 dez. 2023.

CARVALHO, Nígela Rodrigues. **Genética Forense na elucidação de crimes sexuais**: o policiamento por meio de bancos de perfis genéticos. São Paulo: Editora Dialética, 2020.

CERQUEIRA, Daniel Ricardo de Castro; COELHO, Danilo Santa Cruz. Nota Técnica n. 11 (Diest): Estupro no Brasil: uma radiografia segundo os dados da Saúde (versão preliminar). **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (Ipea)**, Brasília, mar. 2014. Disponível em: <http://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/5780>. Acesso em: 20 dez. 2023.

COMVCPORTAL. Polícia Científica processa duas mil amostras de DNA de crimes sexuais. **ComVc Portal**, 2022. Disponível em: <https://comvcportal.com.br/noticia/13884/policia-cientifica-conclui-compromisso-de-processar-2-mil-amostras-de-dna-de-crimes-sexuais>. Acesso em: 15 dez. 2023.

CORTE-REAL, Francisco; VIEIRA, Duarte Nuno. **Princípios de Genética Forense**. Coimbra: Coimbra University Press, 2015. Disponível em: <https://digitalis-dsp.uc.pt/bitstream/10316.2/38492/3/Princ%C3%ADpios%20de%20Gen%C3%A9tica%20Forense.preview.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2023.

CUNHA, Mariana. **Análise de misturas de DNA no âmbito de perícias criminais**: estudo comparativo da lise diferencial em agressões sexuais. 2019. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética Forense, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, 2019.

CUNHA, Rogério Sanchez. Lei 12.654/12 (identificação genética): nova inconstitucionalidade (?). **Jusbrasil**, 2012. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/artigos/lei-12654-12-identificacao-genetica-nova-inconstitucionalidade/121814909>. Acesso em: 22 dez. 2023.

DECANINE, Daniele. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Revista Brasileira de Criminalística**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 18-27, 28 jul. 2016.

ENGLISH NEWS. Massimo Bossetti e Yara Gambirasio. **English News**, 2022. Disponível em: <https://englishnews.eu/massimo-bossetti-e-yara-gambirasio/>. Acesso em: 22 dez. 2023.

ESPÍNDULA, Alberi. **Perícia Criminal e Cível**: uma visão completa para peritos e usuários da perícia. 2. ed. Campinas: Millennium, 2006.

FBI. **Services**. [s.d.]. Disponível em: <https://www.fbi.gov/services>. Acesso em: 20 dez. 2023.

FÓRUM BRASILEIRO DE SEGURANÇA PÚBLICA. **Homepage**. 2023. Disponível em: <https://forumseguranca.org.br/>. Acesso em: 15 dez. 2023.

G1. Programa que atende crianças e adolescentes vítimas de abuso sexual desde 2014 é formalizado em Teresópolis, no RJ. **G1**, 2018. Disponível em: <https://g1.globo.com/rj/regiao-serrana/noticia/2018/12/19/programa-que-atende->

criancas-e-adolescentes-vitimas-de-abuso-sexual-desde-2014-e-formalizado-em-teresopolis-no-rj.ghml. Acesso em: 4 jan. 2023.

GOODWIN, William; LINACRE, Adrian; HADI, Sibte. **An Introduction to Forensic Genetics**. 2. ed. Chichester: Wiley, 2010.

HAMMERSCHMIDT, Denise; GIACOIA, Gilberto. **Banco de perfis de dados genéticos dos criminosos**: tratamento normativo na lei espanhola e na lei brasileira. 2012. (Apresentação de Trabalho em Congresso). Disponível em: www.publicadireito.com.br/artigos/?cod=8cea559c47e4fadb. Acesso em: 20 dez. 2023.

HOCHMEISTER, Manfred N *et al.* Effects of toluidine blue and destaining reagents used in sexual assault examinations on the ability to obtain DNA profiles from postcoital vaginal swabs. **J Forensic Sci**, v. 42, n. 2, p. 316-319, 1997. Disponível em: <https://archive.gfjc.fiu.edu/workshops/resources/articles/Effects%20of%20Toluidine%20Blue%20and%20Destaining%20Reagents%20Used%20in%20Sexual.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2023.

