



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**  
**CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

**CELSO MARINONES SILVA ARAÚJO**

***PERFIL DAS IDENTIFICAÇÕES HUMANAS REALIZADAS NO NÚCLEO DE  
PERÍCIA EM DNA FORENSE DO ESTADO DO CEARÁ (NUPDF-CE) - PEFOCE***

**FORTALEZA - CE**

**2013**

**CELSO MARINONES SILVA ARAÚJO**

***PERFIL DAS IDENTIFICAÇÕES HUMANAS REALIZADAS NO NÚCLEO DE  
PERÍCIA EM DNA FORENSE DO ESTADO DO CEARÁ (NUPDF-CE) - PEFOCE***

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. André Luis Coelho da Silva - Orientador  
Universidade Federal do Ceará (CC-UFC)

---

Perita Criminal Ad. Teresa Cristina Lima da Rocha  
Supervisora do Núcleo de Perícia em DNA Forense - PEFOCE

---

Prof. Dra. Samara Cardoso da Silva Santiago  
Faculdade Maurício de Nassau - Fortaleza

*Dedico este trabalho aos meus pais, pela renúncia do luxo, pelo esforço, dedicação, paciência e compreensão em todos os momentos da minha vida, às minhas irmãs pela força e apoio que sempre me deram.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia.

Aos meus pais, Celso José e Maria de Fátima, que sempre estiveram ao meu lado me aconselhando e me apoiando em todas as minhas decisões, por terem feito o possível e o impossível para que eu chegasse aonde eu cheguei. Só Deus sabe as renúncias e dificuldades que vocês tiveram que passar para dar a melhor educação para seus filhos. Sou extremamente grato a vocês, pelos valores e morais que me passaram moldando meu caráter. A gratidão que tenho por vocês ninguém, jamais, conseguiria expressar em palavras.

Às minhas irmãs, Jacira, Germany e Eurides que sempre me apoiaram e me ajudaram em minhas conquistas, por terem sempre acreditado em mim e nos meus sonhos.

A minha prima, Cecília, que foi peça essencial na minha caminhada, dando-me a oportunidade de ter tido o melhor ensino o qual eu poderia ter.

A toda minha família, que sempre estiveram presentes e colaboraram nesta minha caminhada.

A minha namorada, Helena Karina, que compartilhou comigo esse momento, foi muito paciente em minhas ausências e me ajudou bastante me dando dicas e apoio moral.

Aos meus amigos, colegas e professores do Colégio Espaço Aberto em especial, Rafael, Josué, Alysson, Ítalo, Jonathan, Caio, Giovana e Vanessa, o melhor grupo de estudo que esse colégio já viu, sempre estiveram ajudando uns aos outros.

A todos os colegas e amigos que estiveram presentes na minha trajetória acadêmica que contribuíram com sua força, conselhos, ajuda e colaborações.

A família LabFIVE, em especial a duas grandes pessoas que viraram um exemplo e inspiração na minha vida acadêmica: Professor Enéas Gomes, que me acolheu tão bem em seu laboratório e juntamente com seu aluno Rafael Miranda proporcionaram-me tantos aprendizados, além da minha inserção na pesquisa científica.

A todos os membros do BioAP, em especial a professora Marjory Holanda e o professor Hermógenes.

Ao Núcleo de Péricia em DNA Forense do Estado do Ceará e todos os seus membros, que me aceitaram como estagiário e me proporcionaram uma enorme aquisição de experiência e conhecimento, em especial à perita supervisora Teresa Cristina e ao perito Júlio Torres, juntamente ao meu orientador, professor André Coelho (UFC), por seu apoio e inspiração no

amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução e conclusão desta monografia.

