



**ANA CAROLINA DE SOUZA**

**A IMPORTÂNCIA DOS EXAMES MOLECULARES NA PERÍCIA  
CRIMINAL**

**Cuiabá/MT**

**2023**

**ANA CAROLINA DE SOUZA**

**A IMPORTÂNCIA DOS EXAMES MOLECULARES NA PERÍCIA  
CRIMINAL**

Projeto de Conclusão de Curso apresentado à Banca Avaliadora do Curso de Biomedicina, da Faculdade Fasipe, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador(a): Prof<sup>o</sup> Thaís Leal Silva

**Cuiabá/MT**

**2023**

**ANA CAROLINA DE SOUZA**

**A IMPORTÂNCIA DOS EXAMES MOLECULARES NA PERÍCIA  
CRIMINAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Avaliadora do Curso de Biomedicina da FASIPE-CPA, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em BIOMEDICINA.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Professor Orientador: Dra Thaís Leal Silva  
Departamento de Biomedicina - FASIPE

---

Professor(a) Avaliador(a):  
Departamento de Biomedicina - FASIPE

---

Professor(a) Avaliador(a): Prof.  
Departamento de Biomedicina - FASIPE

---

Profª. Me. Laura Marina S. Maia de Athayde  
Coordenador do Curso de Biomedicina  
FASIPE - Faculdade CPA



## **DEDICO,**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por guiar meus passos durante este caminho percorrido.

Dedico aos meus pais e tios, por tudo que fizeram por mim, pelo apoio e ajuda durante a jornada acadêmica.

## **AGRADEÇO,**

Quero agradecer a todos meus professores pelos ensinamentos, em especial a minha orientadora de TCC, prof. Thaís Leal Silva. Muito obrigada por me auxiliar durante esse processo, por toda dedicação, paciência e conhecimento compartilhado.

## **EPÍGRAFE**

“O insucesso é apenas uma oportunidade para  
recomeçar de novo com mais inteligência.”

**Henry Ford**

SOUZA, ANA CAROLINA. **IMPORTÂNCIA DOS EXAMES MOLECULARES NA PERÍCIA CRIMINAL**. 2023. 45 folhas. Monografia de Conclusão de Curso- FASIPE- Faculdade de CPA.

## **RESUMO**

A perícia criminal está a serviço da esfera jurídica, utilizando de seus métodos científicos e procedimentos multidisciplinares, auxiliando nas investigações forenses, para determinar materialidade da dinâmica do fato delituoso e apontar possível autoria. Uma das áreas de atuação da perícia que vem crescendo com grande destaque é a Biologia Molecular, a partir de técnicas avançadas que buscam realizar confronto de materiais genéticos, coletados na cena do crime. O presente estudo busca abordar os exames moleculares na perícia, analisar os vestígios mais encontrados em ações criminosas, como as manchas de sangue, que geralmente são descobertas por meio de técnicas de quimiluminescência. Esse material irá passar também para área laboratorial, podendo ser empregado PCR e Eletroforese para estabelecer o DNA de um perfil específico. Este vestígio contribui para ao inquérito policial e identificação do sujeito ativo do fato criminal. Por meio de tecnologias avançadas, permitindo comparações entre DNA, chegando, autoria do fato criminoso, através de evidência científica. Para este estudo foi feita uma revisão bibliográfica, com pesquisa em várias fontes, como, livros, teses e artigos científicos, com a finalidade de contribuir para o desenvolvimento do tema, mostrando sua importância na resolução de crimes, auxiliando no avanço da perícia criminal.

**Palavras-chaves:** Perícia; Biologia Molecular; DNA;

SOUZA, ANA CAROLINA. **IMPORTANCE OF MOLECULAR EXAMINATIONS IN CRIMINAL EXPERIENCE**. 2023. 45 folhas. Monografia de Conclusão de Curso- FASIPE- Faculdade de CPA.

### **ABSTRACT**

Criminal expertise is at the service of the legal sphere, using its scientific methods and multidisciplinary procedures, assisting in forensic investigations, to determine the materiality of the dynamics of the criminal event and identify possible authorship. One of the areas of expertise that has been growing with great prominence is Molecular Biology, based on advanced techniques that seek to compare genetic materials collected at the scene of the crime. The present study seeks to address molecular examinations in forensics, analyzing the traces most commonly found in criminal actions, such as blood stains, which are generally discovered through chemiluminescence techniques. This material will also be transferred to the laboratory area, and PCR and electrophoresis can be used to establish the DNA of a specific profile. This trace contributes to the police investigation and identification of the active subject of the criminal act. Through advanced technologies, allowing comparisons between DNA, arriving at the authorship of the criminal act, through scientific evidence. For this study, a bibliographical review was carried out, with research in various sources, such as books, theses and scientific articles, with the purpose of contributing to the development of the topic, showing its importance in solving crimes, helping to advance criminal expertise.

**Keywords:** Expertise; Molecular biology; DNA

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- BNPG-** Banco Nacional de Perfis Genéticos
- COIDS-** Combined DNA Index System/ Sistema Combinado de Índice de DNA
- CPP-** Código de Processo Penal
- CT-** Cycle Threshold/ Curva de Amplificação
- DNA-** Ácido Desoxirribonucleico
- dNTP's -** Deoxyribonucleotide Triphosphate/ Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
- EtBr-** Brometo de Etídeo
- FBI-** Federal Bureau of Investigation/ Departamento de Investigação Federal
- INTERPOL-** International Criminal Police Organization/ Organização Internacional de Polícia Criminal
- MgCl<sub>2</sub>-** Cloreto de Magnésio
- PCR-** Polymerase Chain Reaction/ Reação em cadeia de polimerase
- qPCR-** Real Time Quantitative PCR/ PCR quantitativa em Tempo Real
- pH-** Potencial Hidrogeniônico
- RIBGP-** Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos
- RNA-** Ribonucleic Acid/ Ácido Ribonucleico
- RNAm-** Messenger RNA/ RNA Mensageiro
- SNPs-** Single Nucleotide Polimorphism/ Polimorfismo de Nucleotídeo Único
- STRs-** Short Tandem Repeats/ Repetições Curtas em Tandem
- SYBR®-** Safe DNA Gel Stain/ Coloração em Gel de DNA Seguro
- TaqMan®-** Gene Expression Assays/ Ensaio de Expressão Gênica
- VNTR-** Variable Number of Tandem Repeats/ Número Variável de Repetições em Sequência

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Impressão digital com núcleo e delta.....	19
<b>Figura 2</b> - Classificação datiloscópica evidenciando os deltas em relação a posição encontrada nas impressões digitais.....	21
<b>Figura 3</b> - Ilustração do tubo coletor do Feca-Cult.....	26
<b>Figura 4</b> - Estrutura da molécula de DNA e a ligação dos nucleotídeos.....	27
<b>Figura 5</b> - Minissatélite e microssatélite encontrados no DNA .....	29
<b>Figura 6</b> - Tubos utilizados na técnica de PCR.....	31
<b>Figura 7</b> - Etapas do processo da PCR. ....	32
<b>Figura 8</b> - Demonstração dos poços em que são colocados as amostras na cuba de eletroforese .....	36
<b>Figura 9</b> - Polo negativo e polo positivo em que as moléculas serão atraídas.....	36
<b>Figura10</b> - A migração das moléculas no gel.....	36
<b>Figura 11</b> - Distribuição das categorias de perfis genéticos existentes no BNPG.....	39

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 Objetivos .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.1 Geral.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.2 Específicos .....</b>	<b>15</b>
<b>2. METODOLOGIA .....</b>	<b>16</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 O trabalho do perito criminal.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Identidade e procedimentos de identificação - antropologia forense.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 As amostras biológicas e a importância do sangue como vestígio .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4 Coleta e armazenamento do sangue .....</b>	<b>23</b>
<b>3.5 A importância da quimiluminescência e testes <i>imunocromatográficos</i> na perícia.....</b>	<b>24</b>
<b>3.6 O DNA e a importância das técnicas moleculares na perícia .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Os marcadores genéticos mais utilizados no âmbito forense .....</b>	<b>28</b>
<b>3.8 Técnica de PCR .....</b>	<b>30</b>
<b>3.9 PCR em tempo real .....</b>	<b>33</b>
<b>3.10 A técnica de eletroforese no DNA forense .....</b>	<b>35</b>
<b>3.11 Banco de dados genéticos .....</b>	<b>38</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A perícia é uma prática que vem sendo abordada há séculos atrás em diversas civilizações, juntamente com os conhecimentos da medicina legal e criminalística, ciências que regem a atividade pericial. Registros históricos demonstram que as civilizações egípcias, gregas e romanas utilizavam dos conhecimentos de estudiosos da época para colaboração de esclarecimentos acerca de crimes. A perícia criminal está atualmente disposta no Código de Processo Penal (CPP). Portanto, sua atividade visa corroborar com as investigações criminais, por meio de uma análise criteriosa de vestígios na cena do crime, em que, pode-se levantar autoria do fato delitivo e dinâmica de como ocorreu o crime. Para que o percurso da atividade pericial obtenha sucesso em suas diligências, é imprescindível a utilização do método técnico-científico, que abrange diversas áreas do conhecimento, tais como biologia, física, química e matemática. Esse método, permite que a prova tenha um embasamento em fatos que foram estudados e devidamente comprovados, o que apresenta maior veracidade do que provas oculares, que podem ser falhas (SANTOS, 2018).

No Brasil a profissão é exercida pelo perito criminal, profissional que possui autonomia técnica e científica, sendo funcionalmente dotado de conhecimentos especializados em determinada área do conhecimento humano, utilizando desses para esclarecimento de fatos de interesse judicial. Este deve ser portador de curso superior e com idoneidade comprovada. Por esta profissão abranger várias áreas do conhecimento, pode ser desempenhada por diversas profissões, como químicos, engenheiros, biólogos, biomédicos, dentre várias outras. Através da análise minuciosa dos vestígios encontrados na cena do crime, o perito vai trazer materialidade para o fato, por meio do laudo pericial, que possui um peso grande na decisão judicial (SANTOS, 2018).

Fundamentando-se pelo princípio da observação ou teoria de Emond Locard (1997) que diz: “todo contato deixa uma marca”, pode inferir que toda infração penal deixa vestígios, podendo ser eles visíveis ou latentes. Para que os vestígios sejam analisados, é de extrema

importância, que o local de crime esteja preservado com isolamento da cena, caso ao contrário o levantamento pericial dos vestígios pode apresentar uma complexidade maior. Para não ser prejudicada a integridade dos vestígios, o código de processo penal aborda sobre a realização da cadeia de custódia, em que consiste em um conjunto de procedimentos para documentar a ordem cronológica dos vestígios. Estes registros minuciosos são empregados desde a preservação do local, estabelecendo o início da cadeia de custódia externa e, posteriormente, serão submetidos análises laboratoriais, etapa da cadeia de custódia interna (SILVA, BASTOS, OLIVEIRA, 2022).