INSTITUTO DA PRÓSTATA. **Exame do PSA**. 2023. Disponível em: <https://www.institutodaprostata.com/pt/analises-e-exames/exame-do-psa>. Acesso em: 15 dez. 2023.

KRASTEVA, Gergana. Double child killer Colin Pitchfork victim's mum now fears for other young women. **Metro News**, 2021. Disponível em: <https://metro.co.uk/2021/11/22/murderer-colin-pitchfork-victims-mum-now-fears-for-other-young-women-15642604/>. Acesso em: 3 jan. 2023.

LAKNA. What is the Difference Between Forward and Reverse Primers. **Pediaa.com**, 2019. Disponível em: <https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-forward-and-reverse-primers/>. Acesso em: 19 dez. 2023.

LANDER, E. S. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, [S.L.], v. 409, n. 6822, p. 860-921, 15 fev. 2001.

LEITE, Viviane da Silva *et al.* Uso das técnicas de Biologia Molecular na Genética Forense. **Derecho y Cambio Social**, 2013. Disponível em: https://www.derechoycambiosocial.com/revista034/USO_DAS_TECNICAS_DE_BIOLOGIA_MOLECULAR_NA_GENETICA_FORENSE.pdf. Acesso em: 22 dez. 2023.

MAXIMIANO, Caroline Garcia. **Técnicas forenses aplicadas na análise do sêmen**. 2017. 29 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/11717/1/21485079.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2023.

MCKIERNAN, Heather E.; DANIELSON, Phillip B. Molecular Diagnostic Applications in Forensic Science. **Molecular Diagnostics**, [S.L.], p. 371-394, 2017.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA. Banco Nacional de Perfis Genéticos atinge a marca de 100 mil perfis cadastrados. **Gov.br**, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/justica-e-seguranca/2021/11/banco-nacional-de-perfis-geneticos-atinge-a-marca-de-100-mil-perfis-cadastrados>. Acesso em: 15 dez. 2023.

MINISTÉRIO DA SEGURANÇA PÚBLICA. **VIII Relatório da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG)**: Dados estatísticos e resultados relativos a até 28 de maio de 2018. Brasília, 2018.

MINISTÉRIO DOS DIREITOS HUMANOS E DA CIDADANIA. Violência doméstica e familiar contra a mulher: Ligue 180 e tudo o que você precisa saber. **Gov.br**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/mdh/pt-br/assuntos/denuncie-violencia-contra-a-mulher/violencia-contra-a-mulher>. Acesso em: 3 jan. 2023.

PIROLA, Antonio Luiz Rocha. O uso do PSA na prática forense. **Jusbrasil**, 2018. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/artigos/o-uso-do-psa-na-pratica-forense/584689464>. Acesso em: 15 dez. 2023.

POLÍCIA CIVIL SP. 950 vítimas de abusos sexuais foram acolhidas pelo Programa Bem-Me-Quer nos primeiros dez meses de 2021. **Polícia Civil do Estado de São Paulo**, 2021. Disponível em: https://www.policiacivil.sp.gov.br/portal/faces/pages_home/noticias/noticiasDetalhes?contentId=UCM_062710. Acesso em: 3 jan. 2023.

PORTAL DO GOVERNO. Hospital Pérola Byington apresenta resultado do estudo Bem-Me-Quer. **Governo do Estado de São Paulo**, 2009. Disponível em: <https://www.saopaulo.sp.gov.br/ultimas-noticias/hospital-perola-byington-apresenta-resultado-do-estudo-bem-me-quer/>. Acesso em: 3 jan. 2023.

PORTAL DO GOVERNO. Programa Bem-Me-Quer completa um ano de apoio às vítimas de violência sexual. **Governo do Estado de São Paulo**, 2002. Disponível em: <https://www.saopaulo.sp.gov.br/eventos/programa-bem-me-quer-completa-um-ano-de-apoio-as-vitimas-de-violencia-sexual/>. Acesso em: 3 jan. 2023.

REBELO, Maria de Lurdes Pontes. **Aplicação do estudo de polimorfismos do cromossoma Y em genética forense Y-STRs e marcadores bialélicos**. 2003. 141 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Licenciatura em Bioquímica, Universidade do Porto, Porto, 2003.