*"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."*

*José de Alencar*

## RESUMO

A identificação humana através da análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) é realizada pelo estudo de regiões polimórficas do DNA transferidos dos pais aos filhos pelo mecanismo de herança genética. Os marcadores mais utilizados na rotina forense são regiões microssatélites ou STRs (Short Tandem Repeats), STRs autossômicos e do cromossomo Y (Y-STRs), e regiões hipervariáveis do DNA mitocondrial (mtDNA). Estes últimos sendo aplicados com a finalidade de complementar os dados obtidos com os demais marcadores. Foi realizado o levantamento de todos os casos de identificação humana analisados no Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado do Ceará (NUPDF-CE) no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013 com o objetivo de avaliar o perfil dos casos. Através dos dados obtidos, verificou-se que houve um crescimento no número de casos nos últimos anos; cerca da metade dos casos analisados pertence à região metropolitana; a maior parte dos casos analisados é referente a indivíduos do sexo masculino; a maioria das identificações realizadas foi proveniente de ossadas; na identificação a partir de ossos, o fêmur, costela e vestígios dentários são os tipos de amostras mais enviadas; O músculo cardíaco é o principal tipo de amostra utilizada na identificação de fetos e corpos carbonizados; sangue e *swab* sanguíneo são as amostras mais enviadas em casos de corpos preservados; as técnicas e metodologias utilizadas possuem um grande poder discriminatório sendo necessário 1 ou 2 amostras referências para conclusão dos casos; a maioria dos familiares encaminhados para confronto de perfil genético foram supostas mães dos cadáveres.

**Palavras-chave:** Identificação Humana, DNA Forense, STR, NUPDF-CE.

## ABSTRACT

The Human identification by examining the desoxirribonucleic acid (DNA) is held by the study of polymorphic regions of the DNA, transferred from the parents to their children by mechanism of genetic inheritance. The more used markers in forensic routine are microsatellites regions or STRs (Short Tandem Repeats), STRs autosomal and Y chromosome (Y-STRs), and hypervariable regions of mitochondrial DNA (mtDNA). These last being implemented with the aim to complement the data obtained with other markers. The survey of all cases of human identification were analyzed at the *Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado do Ceará* (NUPDF-CE), in the State of Ceará, from January 2011 to October 2013, this study aimed to evaluate the profile cases. From the data obtained, it was verified that there was an increase in the number of cases in recent years. About half of the cases analyzed belongs to the metropolitan area. Most of the cases analyzed were related to males, most of the identification was made from bones; from this type of identification, the femur, the ribs and dental remains were the most sent samples. The cardiac muscle is the main type of sample used in the identification of fetuses and charred bodies, blood and swab blood samples are the most sent samples related to preserved bodies. The techniques and methodologies used have a great discriminatory power, it was necessary one or two samples references for the conclusion of cases; most relatives referred to genetic profile comparison were the presumed cadavers' mothers.

**Keywords:** Human Identification, Forensic DNA, STR, NUPDF-CE.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 1</b> – Locos STRs recomendados pelos principais bancos de dados de DNA e alguns dos sistemas multiplex disponíveis atualmente no mercado. ....	20
<b>Figura 1</b> – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por ano. ....	26
<b>Figura 2</b> – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por mesorregiões geográficas. ....	27
<b>Figura 3</b> – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por ano e mesorregiões geográficas....	28
<b>Figura 4</b> – Sexo dos corpos identificados realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	29
<b>Figura 5</b> – Natureza das amostras analisadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. ....	29
<b>Figura 6</b> – Casos de ossadas analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por mesorregiões. ....	30
<b>Figura 7</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de ossadas humanas analisadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	31
<b>Figura 8</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres em estado de putrefação analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	32
<b>Figura 9</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres exumados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	33
<b>Figura 10</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de corpos carbonizados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. ....	34
<b>Figura 11</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres preservados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. ....	35
<b>Figura 12</b> – Tipo de amostras enviadas para a identificação de fetos analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. ....	35
<b>Figura 13</b> – Resultados obtidos nas análises de 118 casos de identificação humana, realizadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	36
<b>Figura 14</b> – Número de amostras referências utilizadas por casos de identificação humana, realizadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013..	37

<b>Figura 15</b> – Sexo dos familiares encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. ....	38
<b>Figura 16</b> – Grau de parentesco dos familiares, pertencentes ao sexo feminino, encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	39
<b>Figura 17</b> – Grau de parentesco dos familiares, pertencentes ao sexo masculino, encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.....	39