Os exames moleculares são uma das principais maneiras de auxiliar a justiça, pelo reconhecimento do material genético no lugar da violação penal. Isso ocorre devido ao DNA ser único para cada indivíduo, o que assegura um resultado com maior exatidão, colocando o proprietário do material genético no local do crime. Externamente é empregado testes para detecção e diferenciação de sangue oculto como o luminol e Feca-cult. Na parte interna, ou seja, laboratorial o material da cena do crime é submetido a utilização de técnicas de biologia molecular que permite através de vestígios biológicos, como fios de cabelo, sangue, urina, saliva, dentre outras amostras, obter o material genético por meio de métodos de alta complexidade.

Após o processamento dessas amostras é possível indicar o provável suspeito do delito ou até mesmo inocentá-lo. Técnicas modernas são empregadas nos laboratórios forenses a fim de se obter praticidade e qualidade nos resultados das amostras, entre elas estão: o qPCR (*real-time* polymerase chain reaction) em que visa amplificar determinada sequência de STRs (Short Tandem Repeats), e gerar cópias de uma região específicas, que vão ser quantificadas por meio do uso de marcadores que emitem fluorescência. A técnica de eletroforese, visa isolar e identificar fragmentos do DNA. Assim, ambas permitem a realização de confrontos genéticos através de um banco de dados genéticos. Portanto, essa prova vai ser uma das evidências de maior importância, por relacionar uma pessoa, com aquele DNA que foi encontrado na cena do crime (HERCULES, 2014; SANTOS, MONTENEGRO, 2023).

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Geral**

Este estudo tem por objetivo descrever os exames moleculares na perícia criminal, observando as técnicas utilizadas para a realização dos testes e seus possíveis resultados, para identificar o criminoso que cometeu o fato delitoso, através de evidências científicas.

### **1.1.2 Específicos**

- Abordar os processos de coleta e transporte da amostra biológica presente na cena do crime;
- Discutir a respeito da importância e contribuição da atividade pericial na resolução de casos;
- Descrever e identificar a relevância dos exames moleculares para a identificação do criminoso;

## 2. METODOLOGIA

Para a realização do presente trabalho foi utilizado uma abordagem qualitativa com base em fontes bibliográficas coletadas por meio das plataformas de busca: Scielo, Pubmed, Google acadêmico, além de livros, teses, dissertações e sites eletrônicos científicos. Os critérios de inclusão utilizados foram, livros dos anos de 1969 até 2015. Já os artigos incluídos no trabalho foram publicados durante o período de 23 anos, na língua inglesa e portuguesa implementando descritores como: Exames forenses, genética forense, vestígios, STRs, marcadores genéticos e DNA. Os critérios de exclusão foram aplicados a artigos que não abordem temas relacionados com a perícia, área forense e biologia molecular.

Este método de pesquisa científica consiste em realizar uma revisão, abordando e difundindo o presente tema sobre as ciências forense e molecular, a fim de aperfeiçoar o conhecimento a respeito desses assuntos, em que foi realizado por meio de outras obras já existentes, como artigos, teses e livros para refinar o conhecimento científico. Por conseguinte, é fundamental para todo trabalho científico, ajudando na evolução teórica de um estabelecido tipo de linha de pesquisa (SOUSA, OLIVEIRA, ALVES, 2021).

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 O trabalho do perito criminal**

As atividades periciais são de extrema complexidade, exigindo uma conduta profissional de responsabilidade e moralidade. A perícia se encontra em uma estrutura subordinada aos órgãos de segurança pública, como na esfera federal, a polícia federal e, na esfera estadual, a polícia judiciária. Por estas razões seguem a legislação do determinado estado que se encontram, apesar destes aspectos, a perícia deve se preceder de imparcialidade e autonomia. Para que ocorra a realização de suas atividades plenamente, para ser transmitida a veracidade dos fatos de forma transparente e justa. Devido a esses fatores, em alguns estados brasileiros, a perícia formou institutos próprios se separando da polícia civil, passando a se denominar polícia científica, com essa desvinculação passou-se a ter autonomia própria e hierarquia iguais aos outros órgãos de polícia (SILVA, BASTOS, OLIVEIRA, 2022).

O perito oficial criminal é um profissional que auxilia a justiça, sendo um servidor público, concursado, desempenhando função estatal, legalmente prevista na legislação brasileira. Os especialistas de diversas áreas do conhecimento atuam entre os cargos de perito médico-legal, perito odontologista e perito oficial criminal, desde que tenha comprovada a idoneidade profissional, baseando em seu conhecimento técnico-científico para se estabelecer a verdade do fato criminoso, a partir da minuciosa interpretação e análise de vestígios deixados na infração penal. O que irá constituir um exame de corpo de delito (SILVA, BASTOS, OLIVEIRA, 2022).

Para Hélio Tornaghi (1989) a expressão corpo de delito indica:

Corpo de delito é tudo quanto pode ser usado como prova material do crime: o objeto físico da ação criminosa (p. ex., o corpo lesado), os instrumentos do crime, o produto da infração, os efeitos que caem sob os sentidos, isto é, podem ser vistos, ouvidos, tocados, cheirados, degustados (TORNAGHI, 1989, p. 17).

A partir deste pressuposto presente na lei, é substancial a importância do perito criminal na elucidação de contravenções penais, devido se dotarem de um discernimento, com embasamento em técnicas que possuem validações científicas, sobre os componentes materiais encontrados no local de crime e levantando a materialidade do fato, o que contribuirá para elaboração do laudo pericial, um documento que oferece elementos indispensáveis para a decisão judicial (SILVA, BASTOS, OLIVEIRA, 2022).

Há uma divisão nas atividades periciais, o perito oficial criminal pode atuar em locais de crime ou em laboratórios forenses. O local de crime é uma área de interesse à justiça criminal, exigindo do perito organização e uma avaliação inicial precisa do local, pois cada crime é único. Abordando uma rotina muito imprevisível, devido a esses fatores, durante o levantamento do local pode surgir diversas intercorrências, por estes profissionais estão expostos a vários perigos de saúde e segurança. Na área laboratorial, são levadas as evidências materiais encontradas no local, cada vestígio, será encaminhado para seu respectivo laboratório, para passarem por minuciosas análises, sendo submetidos a técnicas diversas, para fornecer prováveis informações a investigação forense (BARROSO, 2010; DEL-CAMPO, 2008).

### **3.2 Identidade e procedimentos de identificação - antropologia forense**

A antropologia forense é uma ciência que está presente desde o século XIX, ela é considerada uma área da Antropologia, e que possui um valor muito importante nas investigações criminais e ações judiciais. Sua finalidade é estabelecer a identidade de um indivíduo, valendo-se dos conhecimentos das ciências anatômicas empregados em processos de identificação, portanto, avalia tanto cadáveres quanto pessoas vivas, em casos de desaparecimentos. Essa determinação é preceituada a partir dos conhecimentos da medicina legal, através de análises minuciosas, o que subsidia informações como idade, sexo, estatura, data e a circunstância da morte (HERCULES, 2014; CUNHA, 2017).

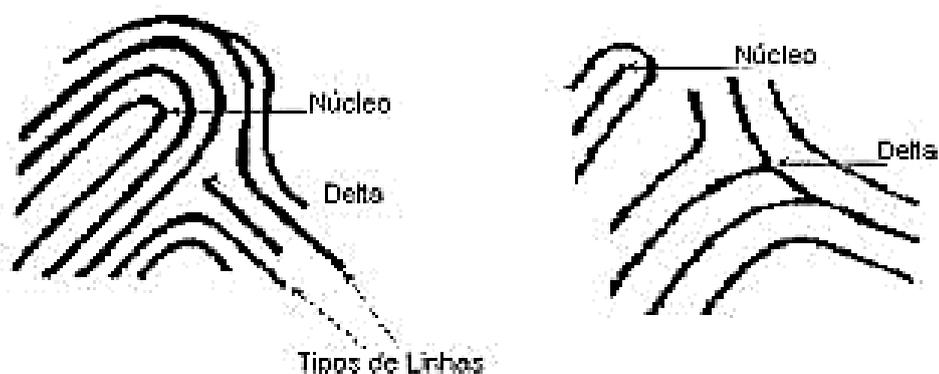
Os conceitos sobre o que realmente seria a identidade são relativas, mostrando-se subjetivo, pois, conforme o tempo passa, as pessoas modificam suas aparências, conforme envelhecem. O conceito subjetivo, estaria ligado a consciência da pessoa de quem ela é durante sua vida e pela forma que são estabelecidas as suas características que permite

individualizá-la. Porém, para âmbitos da antropologia forense a identidade de uma pessoa é conceituada como conjunto de caracteres individuais, que devem permanecer durante toda a vida, que podem distingui-la dos outros seres humanos, portanto consiste em uma unicidade e imutabilidade de suas características. Em vista disso, é muito importante o estabelecimento da identidade pós- morte, para ser encerrada a vida do ponto de vista jurídico (HERCULES, 2014).

O processo de identificação é nada mais do que o método utilizado para se obter a identidade de uma pessoa. Sendo um processo que foi evoluindo ao longo dos anos, pois a identidade de um indivíduo só deve ser definida quando há certeza dos fatos, não podendo haver dúvidas. Para que o processo contenha uma veracidade na pesquisa dos elementos deve-se analisar o conjunto de sinais e dados peculiares que também são chamados de elementos sinaléticos, esses têm por finalidade individualizar um sujeito a fim de excluir os demais. Os conjuntos de elementos sinaléticos para serem considerados eficientes devem dispor de quatro exigências, que são: classificabilidade, unicidade, praticabilidade e imutabilidade. (HERCULES, 2014; FERNANDES, 2015; CUNHA, 2017).

Os sinais utilizados em indivíduos vivos podem ser sinais funcionais, psíquicos ou físicos. Já em casos de cadáveres, os únicos elementos que podem ser analisados são as características físicas, porém, é provável terem algumas interferências na identificação post-mortem em razão de qual condição for encontrado o cadáver, quanto mais tempo levar para a realização do exame perinecropsópicico ou da autópsia, mais obstáculos no processo de identificação serão observados (Figura 1).

**Figura 1** - Impressão digital com núcleo e delta.



Fonte: COSTA, (2001)

Essas técnicas antropológicas são aplicadas nas pesquisas de corpos carbonizados, encontro de ossadas, cremação, dentre outros. Todos esses elementos contribuem para o aumento de resolução de crimes, além destas técnicas, métodos complementares baseados nos avanços tecnológicos atuais como radiografia dos seios da face para confrontos, reconstituição tridimensional do crânio por tomografia computadorizada e reconstrução facial, mostram a cooperação entre antropologia forense e a tecnologia atual (HERCULES, 2014; CUNHA, 2017).