SARZI, Lucas; FILIPPIN, Natalia; BRODBECK, Pedro. Caso Rachel Genofre: acusado de matar menina e colocar dentro de mala, em Curitiba, é condenado a 50 anos de prisão. **G1 PR**, 2021. Disponível em: <https://g1.globo.com/pr/parana/noticia/2021/05/12/caso-rachel-genofre-acusado-de-matar-menina-e-colocar-dentro-de-mala-em-curitiba-e-condenado-a-50-anos-de-prisao.ghtml>. Acesso em: 21 dez. 2023.

SCHRANK, Augusto. Estrutura dos Ácidos Nucleicos. *In*: ZAHA, Arnaldo; FERREIRA, Henrique Bunselmeyer; PASSAGLIA, Luciane M. P. (Org.). **Biologia Molecular Básica**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

SECRETARIA ESPECIAL DE COMUNICAÇÃO. Com novas instalações, programa Bem-me-Quer irá ampliar atendimento às vítimas de violência sexual. **Prefeitura da cidade de São Paulo**, 2022. Disponível em: <http://adm.capital.sp.gov.br/noticia/com-novas-instalacoes-programa-bem-me-quer-ira-ampliar-atendimento-as-vitimas-de-violencia-sexual>. Acesso em: 3 jan. 2023.

SERPA JÚNIOR, Wilson dos Santos. **A recusa do investigado ao fornecimento de material genético nos casos previstos pela Lei 12.654/2012**. 2017. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Direito, Fundação Oswaldo Cruz, Brasília, 2017. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/18988/1/2017_WilsondosSantosSerpaJunior.pdf. Acesso em: 19 dez. 2023.

SILVA, Amanda Cecília de Oliveira; MOURA, Emanuella Dias de. **A Importância da genética forense na investigação e resolução de crimes sexuais**. 2015. 11 f. Monografia (Especialização) - Curso de Diagnóstico Molecular, Faculdade Pernambucana de Saúde, Recife, 2015. Disponível em: <https://repositorio.fps.edu.br/handle/4861/635>. Acesso em: 16 dez. 2022.

SOUZA, B. T *et al.* Criação de banco de dados genéticos prevista na Lei 12.654/12: uma revisão sobre o histórico e sua utilização. **Support Perícias Expertise Services**, 2019. Disponível em: http://www.ricardocairesperito.com.br/uploads/artigos/genetica/1_artigo_genetica.pdf. Acesso em: 22 dez. 2023.

SPUDEIT, Daniel Alfonso; DOLZAN, Maressa Danielli; MICKE, Gustavo Amadeu. Eletroforese Capilar: uma breve introdução. **Scientia Chromatographica**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 287-297, 2012.

TAMAI, Hugo Tadahide. Estudo da aplicação do esperma na sexologia forense. **Jusbrasil**, 2015. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/artigos/estudo-da-aplicacao-do-esperma-na-sexologia-forense/252635539>. Acesso em: 15 dez. 2023.

TAVARES, Marina F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 173-181, mar./abr. 1996. Disponível em: https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol19No2_173_v19_n2_12.pdf. Acesso em: 15 dez. 2023.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. **Southern Blotting**. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/dna-rna-purification-analysis/nucleic-acid-gel-electrophoresis/southern-blotting.html>. Acesso em: 20 dez. 2023.

THORBURN, Jacob. Double child killer Colin Pitchfork is sent BACK to prison over his 'concerning behaviour' just two months after he was released following 33 years behind bars. **Daily Mail Online**, 2021. Disponível em: <https://www.dailymail.co.uk/news/article-10222361/Double-child-killer-Colin-Pitchfork-arrested-sent-prison-concerning-behaviour.html>. Acesso em: 22 dez. 2023.

VIEIRA, Daniel Perez. **Técnicas de PCR**: Aplicações e Padronização de Reações. Protozoologia-IMTSP/ Laboratório de Biologia Molecular-IPEN. Instituto de Medicina Tropical, [s.d.].

WHO. World Health Organization. Violence against women. **WHO**, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/violence-against-women>. Acesso em: 20 dez. 2023.

ZHAO, Xing-Chun *et al.* Isolating Sperm from Cell Mixtures Using Magnetic Beads Coupled with an Anti-PH-20 Antibody for Forensic DNA Analysis. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 1-9, 21 jul. 2016.