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AmpFLP	-	Polimorfismo do comprimento amplificado do fragmento de DNA
AS STRs	-	<i>Autosomal Short Tandem Repeats</i>
CODIS	-	<i>Combined DNA Index System</i>
DNA	-	Ácido Desoxirribonucléico
DTT	-	Dithiothreitol
EDTA	-	Ácido Etilenodiaminotetracético
FBI	-	<i>Federal Bureau of Investigation</i>
IBGE	-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Interpol	-	<i>International Police</i>
LTRs	-	<i>Long Tandem Repeats</i>
MPL	-	Sonda multilocal
mtDNA	-	DNA mitocondrial
NCBI	-	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
°C	-	Graus Celcius
PCR	-	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RFLP	-	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SENASP	-	Secretaria Nacional de Segurança Pública
SNPs	-	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STRs	-	<i>Short Tandem Repeats</i>
VNTRs	-	<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>
Y-STRs	-	<i>Y- Short Tandem Repeats</i>
µL	-	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1 O DNA .....	12
1.2 IDENTIFICAÇÃO HUMANA .....	16
1.3 BANCO DE DADOS .....	21
1.4 NÚCLEO DE DNA FORENSE DO ESTADO DO CEARÁ.....	22
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>23</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>24</b>
3.1 EXTRAÇÃO DO DNA .....	24
3.2 AMPLIFICAÇÃO DO DNA .....	24
3.3 REVELAÇÃO DOS PERIFS ALÉLICOS.....	24
3.4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS .....	25
3.5 LEVANTAMENTO DOS CASOS DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA .....	25
<b>4 RESULTADOS E DICUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>44</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 O DNA

A elucidação bioquímica do DNA iniciou com a descoberta dos ácidos nucleicos, em 1869, pelos estudos químicos realizados pelo médico suíço Friedrich Miescher, do núcleo celular de pus humano e esperma de salmão. Miescher isolou uma macromolécula, até então, desconhecida pelos cientistas, rica em átomos de fósforo e de nitrogênio, a qual ele chamou de “nucleína”, posteriormente denominada de ácido nucleico.

Estudos minuciosos de células e embriões realizados no final do século XIX levaram os biólogos a reconhecer que a informação genética estava contida nos cromossomos, estruturas filiformes presentes no núcleo de células eucarióticas, visíveis em microscópio óptico no começo da divisão celular (ALBERTS *et al.*, 2010).

Os avanços nas análises bioquímicas possibilitaram a descoberta de que os cromossomos são basicamente compostos por ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteínas. Como se considerava que o DNA era um simples elemento estrutural acreditava-se que os genes eram compostos de proteínas (ALBERTS *et al.*, 2010). Porém, em 1944, a primeira evidência direta do DNA como portador da informação genética veio a partir de estudos de hereditariedade em bactérias, realizados por três médicos norte-americanos, Oswald T. Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty. Eles demonstraram que ao adicionar o DNA extraído de uma cepa virulenta em uma cepa não virulenta a mensagem geneticamente herdável da virulência era transportada e passada para as gerações bacterianas subsequentes (GRIFFITHS *et al.*, 2006).

No início da década de 1950, os dados obtidos pelas análises de DNA por difração de raios X realizadas pela biofísica britânica, Rosalind Franklin, e pelo fisiologista neozelandês, Maurice Wilkins, e as propriedades químicas e físicas do DNA descobertas pelo bioquímico austríaco, Erwin Chargaff, e seus colaboradores foram determinantes para elucidação e a criação do primeiro modelo tridimensional da estrutura do DNA postulado pelos biólogos moleculares James Watson e Francis Crick, em 1953. A estrutura obtida é composta de duas cadeias laterais de nucleotídeos torcidos na forma de uma dupla-hélice (GRIFFITHS *et al.*, 2006).

Uma molécula de DNA consiste em uma dupla-fita de duas longas cadeias de polinucleotídeos unidas através de pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas.

Os nucleotídeos que compõem o DNA são formados por uma pentose, açúcar de cinco átomos de carbono, chamado 2'-desoxi-D-ribose, uma base nitrogenada, purina ou pirimidina, ligada por uma ligação N- $\beta$ -glicosídica ao carbono 1' do açúcar e um fosfato ligado por uma ligação fosfodiéster ao carbono 5' da pentose. As purinas são: adenina (A) e guanina (G); e as pirimidinas são: citosina (C), timina (T). Essas bases formam os quatro tipos de nucleotídeos que compõem o DNA.

Os nucleotídeos se unem por uma segunda ligação fosfodiéster unindo o grupo 5'-hidroxila de um nucleotídeo ao grupo 3'-hidroxila do nucleotídeo adjacente formando uma cadeia, fita de DNA. Por possuírem uma mesma orientação ao longo da cadeia, as ligações fosfodiésteres conferem a fita de DNA uma polaridade distinta nas extremidades 3' e 5'.