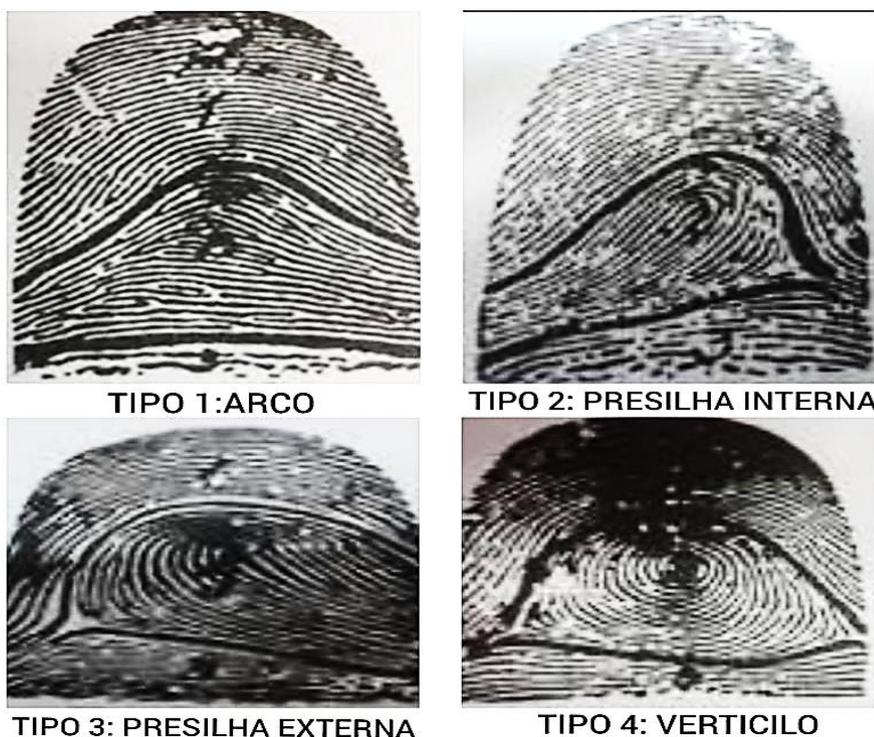
Os métodos de identificação ao longo do tempo foram passando por várias técnicas, aprimorando-se e evoluindo até chegar aos dias atuais. No século XIX, um método de identificação que foi muito utilizado na França, a antropometria, conhecido também por bertilhonagem, criado por Alphonse Bertillon, caracterizava-se por buscar e estudar as características morfológicas do esqueleto, correlacionando com impressões digitais para identificar indivíduos adultos. Através disso, eram preparadas fichas com fotografias sinalética de perfil e de frente, além de possuir medidas de estatura, comprimento de braço, antebraços, dedos médios e mínimos, já no verso da ficha eram anotadas algumas particularidades do indivíduo como tatuagens ou cicatrizes. A comparação para a identificação do criminoso era por eliminação de determinadas características, em últimos casos, quando não era possível identificar por esses meios, entrava em critério a utilização dos sinais particulares e as impressões datiloscópicas dos quatro primeiros dedos da mão direita. Esse método para obter impressões foi considerado sem praticabilidade e insuficiente, motivo pelo qual foi adotado novos procedimentos (HERCULES, 2014; FERNANDES, 2015).

A elaboração do método datiloscópico foi progredindo ao longo dos anos, com diversos estudos em que explicam o fato de o método superar os anteriores. Pelo fato de ser considerado mais prático, seguro e econômico, ele é utilizado para a identificação criminal. Para se obter uma maior dimensão do quão satisfatório é esse processo de identificação é preciso entender a ciência por trás dele (HERCULES, 2014; ROCHA, 2014).

A datiloscopia é uma área da papiloscopia na qual são estudadas as impressões das extremidades dos dedos e suas características. A pele é formada por um revestimento superficial, o que constitui o tecido epitelial e outra com maior profundidade que contém tecido conjuntivo, sendo respectivamente, epiderme e derme. É na epiderme em que vão ser encontradas algumas projeções que irão variar conforme a região, em que vão formar as cristas, sendo regiões separadas por sulcos pouco profundos que irão posteriormente serem observadas nas formas de linhas (HERCULES, 2014; ROCHA, 2014).

Muitos sistemas de classificação datiloscópica foram criados a fim de atender as demandas e necessidades da época. Um dos mais imprescindíveis foi o sistema papiloscópico criado por Juan Vucetich que, em 1896, substituiu o sistema de Bertillon. Vucetich foi um antropólogo, policial nascido na Croácia. Ele criou o seu sistema de classificação com base nos estudos de Galton, este método se mostrou um dos mais eficazes na identificação de impressões digitais, salientando a catalogação e arquivamento das impressões dérmicas papilares dos dez dedos das mãos. Ele estabeleceu quatro tipos de simbologias que eram empregadas as fichas decadatilares sendo elas: A (arco) que é ausência do delta, I (presilha interna) delta do lado direito, E (presilha externa) delta do lado esquerdo, e V (verticilo) presença dos dois deltas o qual designava o tipo das impressões dos polegares. Os demais dedos das mãos foram atribuídos com números como; 1 (arco), 2 (presilha interna), 3 (presilha externa), e 4 (verticilo) (Figura 2) (HERCULES, 2014).

**Figura 2** - Classificação datiloscópica evidenciando os deltas em relação a posição encontrada nas impressões digitais.



**Fonte:** Adaptado de GOMES (1969)

### 3.3 As amostras biológicas e a importância do sangue como vestígio

A investigação forense nos locais de crime, também conhecido como local do fato, é considerado todo local que tenha ocorrido um fato jurídico, que pode ser penalmente típico, e que necessita do esclarecimento da polícia judiciária. Portanto, a investigação no lugar da ação criminosa é uma das etapas mais importantes na formulação de um possível raciocínio lógico de como decorreu o crime, através do reconhecimento e coleta dos vestígios, no qual são potencialmente relevantes para a solução do caso. Para muitos autores o local do fato é considerado o berço dos vestígios. Um dos princípios fundamentais da criminalística que contribui para este pensamento é a teoria de locard que aborda “qualquer um, ou qualquer coisa, que entre em um local de crime, leva consigo algo do local e deixa alguma coisa para trás quando parte” (SOUZA, QUEIROZ, 2012).

Os diversos vestígios podem ser classificados em vários aspectos, conforme a sua disposição na cena, visíveis ou latentes, propositais ou acidentais. Além destes, um dos que possuem um valor significativo, são os vestígios biológicos, como saliva, sêmen, pelos, fios de cabelo, sangue, dentre outros. Pelo fato de conseguir extrair o DNA, pode levantar indícios de um determinado suspeito, mesmo que especificamente não consiga decretar um culpado ou inocente. Estas técnicas relacionadas ao uso do DNA geraram um enorme avanço para as investigações, encarregando-se que diversos casos sejam elucidados e colaborando na identificação de vítimas e suspeitos (SANTOS, MONTENEGRO; 2023).

O sangue é um dos vestígios biológicos, que predomina nas cenas. Manchas de sangue podem ser encontradas na maioria dos locais de crime, porém, são mais comuns em locais de crime contra a vida, crime de trânsito e crimes contra o patrimônio. Na hematologia forense, o estudo das morfologias das manchas de sangue é uma etapa muito importante, pois, pode revelar como iniciou e como ocorreu o fato. Estudando a localização, a quantidade e dinâmica das deposições sanguíneas, observa-se que essas características, irão depender da superfície que se encontram, tamanho do ferimento que o tenha produzido, o tempo em que se encontram no local, além de situações em que não forem encontradas manchas, é capaz de presumir probabilidades de alteração da cena, como forma de manipular o percurso da investigação (DEL-CAMPO, 2008; SANTOS, 2018).

Para que ocorra um levantamento ideal desse vestígio, é necessário ter uma preservação adequada do local de crime, para evitar que sua integridade morfológica e química se altere. A ausência da preservação da cena pode trazer dificuldades e

consequências para elucidação dos indícios, por estas questões, o ordenamento jurídico dispõe de um regulamento de procedimentos que devem ser seguidos a risco denominado cadeia de custódia (SOUSA, QUEIROZ, 2012).

Um dos casos criminais mais famosos internacionalmente, que representa a importância desse processo e aborda as amostras de sangue como vestígios cruciais, é do ex-jogador de futebol americano, indiciado por duplo homicídio. Na residência foram encontrados os corpos de Nicole Brown, ex-mulher de Orenthal James Simpson, e de um amigo da vítima. Na cena do crime os cadáveres estavam cobertos de sangue, havia gotas de sangue que se afastavam dos corpos, marcas de pegadas com a numeração de calçados que apontavam suspeita para o ex-jogador (DEL-CAMPO, 2008).

Na perícia realizada foram recolhidas amostras do sangue presente no local, que apresentaram ser compatíveis com o material genético de O.J. Simpson, assim, todos os vestígios apontavam a autoria do fato ilícito para ele. Porém, a defesa criminal de O.J. Exerceu um papel muito perspicaz, explorando falhas nos procedimentos periciais, durante análise e coleta dos vestígios e, dessa maneira, a defesa alegou que não teria uma garantia que as provas da investigação seriam verdadeiras, devido à falha na cadeia de custódia, acrescentando que a polícia poderia ter facilmente implantado evidências falsas, para prejudicar o réu. Baseado nessa estratégica defesa, em 3 de outubro de 1995, O.J. Simpson foi absolvido pelo crime de homicídio (DELCAMPO, 2008).

### **3.4 Coleta e armazenamento do sangue**

A coleta da amostra necessita de cuidados especiais, pois procedimentos equivocados podem contaminar o material ou misturar materiais distintos. Além destas circunstâncias, o manuseio inadequado pode trazer riscos aos profissionais. As amostras devem ser manipuladas com uso de luvas que sejam descartáveis, e a cada manuseio de amostras distintas é necessário que elas sejam trocadas para que se mantenha a integridade dos vestígios, bem como antes de serem coletadas, as manchas devem ser registradas por meio de fotografia (HERCULES, 2014; DEL-CAMPO, 2008).

Existem métodos específicos para coleta, nos casos das manchas de sangue encontradas secas em suportes sólidos fixos, como em tetos e paredes, é recomendado coletar com um algodão umedecido ou podem-se raspar as manchas e armazená-las em envelopes de papel, com o objetivo de evitar a retenção da umidade. Para uma posterior análise no laboratório, os vestígios poderão permanecer em temperatura ambiente inferior a 25 °C para

minimizar as intercorrências na amostra biológica. (HERCULES, 2014; DEL- CAMPO, 2008).

Já o sangue úmido, recomenda-se coletar com swab estéril seco, no caso de ser encontrado sangue na forma líquida, pode-se utilizar seringas ou pipetas, após esse procedimento da coleta, a amostra deve ser acondicionada em tubo de coleta sanguínea com propriedades anticoagulantes para que seja preservada as células sanguíneas. É ideal também que a amostra seja resfriada com gelo reciclável, portanto sendo mais um fator que irá contribuir para que seja mantida a integridade da amostra. Estas amostras também devem ser acondicionadas separadamente (HERCULES, 2014; DEL- CAMPO, 2008; SOUSA, QUEIROZ, 2012).

O transporte da amostra para o laboratório forense deve ser feito pelo servidor que a coletou, com assinatura do nome do respectivo profissional, devendo conter também a data e hora. Após isso, são recebidos os vestígios, este ato de transferência deve ser documentado para manter a cronologia do mesmo. O armazenamento dos vestígios pode ser realizado de forma provisória ou definitiva, dependendo do percurso da investigação (HERCULES, 2014; DEL- CAMPO; 2008).

### **3.5 A importância da quimiluminescência e testes *imunocromatográficos* na perícia**

Com o aumento de crimes hediondos, como homicídio qualificado, os vestígios dispostos na cena do crime são os mais diversos possíveis, muitos deles visíveis a olho nu. Contudo, em casos de alteração da cena, uma simples mancha de sangue pode se tornar um vestígio latente, ou seja, a limpeza da mesma pode afetar o levantamento da dinâmica do fato. Dentre esses motivos, é imprescindível que técnicas eficazes sejam aplicadas a estes tipos de locais, para que os resultados sejam precisos, até mesmo quando não é possível observar os vestígios. Sendo assim, o emprego de um fenômeno de luminescência, mais popularmente chamado de luminol, fez-se uma das técnicas mais utilizadas para visualizar o sangue oculto na área forense, portanto, revelando a morfologia das manchas de sangue que foram limpas pelo criminoso (VASCONCELLOS, PAULA, 2017; FERREIRA, ROSSI, 2002).

O luminol é um sólido cristalino, que consiste em uma reação de hidrazina com o ácido 3-nitro ftálico, por intermédio do aquecimento com a posterior redução do grupamento nitro do 5-nitroftalhidrazina para a formação do produto final. O método consiste em uma reação de emissão de luz, quando um átomo sofre uma transição eletrônica em que passa para uma camada eletrônica mais energética e ao retornar para o seu estado fundamental, ele libera a

energia em forma de luz, proporcionalmente a que ele absorveu. Portanto, para que a quimiluminescência tenha efeitos positivos, existem alguns critérios para sua reação, como número de energia à qual é suficiente para que as moléculas consigam absorver e, posteriormente, quando átomo voltar para seu estado fundamental e emitir luz na forma de fóton, sua faixa deve ter uma liberação de luz por volta 170-300kJ/ mol. Conforme esses fatores, a técnica apresenta uma alta sensibilidade, ampla faixa de resposta linear e instrumentação relativamente simples. Segundo alguns autores, a primeira vez que o luminol foi empregado para a visualização de sangue foi por Specth em 1937, na qual aplicou sobre manchas envelhecidas que estavam sobre as pedras, observando o efeito da quimiluminescência (VASCONCELLOS, PAULA, 2017; FERREIRA, ROSSI, 2002).

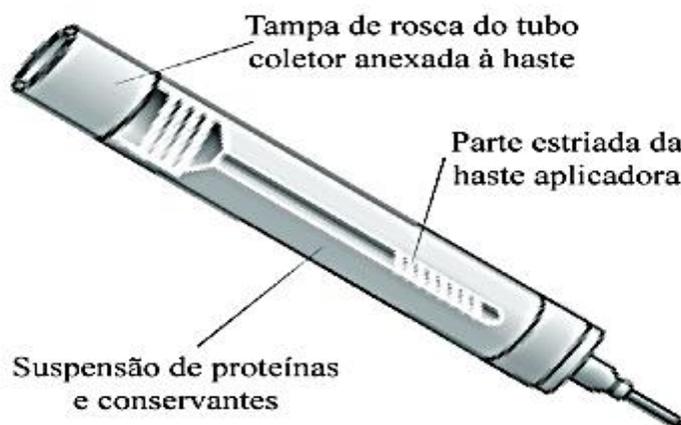
A utilização do luminol em relação ao sangue, está diretamente relacionada com sua interação com a hemoglobina, constituída por um grupo de quatro cadeias polipeptídicas e um grupamento prostético heme, que contém o ferro interagindo com o sistema pirrólico e uma porção proteica chamada globulina. Estudos abordam especificamente como acontece a interação do luminol com sangue, mais exatamente com o ferro, que constitui a hemoglobina, ocorrendo na porção heme em que contém  $Fe^{3+}$  em que sofre uma oxidação, o que equivale à perda de elétrons, formando  $Fe^{4+}$ , gerando assim, uma reação de luminescência. O sangue humano possui um maior tempo de duração e intensidade quando atua com o luminol. No entanto, apesar deste parâmetro positivo, ainda não se pode distinguir sangue humano de sangue animal, apenas com o fenômeno da quimiluminescência, o que configura uma dificuldade no âmbito do levantamento do local de crime (VASCONCELLOS, PAULA, 2017; FERREIRA, ROSSI, 2002).

Em vista disso, a utilização de testes imunológicos, mais especificadamente ensaios imunocromatográficos apresentam um alto valor na diferenciação de sangue humano para o sangue animal. Isso ocorre por meio da formação de um complexo, um anticorpo monoclonal, a anti-hemoglobina humana. Países como Alemanha e Suíça valem-se dessa técnica para verificar amostras biológicas coletadas em locais de crime, apresentando resultados positivos, até mesmo em amostras com um período longo de tempo e obtidas de cadáveres putrefeitos. Alguns dos testes comumente utilizados é o Hexagon OBTI sendo específico para a detecção de hemoglobina humana, porém, pode apresentar-se positivo para outros fluidos corporais, que não seja o sangue, resultando em um falso positivo (VASCONCELLOS, PAULA, 2017; LONGO, FILHO, VALADARES, ALONSO, GONÇALVES, AULER-BITTENCUR, 2011).

Outro teste que também é muito utilizado é Feca-Cult One Step Test, apesar de ser

empregado no âmbito forense, ele é inicialmente um teste laboratorial que busca identificar sangue oculto nas fezes. O princípio do teste consiste em uma tira que possui anticorpos monoclonais, anti-hemoglobina humana e, em outra parte, anticorpos anti-camundongo. Portanto, quando a amostra for inserida no teste e tiver a presença de hemoglobina humana, a amostra vai migrar ao longo da membrana, cromatograficamente por ação da capilaridade, e se for positivo aparecerá uma faixa de cor visível na linha teste e outra na área controle. O Feca- Cult One Step apresenta uma alta sensibilidade e eficácia na rotina forense, contribuindo para a diferenciação do sangue (Figura 3)(VASCONCELLOS, PAULA, 2017; LONGO, FILHO, VALADARES, ALONSO, GONÇALVES, AULER-BITTENCUR, 2011).

**Figura 3** - Ilustração do tubo coletor do Feca-Cult



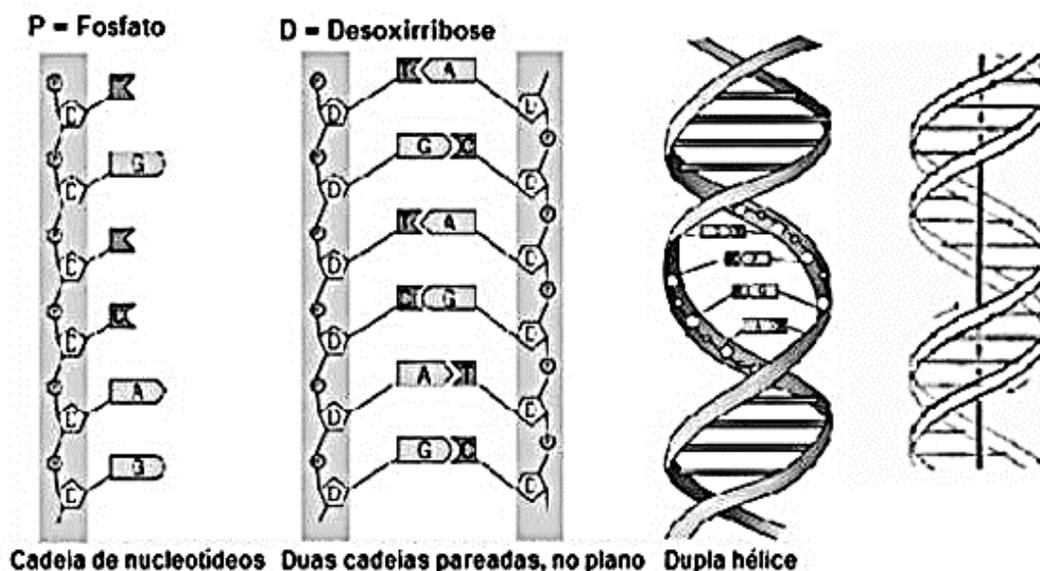
Fonte: LONGO, FILHO, VALADARES, ALONSO, GONÇALVES, AULER-BITTENCUR (2011)

### **3.6 O DNA e a importância das técnicas moleculares na perícia**

O DNA encontra-se presentes em todas as células nucleadas dos seres humanos, condensado dentro dos cromossomos. É uma molécula que armazena diversas informações sobre determinado organismo, que vai estabelecer a expressão de uma característica fisiológica, não somente, mas também como vai influenciar no fenótipo de cada indivíduo, para guardar informações genéticas e propagar para gerações futuras. O DNA é formado por duas fitas dupla hélice ou cadeias polinucleotídicas, que contém um grupo fosfato e uma pentose, a qual se denomina de desoxirribose, e também por bases nitrogenadas que se mantêm unidas pelas ligações não covalentes fracas, entre os pares. As bases nitrogenadas são divididas em purinas, que são adenina e guanina, e em pirimidina, que consiste na timina e citosina. A ligação entre as bases nitrogenadas sempre irá se der pelo ligamento de uma

adenina com timina, e da guanina com a citosina. A fita deve seguir uma direção oposta de a fita complementar, estabelecendo-se no sentido  $3' \rightarrow 5'$  e a outra,  $5' \rightarrow 3'$  (Figura 4) (CECCATTO, 2015).

**Figura 4** - Estrutura da molécula de DNA e a ligação dos nucleotídeos.



Fonte: WATSON E CRICK (Amabis, p. 152) (2001)

O DNA é organizado de maneira condensada na forma de cromossomos, esse papel é feito pelas subunidades proteicas, chamadas histonas, que são altamente conservadas evolutivamente e carregadas positivamente, ligando-se ao DNA por relações iônicas. Em algumas regiões específicas dos cromossomos, pode-se encontrar os genes, que são sequências do DNA que são transcritas e carregam informações sobre determinada característica, porém, possuem sequências que interrompem a sequência da proteína que será transcrita. Os introns são regiões não codificantes em que serão retiradas, e os exons correspondem às sequências codificantes, que serão unidas, e que irá dar origem ao RNA, traduzido no citoplasma em proteína. Esses processos de inclusão e retirada é denominado splicing. Subsequente, o agrupamento de todos esses cromossomos denomina o que é chamado de genoma (DECANINE, 2016; CECCATTO, 2015).

Com a evolução da biologia molecular, desde meados da década de 80, o estudo a respeito do DNA, tem crescido em largas proporções, se aprofundando em suas estruturas e funções. Os avanços já demonstram a capacidade de detecção de várias características comportamentais. Portanto, os avanços de novas técnicas, permitiu que a biologia molecular abrangesse várias áreas, uma delas é para fins de interesse da justiça (LING, KAPLAN,

BERRYSSA, 2021; DECAINE, 2016).