O pareamento de duas fitas de DNA com polaridades inversas automaticamente se espiralam adotando a conformação de dupla-hélice. Isso ocorre principalmente pela formação de pontes hidrogênio entre as bases das duas fitas, onde todas as bases estão voltadas para região interna da dupla-hélice e o esqueleto de açúcar-fosfato para região externa. O pareamento ocorre da seguinte forma: a base com dois anéis (purina) forma par com uma base de um único anel (pirimidina), onde A sempre pareando com T, e G com C. Uma consequência desse pareamento de base é que cada fita de uma molécula de DNA contém uma sequência de nucleotídeos que é exatamente complementar à sequência de nucleotídeos da outra fita (ALBERTS *et al*, 2010).

A estabilidade da dupla hélice é mantida, principalmente, pelas pontes de hidrogênio entre os pares de bases complementares e as interações de empilhamento das bases (interações de *Van der Waals* e dipolo-dipolo). No esqueleto açúcar-fosfato, as cargas negativas dos grupos fosfatos interagem com cargas positivas de proteínas, íons metálicos e poliaminas, neutralizando a repulsão entre as fitas e auxiliando na estabilidade da dupla-hélice.

A partir de seu trabalho sobre a herança de características em ervilhas, Gregor Mendel foi capaz de deduzir dois princípios fundamentais da Genética, conhecido como primeira e segunda lei de Mendel, as quais, hoje em dia ainda reconhecemos como bases subjacentes da herança e da atividade gênica.

A primeira Lei de Mendel pode ser enunciada da seguinte forma: os padrões hereditários são determinados por fatores (genes) que ocorrem em pares em um indivíduo, mas que segregam um do outro na formação de células sexuais (gametas), indo, aleatoriamente, um fator do par para cada gameta. A nível molecular, durante a meiose, cada par de cromossomos se replica e posteriormente segregam-se formando quatro gametas.

A segunda Lei de Mendel ou Lei da Segregação Independente diz que os fatores (genes) segregam-se independentemente durante a formação dos gametas, assim, as diferenças de uma característica são herdadas independentemente das diferenças em outras características. Molecularmente, para que ocorra a segregação independente, dois pares de alelos precisam estar localizados em cromossomos diferentes, porém muitos genes encontram-se no mesmo cromossomo, demonstrando uma ligação, de modo que não segregam de acordo com a segunda Lei de Mendel. Acredita-se que Mendel teve muita sorte pelo fato de cada um dos pares de alelos que estudou estar em um cromossomo diferente na ervilha e, por tanto, nenhum demonstrava ligação (BROWN, 1999).

Quanto mais genes um organismo possui, mais DNA é necessário para acomodá-lo. O tamanho do genoma de um organismo, seja eucarioto ou procarioto, varia de espécie para espécie. Essa quantidade de DNA, presente no genoma (haploide), característica de cada espécie é uma grandeza expressa em pares de bases, conhecida como **valor C** (LEWIN, 2009).

Ao se observar em escala evolutiva, nota-se o aumento do valor de C a medida que aumenta a complexidade do organismo. Porém, quando avançamos na escala evolutiva, observamos que organismos mais complexos, como mamíferos, podem ter genomas com tamanhos similares aos insetos. Essa impossibilidade de correlacionar o tamanho do genoma diretamente com a complexidade das características morfológicas, fisiológicas e comportamentais do organismo foi chamada de **paradoxo do valor C**.

A complexidade do organismo esta correlacionada com a quantidade de genes e não com o tamanho do genoma. Assim, o paradoxo do valor C é bastante marcante em genomas de eucariotos mais complexos, onde se observa um aparente excesso de DNA em relação à quantidade estimada para conter todos os seus genes. Isso se deve ao fato de os próprios genes serem maiores, não porque codificam proteínas maiores, mas porque contem íntrons. O aumento da proporção DNA-gene não se deve somente a presença de íntrons, mas também, a presença de sequências de DNA repetidas. Isto implica que maior parte do genoma de um eucarioto é não funcional e que genomas maiores de organismo relativamente mais

simples se deve a presença de mais sequências repetidas (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2003).