A Biologia forense é uma área que vem proporcionando aperfeiçoamentos significativos na investigação criminal desde a descoberta das impressões digitais. Isso decorre através das técnicas de identificação humana, valendo-se de marcadores genéticos não fenotípicos, por apresentarem altas taxas de polimorfismos, proporcionarem o anonimato das pessoas que estão sendo investigadas e não valendo de características físicas para a interpretação dos fatos (BUENO, 2004).

O emprego dos marcadores torna-se de grande magnitude na identificação de vítimas em desastres naturais, suspeitos em casos de estupro, homicídios e cadáveres em estados de putrefação. Considera-se revolucionária a aplicação de marcadores de DNA para identificação humana, visto que a cronologia dos eventos começou por meio da tipagem sanguínea e por fim os marcadores STRs, que concedem uma maior especificidade dos resultados (DECAINE, 2016).

Por conseguinte, o DNA, nas evidências forenses, são mais precisos que as testemunhas oculares, que podem se deixar pela conturbação dos fatos vivenciados, e fazer descrições errôneas, colaborando para condenações injustas (LING, KAPLAN, BERRYSSA, 2021; DECAINE, 2016).

Segundo Weedn; Swarnen (1998):

Nunca uma nova prova científica recebeu desafios legais intensos e tão altamente debatidos. A evidência do DNA é tão poderosa que a defesa tem pouco a escolher a não ser atacar as provas com vigor substancial (SWARNEN. 1998, p.1435):

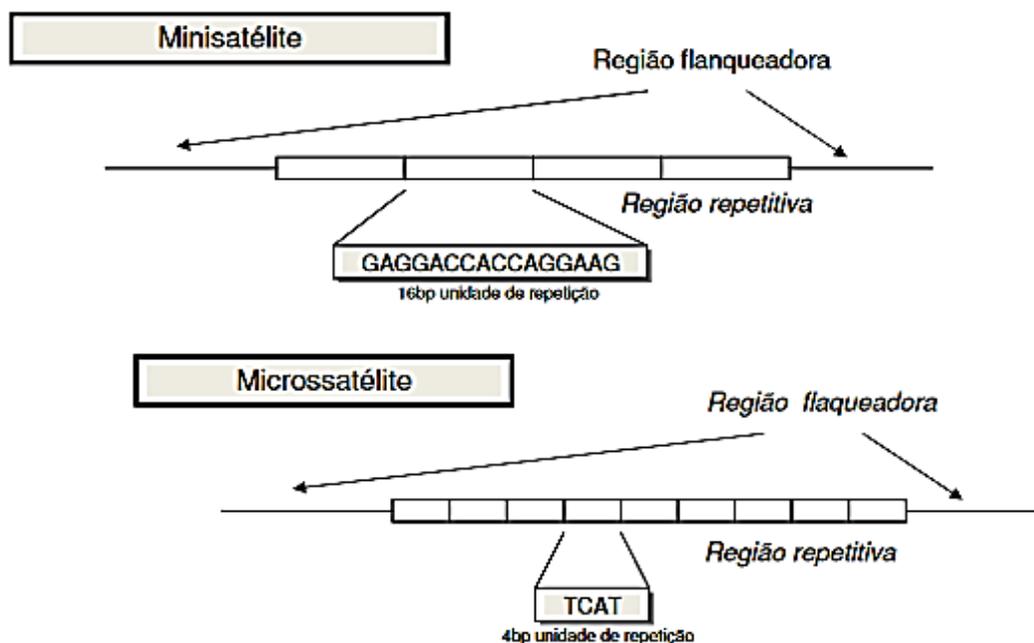
Com os avanços tecnológicos na área molecular, outros vestígios orgânicos, representam um potencial interesse a esfera criminal, como, saliva, lagrima, bulbo do cabelo, sangue.

Essas amostras possuem estabilidade química, além das diversidades gênicas em um segmento, no caso dos polimorfismos, que constitui uma alteração na sequência do DNA, variando de um indivíduo para o outro, por meio de características estruturais do DNA (DECAINE, 2016; BUENO, 2004; SANTOS, MONTENEGRO, 2023).

### **3.7 Os marcadores genéticos mais utilizados no âmbito forense**

No meio forense, o sequenciamento de STRs para a identificação humana tem-se apresentado muito rentável e eficaz. Os STRs são marcadores de microssatélites (Figura 4)

**Figura 5** - Minissatélite e microsatélite encontrados no DNA.



Fonte: BUTLER, (2005).

Eles possuem sequências com repetições de dois a seis nucleotídeos que seguem o padrão mendeliano de segregação, que irão conferir uma variabilidade para diferentes tipos de amostras, permitindo que identifique com exatidão um indivíduo (SILVA, 2018; OLIVEIRA, FILHO, 2018; DECAINE, 2016; FERNANDES, 2015).

Os microsatélites apresentam uma alta taxa de mutação, acontecendo em cromossomos homólogos, nos chamados loci, o que constitui de locais específicos do cromossomo, em que existem polimorfismos. Essas mutações são herdadas geneticamente e podem ser obtidas de qualquer parte do genoma humano. No entanto, os STRs não oferecem informações sobre descrições fenotípicas, ou qual célula ou fluido que foi base para a identificação do indivíduo, a partir desses sequenciamentos pode só obter a informação do sexo do indivíduo. Esse método de identificação por STRs é um dos mais utilizados, posto isto, é comumente adotado por diversos países, como Estados Unidos que possui o *Combined DNA Index System* (CODIS), banco de dados em que são armazenados os perfis genéticos, sendo gerenciado pelo FBI (Departamento de Investigação Federal). Para a associação de um perfil genético, a um determinado indivíduo, o FBI considera que na amostra de DNA tenha pelo menos 13 loci para a realização de uma análise em conjunto, a fim de que seja considerado um resultado satisfatório, devido à improbabilidade de que duas pessoas possuam os mesmos alelos (SILVA, 2018; OLIVEIRA, FILHO, 2018; DECAINE, 2016;

FERNANDES, 2015).

O *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR) também constitui como um dos marcadores genéticos utilizados na prática forense. Ele dispõe de repetições consecutivas de minissatélites sendo regiões altamente polimórficas. Os VNTR possuem uma semelhança com os STRs, porém, o que os diferencia é que os STRs são sequências polimórficas mais curtas. Os VNTR apresentam em torno de 500 a 1000 pb (pares de bases), apesar destes fatores, um dos empecilhos é que os minissatélites possuem uma considerável instabilidade, o que confere um aumento e diminuição do número de cópias passadas de uma geração para outra. Em razão de condições como estas, o STRs mostra-se mais aproveitável (DECAINE, 2016; FERNANDES, 2015).

Quando a amostra biológica é encontrada em condições, muito degradada, configura um obstáculo para seu sequenciamento, então, são usados SNPs que vão ser mutações pontuais, em que há substituição de um nucleotídeo por outro, que podem estar distribuídos por todo genoma humano. Eles geralmente são menos utilizados que os STRs, porém, ainda possuem um valor importante na área forense (SILVA, 2018; OLIVEIRA, FILHO, 2018).

A utilização de SNPs se torna adequada quando ele retém de 50 a 100 pb e, geralmente, eles são mais encontrados em partes não codificantes, constituindo os intróns, contudo, ainda há uma quantidade significativa de SNPs que se apresenta em genes conhecidos do genoma. Apesar de algumas questões sobre a utilização desse marcador genético, há algumas características que estão envolvidas no meio forense para seu sequenciamento, como SNPs para identificação, que vão permitir fazer a individualização ou exclusão de determinada pessoa através de uma amostra biológica. Os SNPs também vão estar presentes no DNA mitocondrial e nos cromossomos Y, devido a esses motivos, irão ser empregados em processos de identificação de pessoas desaparecidas ou desastres em massa. A relação dos SNPs com o DNA mitocondrial está estreitamente ligada ao fato que o DNA ser mais resistente que o DNA nuclear, não se degradando facilmente, o que representa uma maior probabilidade de ser encontradas cópias em amostras biológicas degradadas (SILVA, 2018; OLIVEIRA, FILHO, 2018).

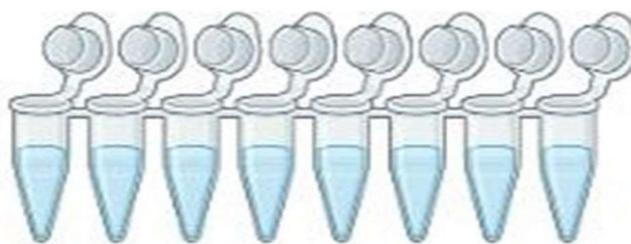
### **3.8 Técnica de PCR**

Um das técnicas moleculares mais comuns e utilizadas para determinar o material genômico é a amplificação de DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR). É um método que transformou a Biologia Molecular, a Farmácia, Botânica e a Ciências Forense. É um

procedimento *in vitro* que foi desenvolvida por Kary Mullis em 1983, em que se estabeleceu a ideia de *primer* de PCR, juntamente com a utilização de uma DNA polimerase termoestável, desenvolvendo também equipamentos para a realização da técnica. Devido a estes feitos que redefiniram a ciência, Mullis ganhou o prêmio Nobel em 1993. A técnica inventada por Mullis consiste em amplificar regiões gênicas específicas, correspondendo a um mecanismo de síntese artificial na qual imita uma replicação do DNA. Na área forense, ela tem uma importância significativa, pois mesmo com pequenas quantidades de amostras orgânicas como sangue, cabelo e pelos, a sensibilidade da técnica permite gerar uma grande quantidade de cópias, contribuindo para realizar confrontos genéticos (HERCULES, 2014; VIEIRA, 2011).

A tecnologia envolvida nessa técnica molecular consiste em três etapas, sendo necessária a utilização de alguns elementos como: a amostra, colocada em tubos (Figura 5)

**Figura 6** - Tubos utilizados na técnica de PCR



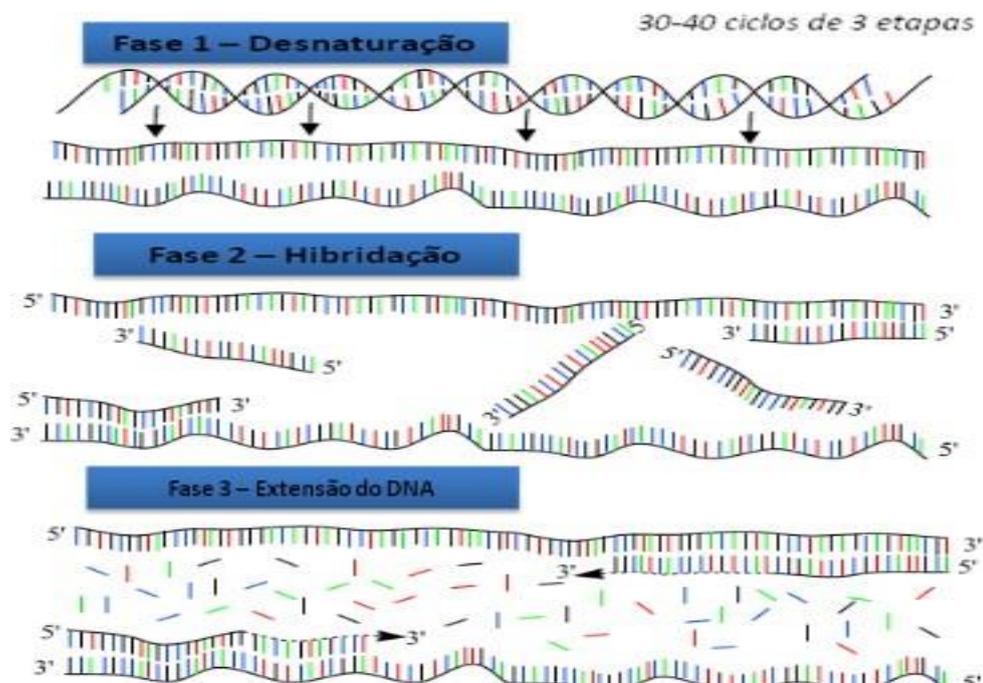
**Fonte:** Autoral, (2023).

Os *primers* que são os iniciadores da reação, na qual servem para localizar a região que deseja amplificar. Para que esses oligonucleotídeos atuem de forma eficaz é preciso manter estabilidade da concentração, em razão de que, uma alta concentração, pode levar a formação de dímeros, em contrapartida, uma baixa concentração, pode levar a uma má polimerização. Os desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTP's) se ligam a fita de DNA, para isso, eles precisam ser escolhidos conforme a demanda, pois em altas concentrações ou baixas, podem causar interferências no procedimento, levando a resultados desfavoráveis. A Taq polimerase é uma enzima extraída de uma bactéria denominada *Thermus aquaticus*, ela é colocada no início da reação permanecendo até o final. Isso ocorre devido ela ser termoestável, na qual possui uma vida média em torno de 35-40 minutos em temperaturas altas. O MgCl<sub>2</sub> é necessário porque na forma de Mg<sup>2+</sup> se liga a polimerase, considerando assim um substrato da mesma, para que ela atue. O tampão é importante para reter o pH da amostra controlado. E por fim um termociclador, o equipamento em que o tubo é colocado com

todos os reagentes, para que ocorra a amplificação do material (OLIVEIRA, 2010; CRUZ, 2017).

O primeiro passo compreende na desnaturação da fita dupla hélice, que compreende na abertura da mesma, pela ruptura das pontes de hidrogênio, por intermédio de um aumento na temperatura em aproximadamente de 94 °C a 96 °C . Na segunda etapa ocorre anelamento ou hibridização, processo em que há um pareamento dos iniciadores, que são considerados fragmentos de uma fita simples de DNA, com extremidade 5''-OH que serão ligados ao segmento de DNA, ligando os pontos iniciais e finais, por atuação de uma temperatura de 45 a 60°C. A terceira fase equivale à extensão, efetua-se em uma temperatura em volta de 72 °C a 76 °C, em que a Taq DNA polimerase tem o seu máximo pico de atividade, que vai agir pareando nucleótidos trifosfatados (dNTP's) que estão livres, com a outra fita do DNA molde, promovendo extensão do mesmo, no sentido 5''-> 3''. Após esse processo é realizado diversos ciclos de aquecimento e resfriamento, com a finalidade que o DNA recém-sintetizado, atue de molde para outras produções, dobrando a quantidade de DNA (Figura 6) (HERCULES, 2014; BONACCORSO, 2005; SOUSA, QUIROZ, 2012; OLIVEIRA, 2010).

**Figura 7** - Etapas do processo da PCR.



Fonte: OLIVEIRA, (2010)

A PCR apresenta-se como uma técnica muito rentável, além da sua sensibilidade e especificidade. Porém, acham-se algumas particularidades que necessitam de atenção, para a

perfeita execução da técnica, como amostras contaminadas por polissacarídeos, prejudicando a amplificação do material genético. Outro fator que afeta o procedimento, é o aparecimento de uma mancha denomina, smear estando relacionada às más condições que o DNA se encontra ao nested-PCR. Os resultados da PCR após amplificação do material genético, são observados por meio da eletroforese em gel. Portanto, esse material vai ser colocado em poços no gel de agarose ou poliacrilamida, que constitui a matriz, e através da indução de uma corrente elétrica esses fragmentos de DNA vão correr pelo gel, formando bandas que serão analisadas posteriormente (VIEIRA, 2011).

### **3.9 PCR em tempo real**

A PCR em tempo real possui uma significância importante na perícia criminal pelo fato, de que muitas vezes as amostras biológicas encontradas no local de crime se apresentam degradadas ou são encontradas em pequenas quantidades, o que dificulta o sequenciamento genético da amostra, porém, graças a técnica de PCR em tempo real, pequenas quantidades de sangue, podem ser utilizadas para gerar milhões de cópias. Em 1993, foi descrito por Higuchi pela primeira vez o que chamamos de PCR em tempo real, PCR quantitativa ou também qPCR. O mecanismo possui semelhanças com o PCR, porém, uma nova possibilidade foi adquirida, permitindo quantificar as cópias sintetizadas durante o procedimento, em razão do brometo de etídio estar ligado as moléculas de DNA, isso faz com que gere uma reação de fluorescência. A partir disso foi criado um sistema em que possui um câmera em que permite detectar a sintetização do DNA durante os ciclos. Portanto, é uma técnica automatizada de um alto rendimento proporcionado uma detecção simultânea (OLIVEIRA, 2010; NOVAIS, ALVES, 2004).

As fases da técnica apresentam uma semelhança com a da PCR convencional, sendo elas: fase de crescimento exponencial, este ponto permite a quantificação certa e reprodutível baseado na fluorescência; fase de crescimento linear é a qual inicia o processo de degradação em que os produtos são consumidos; fase estacionária atinge o maior nível de degradação o que corresponde a etapa final. Para que a quantificação seja precisa, são utilizados fluoróforos que são moléculas que absorvem e expressam luminescência em um determinado comprimento de onda. Eles devem ser colocados na amostra e emitir um sinal de fluorescência diretamente proporcional a quantidade que está sendo sintetizada (OLIVEIRA, 2010; OLIVEIRA, REGITANO, ROESE, ANTHONISEN, 2007; CRUZ, 2017).

Essa replicação vai ser capturada durante cada ciclo, para que isso ocorra

perfeitamente, é necessário que o termociclador contenha uma esquematização ótica para excitação da fluorescência e um software de alta capacidade para realizar a análise. OLIVEIRA, REGITANO, ROESE, ANTHONISEN, 2007; CRUZ, 2017).

Para que a análise seja exata é necessário que a interpretação de alguns pontos. O chamado *threshold* refere-se a um limiar de detecção, ou seja, o número mínimo de ciclos para amplificação da amostra. O ponto em que o *threshold* se cruza com a linha de amplificação da amostra permite determinar o número de ciclos necessários para o início da amplificação da sequência alvo presente no DNA, esse valor será chamado de Ct (cycle threshold). Por último, a baseline é considerada o limiar mínimo de detecção de fluorescência (OLIVEIRA, 2010; OLIVEIRA, REGITANO, ROESE, ANTHONISEN, 2007; CRUZ, 2017).

Atualmente, a técnica pode ser baseada em duas metodologias principais: por fluoróforos ou pelo uso de sondas específicas. O SYBR® Green é um fluoróforo que consiste em uma cianina assimétrica, que vai emitir uma fluorescência verde em que será medida e na mesma proporção, o que determinará a quantidade específica de DNA. Esse processo irá ocorrer quando ele se ligar ao meio da fita de DNA recém-sintetizada, durante a atividade da Taq DNA polimerase, em que esta reação será excitada através do sistema ótico do termociclador, sendo simultaneamente monitorada (OLIVEIRA, 2010; NOVAIS, ALVES, 2004; CRUZ, 2017).

Na etapa de desnaturação do DNA, haverá uma baixa na fluorescência devido ao fato das moléculas se desprenderem. Em contrapartida, as moléculas que não se ligarem ao DNA vão apresentar fluorescência insuficiente e o sinal produzido que vai aparecer na análise será muito baixo. Além dessas características, a reação pode ocasionar mutações e, estudos vêm abordando que ele pode ser um agente cancerígeno, contudo o SYBR® Green oferece vantagens imprescindíveis para a reação, sendo que ele pode ser utilizado para monitorar a amplificação de qualquer sequência de DNA dupla-fita. Portanto, não sendo necessário a utilização de sondas, o que constitui uma fácil manipulação, baixo custo e uma alta sensibilidade. (OLIVEIRA, 2010; NOVAIS, ALVES, 2004; CRUZ, 2017).

A detecção com o fluoróforo deve ter uma otimização extensiva, uma vez que não é próprio para uma estabelecida sequência de DNA. As sondas específicas, são fragmentos de DNA marcado por fluorocromo, utilizados na hibridização de uma dada sequência de DNA, o que permite detectar a amplificação de sequências de interesse, essa tecnologia é descrita como TaqMan®. Nesse procedimento é essencial a detecção e monitorização da

atividade exonucleotídica 5'-3' realizada pela Taq DNA polimerase. Este processo vai mediar a separação do quencher da molécula fluorescente, durante a extensão, pois a separação do fluoróforo do quencher vai ocasionar o aumento da intensidade de fluorescência, podendo ultrapassar o início CT. Portanto, essa metodologia vai conceder benefícios de precisão maiores que por outros recursos, não necessitando de processamento da amostra pós-PCR, além de ser uma técnica rentável e de baixo custo (OLIVEIRA, 2010; NOVAIS, ALVES, 2004; CRUZ, 2017).

### **3.10 A técnica de eletroforese no DNA forense**

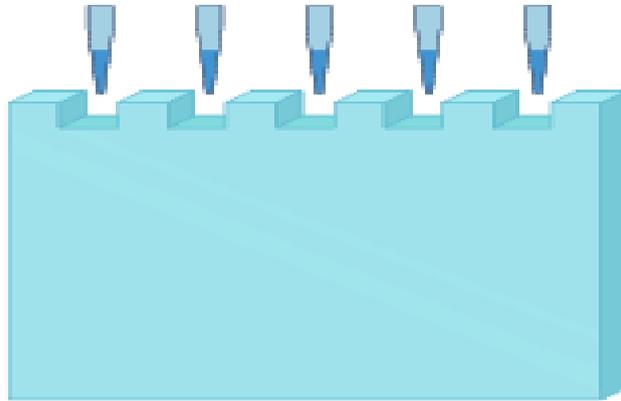
A eletroforese é uma técnica muito conhecida na área da biologia molecular que consiste na separação de diferentes tipos de moléculas de DNA de acordo com seu tamanho, sob influência de uma corrente elétrica e um gel de agarose. O deslocamento da partícula é decorrente de alguns critérios como uma carga efetiva, na qual o meio será utilizado para deslocamento (BRAMMER, 2001; OLIVEIRA, TRENTIN, CAMARGO, PINTO, MARTINS, 2015).

Sua origem foi em meados de 1937 por Arne Tiselius que desenvolveu estudos sobre a técnica, a partir de baterias de automóveis que exerciam a separação de fragmentos sob meio líquido. Com essas contribuições para a ciência, Tiselius conquistou um prêmio Nobel. Contudo, apesar de todos os incentivos a técnica apresentava limitações como a dificuldade de aplicação, ficando limitada a pesquisas científicas. Com o passar de alguns anos a técnica foi aperfeiçoando-se e, na década de 50, Curtis Willians e Pierre Grabar acabou realizando a técnica a partir da precipitação de imunoglobulinas e com o passar do tempo, a técnica foi obtendo melhorias, passando a utilizar outros tipos de proteínas. Com esses avanços, a eletroforese passou a abranger diversos estudos da genética humana não sendo somente utilizado para o diagnóstico clínico, sendo aplicada também em estudos de plantas, microrganismos e animais (BRAMMER, 2001; OLIVEIRA, TRENTIN, CAMARGO, PINTO, MARTINS, 2015).

Na eletroforese as proteínas ionizadas que possuem cargas negativas e positivas irão migrar pelo gel de agarose ou poliacrilamida que é matriz, esta mesma, é submetida a uma força eletroforética e eletroosmótica produzida por uma corrente elétrica, o emprego de uma maior carga contribui para a velocidade que esses fragmentos irão se mover pelo gel. Outro fator que irá contribuir para a migração será o peso molecular desses fragmentos, sendo que moléculas maiores tendem a correr menos pelo gel, localizando-se na parte de cima, porém as moléculas

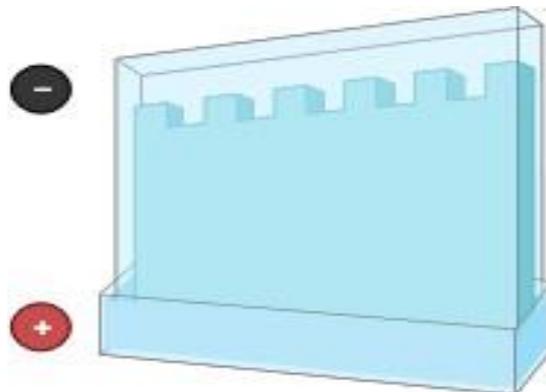
menores, poderão ser observadas na parte de baixo da matriz (Figura 8), (Figura 9), (Figura 10) (OLIVEIRA, TRENTIN, CAMARGO, PINTO, MARTINS, 2015).

**Figura 8** - Demonstração dos poços em que são colocados as amostras na cuba de eletroforese



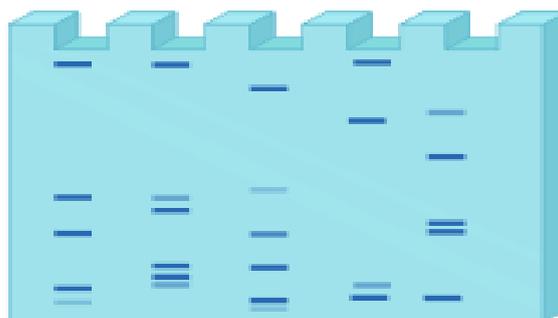
**Fonte:** Autoral, (2023).

**Figura 9** - Polo negativo e polo positivo em que as moléculas serão atraídas



**Fonte:** Autoral, (2023).

**Figura 10** - A migração das moléculas no gel.



**Fonte:** Autoral, (2023).

Para a realização da eletroforese é necessário ter polos, sendo assim constituídos por um ânodo (positivo) e cátodo (negativo), eles vão gerar um potencial elétrico, fazendo que a molécula DNA migre para o polo positivo (ânodo). Isso decorre do fato dela ser uma molécula com carga negativa. Outro fator de influência é o tamanho molecular, por essa razão bandas com menor peso ficam na parte inferior, já às de maior peso fica na banda superior. A escolha do gel vai contribuir na análise, recomendando-se a poliacrilamida para fragmentos pequenos, realizando sequenciamento de DNA tanto como RNA, e gel de agarose para fragmentos maiores (NAOUM, 2010; OLIVEIRA, FILHO, 2018).

A técnica de eletroforese consiste em etapas, primeiramente é necessário realizar o preparo da amostra, a agarose aparenta uma consistência de um gel gelatinoso, para sua execução. Deve-se dissolver o pó de agarose para a quantidade de fragmento de interesse, adicionando a solução tampão, que servirá para manter o pH da eletroforese constante, permitindo a troca de íons e elétrons. Após a homogeneização, é levado para aquecer, de modo em que a substância irá ficar transparente, logo após, irá posicionar os pentes que vão produzir os poços para colocar a amostra de DNA. Quando esfriar o gel, o mesmo será adicionado a uma Cuba de eletroforese, onde ficam os fios de platina que irão produzir a corrente elétrica (NAOUM, 2010). Posteriormente, será misturada ao DNA uma solução tampão. Na solução tampão pode ser adicionado corante, que irão ajudar a tonalizar a amostra, para serem visualizadas as bandas ao longo da migração. Outra etapa importante é acrescentar marcadores que vão contribuir para visualização dos tamanhos do fragmento. O conjunto dessas bandas do DNA poderá ser observado através de fotografias ou esquemas (BRAMMER, 2001).

A corrida do DNA vai consistir quando os fragmentos do DNA serão separados, sairão do poço e indo para gel, ocorrendo à migração, por ação da corrente elétrica. Sendo assim a velocidade de migração da molécula vai ser proporcional a voltagem elétrica, sendo que, a voltagem empregada na eletroforese é de 1 a 5 V/cm. Para a visualização do seguimento é recomendado incorporar um corante denominado brometo de etídeo (EtBr), entre as bandas dos ácidos nucleicos, e por meio da incidência de uma luz ultravioleta sob a amostra, ela irá emitir luz (fluorescência) que será proporcional à concentração de DNA. Portanto, a análise dessa amostra após submetida a técnica de eletroforese vai permitir o sequenciamento do material genético,

que posteriormente, vai ser realizado um confronto de perfis no banco de dados genéticos, com a finalidade de apontar o autor do crime (BRAMMER, 2001; NAOUM, 2010).

### **3.11 Banco de dados genéticos**

O banco de dados genéticos constitui uma grande evolução para a identificação na área criminal, cominando de questões científicas e com uma tecnologia de amplo desempenho, exerce um papel de grande relevância no armazenamento de perfis genéticos adquiridos de locais de crime chamados de “Índice Forense”. Por outro lado, o “Índice de Criminosos” configura perfis de criminosos devido a crimes violentos. A análise do DNA vem se tornado cada vez mais importante para decisões judiciais, além de contribuir com a diminuição de condenação de inocentes, pois determina uma autoria delitiva muito precisa. (CORDEIRO, 2021; SILVA, 2018; SOUZA, 2019).

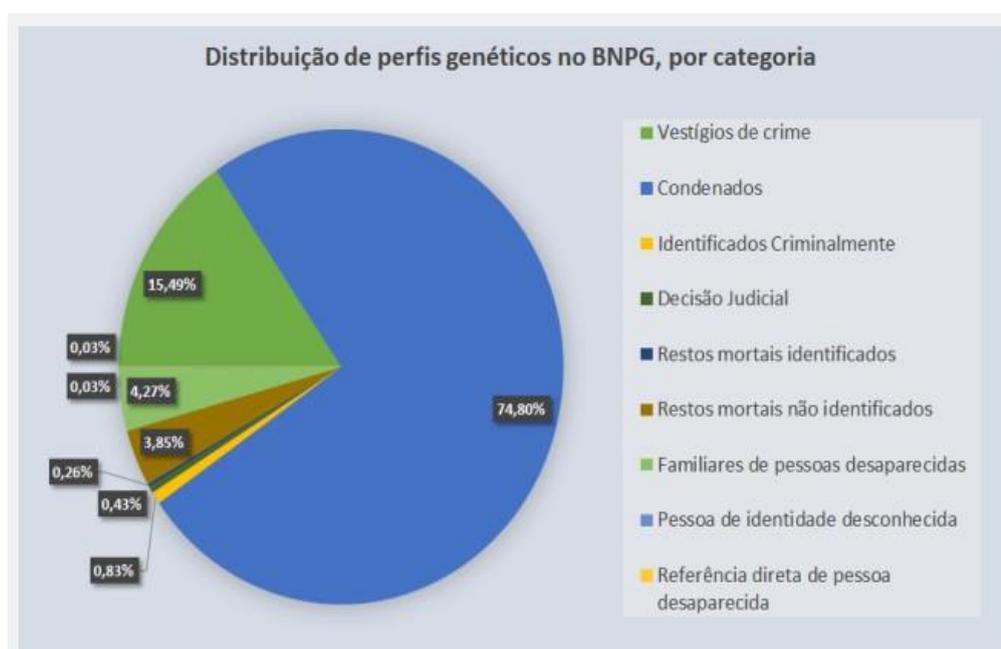
Para que o manejo desses confrontos aconteça, permitindo uma análise criteriosa dos perfis, foi empregados bancos de dados com software de alta tecnologia, como é no caso do CODIS Combined DNA Index System. Esse sistema é um banco de dados genéticos criados pelos Estados Unidos, no qual é gerenciado pelo FBI. Esse banco de dados foi criado com objetivo realizar a interligação sincronizadas de unidades, como federais e, até mesmo internacionais para o confronto de amostras de DNA, expressando uma elevada praticidade. A implementação de um perfil no CODIS promove-se por alguns critérios, sendo um deles, o marcador genético, mais comumente o STRs, que deve possuir pelo menos 13 loci para ser individualizada uma amostra. Essa análise em conjunto, permite uma maior exatidão dos resultados, esses fatores vão de encontro com a improbabilidade de que duas pessoas possuam os mesmos alelos. O fato da internacionalização se dá em razão da seleção do marcador STRs também ser utilizado pela Grã-Bretanha em atividades da INTERPOL (DECAINE, 2016; SILVA, 2018; SOUZA, 2019).

O Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNGP) no Brasil está regulamentado pela lei n.º 12.654, de 28 de 2012, na qual aborda sobre os processos de identificação criminal por meio da coleta de material genético. A Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) foi estabelecida pelo Decreto nº 7950/2013, se tratando de uma colaboração da Secretaria Nacional de Segurança Pública com a Polícia Federal. O sistema em que a (RIBPG) utiliza é o mesmo que dos Estados Unidos, Combined DNA Index System (COIDS). Atualmente no Brasil tem 22 laboratórios de genética forense que integram a RIBPG, sendo 20 laboratórios estaduais, um sobre o comando da Polícia Federal e mais outro laboratório

distrital. Portanto, os confrontos de perfis genéticos são feitos interestadualmente e que também são compartilhados com outros países por meio da INTERPOL (CORDEIRO, 2021; RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023).

A contribuição do Brasil com a Organização Internacional de Polícia Criminal, buscou como objetivo o compartilhamento de perfis para auxiliar na identificação de pessoas desaparecidas, ademais, são incluídos para envio de maneira semestral, perfis obtidos de locais de crime e de restos mortais não identificados (Figura 11) (CORDEIRO, 2021; RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023).

**Figura 11** - Distribuição das categorias de perfis genéticos existentes no BNPG



**Fonte:** XV RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS (2021)

Os procedimentos de coleta das amostras são realizados em casos de condenados por crimes hediondos e com emprego de violência contra a pessoa. Porém, apesar da lei dispor deste método de identificação, o presente método, constitui de algumas burocracias para obtenção do perfil, portanto, em conformidade a está questão é necessário que a extração do material genético em casos de condenados seja fundamentada por uma decisão judicial. Há também uma previsão legal que aborda o fato da privacidade dos indivíduos que foram submetidos a esse tipo de identificação, possibilitando a exclusão dos perfis quando o prazo do término do crime for prescrito (MACORIN, 2018; RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023; SOUZA, 2019).

A forma que será coletada as amostras de condenados devem seguir os padrões estabelecidos na lei, portanto, não consiste em uma técnica invasiva e dolorosa, o que irá

resguardar a integridade física da pessoa. A técnica efetuada será com base na coleta de esfregaço bucal com swab. A avaliação dos perfis genéticos também deve dispor de privacidade e confidencialidade, assim seguindo os preceitos que compõe a Declaração dos direitos humanos (MACORIN, 2018; RELATÓRIOS DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023; SOUZA, 2019).

Portanto, o BNGP segue critérios rígidos garantindo segurança das informações presentes nele, não sendo aceito a identificação por características somáticas, informações relacionadas a orientação sexual, bem como o estado de saúde, permitindo que será preservada a integridade do indivíduo, portanto, não ocasionado constrangimento a sua pessoa. Porém, apesar de todas as medidas, pode-se ter eventuais riscos como o uso ilegítimo dessas informações genéticas, logo, para que essas falhas sejam minimizadas há algumas recomendações como: o perfil deve possuir um código e não um nome relacionado a ele; deve ser armazenado apenas o perfil genético suficiente para individualizar uma pessoa; o acesso às informações genéticas deve ser exclusivo de pessoas, com autorização para acessá-las (MACORIN, 2018; RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023; SOUZA, 2019).

No Brasil um dos crimes que tem mais incidência são os crimes contra a dignidade sexual, apresentando no banco de dados genéticos uma prevalência sob outros crimes. Segundo o relatório atual da RIBGP, 40,5% dos perfis genéticos estão relacionados a crimes sexuais, eles são inseridos no banco de dados sendo provenientes de vestígios de locais de crime, 38% referente a crimes contra o patrimônio e 10,7% a crimes contra a vida. No que se refere aos laboratórios que mais contribuem com vestígios de crimes, são em primeiro lugar São Paulo com 10.490 perfis, Polícia Federal com 3.129 perfis genético, Goiás possui 2.737 perfis, Paraná 1.655 perfis e Pernambuco 1.373 perfis (RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2023).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os altos índices de criminalidade crescendo no país, se faz necessário o incentivo de ampliar a tecnologia e a ciência na área forense, para que o percentual de casos solucionados aumente, contribuindo com a paz e a segurança pública da sociedade. Em razão disso, é necessário o investimento principalmente em técnicas que busquem apontar a identificação do autor do crime, já que testemunhas oculares podem apresentar falhas, levando uma falsa acusação ou até mesmo absolvição do criminoso.

Devido a esses motivos, a aplicação de técnicas de biologia molecular e determinados marcadores genéticos como os STRs vem sendo amplamente empregado a favor da justiça criminal, como um processo de identificação eficiente e mais seguro, sendo uma técnica revolucionária comparada a outros métodos anteriores, constituindo um avanço extraordinário, portanto expressando o elo da ciência com a justiça

Porém, mesmo com a expansão das técnicas de DNA, a perícia carece de investimentos financeiros para ampliação de seus recursos, esses fatores surgem em razão da polícia científica não estar presente na constituição federal como um órgão de segurança pública, na qual dificulta à autonomia da instituição, em casos que estão estreitamente ligados a polícia judiciária civil, em contrapartida, estados que estão desvinculados não há uma padronização com os demais.

Complementando, o fato de ser uma área que começou a ser reconhecida há poucos anos, e a sociedade não compreender a sua devida importância para o curso das investigações, é refletido em poucos estudos científicos e divulgação a seu respeito. Com base nestas circunstâncias, torna-se indispensável o aperfeiçoamento de novas técnicas e ensinamentos na área forense, para elucidação de casos criminais.

## REFERÊNCIAS

- AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. **Fundamentos da biologia moderna**. 2aed. São Paulo: Moderna, 2001.
- ALVES, M. P.; NOVAIS, C. M. PCR em tempo real: Uma inovação tecnológica da reação em cadeia da polimerase (PCR). **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília**, p. 10- 13, 2004.
- BARROSO, E. W. S. et al. **Conscientização sobre o local de crime e as evidências materiais, em especial para pessoal não-forense. 2010.**
- BRAMMER, S. P. **A técnica de eletroforese: importância e aplicações em análises genéticas.** 2001.
- BONACCORSO, N. S. **Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes.** 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- BUENO, V. **DNA e aperfeiçoamento das técnicas de extração.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 26, p. 233-234, 2004.
- BUTLER JM (2005) **Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR markers.** Press EA.
- CECCATTO, V. M. **Ciências biológicas: Biologia molecular.** 2ª Ed. 2015.
- CRUZ, F. B. C. et al. **Desenvolvimento de protocolo de PCR em tempo real para monitoramento da carga viral de cmv em pacientes pós-transplante renal.** 2017. Tese de Doutorado.
- CUNHA, E. Considerações sobre a antropologia forense na atualidade. **Revista Brasileira de Odontologia Legal**, v. 4, n. 2, 2017.
- COSTA, S. M. F. (2001). **Classificação E Verificação De Impressões Digitais,** Engenharia Elétrica de São Paulo, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo 2001.
- CORDEIRO, M. L. A. L. **IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO.** *Virtuajus*, v. 6, n. 11, p. 274-290, 2021.
- DA SILVA, T. F; DE OLIVEIRA, F. Q. M; BASTOS, V. P. **Perícia Criminal e a Legislação Brasileira.** *Revista Brasileira de Criminalística*, v. 11, n. 2, p. 14-23, 2022.
- DECANINE, D. **O papel de marcadores moleculares na genética forense.** *Revista Brasileira de Criminalística*, v. 5, n. 2, p. 18-27, 2016.
- DE SOUSA, A. S; DE OLIVEIRA, G. S; ALVES, L. H. **A pesquisa bibliográfica: princípios e fundamentos.** *Cadernos da FUCAMP*, v. 20, n. 43, 2021.

DE OLIVEIRA, T. S.; DE MORAES FILHO, A. V. **Técnicas de Biologia Molecular Utilizadas para Desvendar Crimes. Saúde & Ciência Em Ação**, v. 4, n. 1, p. 89- 102, 2018.

DEL-CAMPO, E. R. A. **Exame e levantamento técnico pericial de locais de interesse à justiça criminal: abordagem descritiva e crítica**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DOS SANTOS, A. E. **As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. Revista Brasileira de Criminalística**, v. 7, n. 3, p. 12-20, 2018.

DA ROCHA, J. S. A importância da antropologia forense na responsabilização dos crimes contra a humanidade praticados do Brasil em regimes autoritários. **Revista da Faculdade de Direito de São Bernardo do Campo**, v. 20, 2014.

FERREIRA, Ernesto C.; ROSSI, A. V.. **A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. Química Nova**, v. 25, p. 1003-1011, 2002.

GOMES, H. **Medicina Legal**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1969. HERCULES,

H. C. **Medicina Legal: Texto e Atlas**. 2ª Ed. Ateneu. 2014.

LING S; KAPLAN J; BERRYESSA CM. **The importance of forensic evidence for decisions on criminal guilt. Sci Justice**. 2021 Mar;61(2):142-149. doi: 10.1016/j.scijus.2020.11.004. Epub 2020 Nov 18. PMID: 33736846.

Longo, P. E., Dias Filho, C. R., Valadares, M. P. O., da Costa Alonso, E., dos Santos Gonçalves, S. P., & Auler-Bittencourt, E. A. Avaliação comparativa de teste imunocromatográfico para identificação forense de sangue humano. **Revista brasileira de criminalística**, v. 1, n. 1, p. 16-21, 2011.

NAOUM, P. C. **Eletroforeses: Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas, DNA**.

Grupo Gen-Livraria Santos Editora, 2000.

MACORIN, P. S. C. **A Utilização do Banco de Dados de Perfis Genéticos na Persecução Criminal: uma abordagem sobre os direitos de personalidade e o princípio da não autoincriminação**. 2018.

Oliveira, E. D., Trentin, T. D. C., Camargo, F., Pinto, Y. D. P., & Martins, D. B. (2015). **Eletroforese: conceitos e aplicações**.

OLIVEIRA, T. M. dos S. **PCR em tempo real: métodos e aplicações. Dissertações de Mestrado. Universidade de Aveiro**, 2010.

Oliveira, M. D. S., Regitano, L. D. A., Roese, A. D., Anthonisen, D. G., PATROCINIO, E. D., PARMA, M. M., ... & BELICUAS, S. N. J. (2007). **Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase**.

RIBPG. **XV RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS**. Brasília : Comitê Gestor RIBPG, 2021.

RIBPG. **XVI RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS**. Brasília: Comitê Gestor RIBPG, 2021.

SILVA, G. do V. **Análise de marcadores forenses (STRs e SNPs) rotineiramente empregados na identificação humana utilizando sequenciamento de nova geração**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. FERNANDES, Isabella Lacerda et al. **Estimativa da taxa de mutação de marcadores STRs do cromossomo Y em uma amostra da população brasileira e sua importância no processo de identificação humana**. 2015.

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**. Toledo: **Prime Support Assessoria em PT Ltda**, 2019.

SANTOS, A.C.J; MONTENEGRO, A.K.A. **O papel da Biologia Forense na resolução de crimes de grande repercussão no Brasil e no mundo: uma revisão**. Revista Brasileira de Criminalística, v. 12, n. 2, p.12-20, 2023.

SOUSA, J. M; QUEIROZ, P. R. M. **Coleta e preservação de vestígios biológicos para análises criminais por DNA**. Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde, v. 16, n. 3, 2012.

TORNAGHI, H. **Curso de processo penal**. 6. ed. São Paulo: Saraiva, 1989. v. 1. VIEIRA,

D. P. **Técnicas de PCR: Aplicações e Padronização de Reações**. v. 18, 2011.

VASCONCELLOS, F. A.; PAULA, W. X. **Aplicação forense do luminol—Uma revisão**. Revista Criminalística e Medicina Legal, v. 1, n. 2, p. 28-36, 2017.

WEEDN, V. W; SWARNEN, S. L. **Exames forenses de identificação por análises do DNA**. In: HENRY, J. B. et al. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19ª ed. São Paulo: Manole, 1998, p.1427-1438.