Os estudos sobre cinética de reassociação do DNA desnaturado classificaram as sequências presentes no genoma de eucariotos como: DNA não repetitivo, DNA moderadamente repetitivo e DNA altamente repetitivo. O DNA não repetitivo refere-se à parte codificante, onde se encontram a maioria dos genes estruturais. O DNA repetitivo refere-se à parte não codificante. Sequências com repetição em tandem são encontradas no DNA repetitivo e podem determinar regiões hipervariáveis polimórficas. Essas regiões hipervariáveis são ditas polimórficas quando estão presente em mais de 1% dos indivíduos de uma população (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2003; BROWN, 1999; LEWIN, 2009).

Quando o polimorfismo é caracterizado pela modificação da sequência por mudanças de bases, ele é chamado de polimorfismo de sequência. Grande parte dessas mudanças são mutações pontuais de nucleotídeos únicos (SNP – *single nucleotide polymorphism*).

Quando determinadas sequências de nucleotídeos se repetem consecutivamente, classificamos como polimorfismo de comprimento. Dependendo do tamanho da sequência que se repete, as regiões podem ser denominadas como minissatélites ou microsatélites.

De acordo com o *International Human Genome Sequencing Consortium* (2001), os minissatélites ou número variável de repetições consecutivas (VNTRs - *variable number of tandem repeats*) são sequências curtas repetidas de aproximadamente 14 a 500 pb. Quando o tamanho da sequência repetida é formada de 1 a 13 pb é denominadas de região microsatélite ou região de repetições consecutivas curtas (STRs - *short tandem repeats*).

A variação em microsatélites ou minissatélites entre genomas individuais é decorrente do fato de alelos individuais possuírem diferentes números de unidades de repetição (LEWIN, 2009). Essa grande variação pode ser utilizada para a identificação inequívoca de parentesco entre indivíduos, já que, existem vários alelos para cada locus polimórfico, mas um indivíduo possui no máximo dois deles, um herdado do pai e outro da mãe. Em estudos forenses, quanto maior for o grau de polimorfismo e de heterozigidade dessas regiões melhor será para uso na discriminação de indivíduos em uma população.

## 1.2 IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Identidade pode ser definida como um conjunto de características que individualiza uma pessoa, tornando-a distinta das demais (JOBIM *et al*, 2005). É uma série de caracteres morfológicos, biológicos e psicológicos que tornam alguém igual apenas a si próprio. Já a identificação consiste no processo no qual se determina a identidade de um indivíduo, ou um conjunto de atividades que visam estabelecer uma identidade.

A identificação humana pode ser classificada em civil ou criminal. A identificação civil se trata da identificação cotidiana do cidadão, tal como certidão de nascimento, carteira de identidade. A identificação criminal trata-se da identificação de pessoas envolvidas em crimes estejam elas vivas ou mortas, quando não for possível identifica-las pelo sistema de identificação civil (ESPÍNDULA, 2013).

Não se sabe ao certo quando técnicas para identificação de pessoas passaram a ser utilizadas. Porém, a identificação humana de forma sistematizada teve seu início com o criminologista francês, Bertillon, que introduziu o método antropométrico em 1882. Este método levava em consideração algumas características morfológicas e cromáticas, como a posição de sobrancelhas, o formato do queixo, lóbulo da orelha, cor da íris, da pele ou dos cabelos (GARRIDO e GIOVANELLI, 2009).

Atualmente, a papiloscopia representa umas das técnicas mais importantes na identificação humana. Esta técnica é baseada na perenidade; individualidade; variabilidade e imutabilidade das papilas dérmicas, podendo ser dividida em: datiloscopia (identificação por meio das impressões digitais); quiroscopia (identificação por meio das impressões palmares) e podoscopia (identificação por meio das impressões plantares).

As papilas dérmicas são dobramentos da derme moldados a partir dos quatro meses de vida embrionária e que se mantêm até a completa putrefação dos tecidos. Sua constituição é um fenômeno epigenético<sup>1</sup>, o que explica as diferenças encontradas mesmo entre gêmeos idênticos, além de variações fenotípicas que ocorrem no decorrer da vida, em virtude de pressões ambientais, como cortes e escoriações ou mesmo patologias (GALANTE-FILHO *et al.*, 1999).

---

<sup>1</sup> Modificações que ocorrem no DNA, mas que não alteram sua sequência, permitindo que indivíduos mantenham características estáveis diferentes apesar de conterem o mesmo material genético (BIRD, 2007).

As primeiras referências sobre as papilas dérmicas foram feitas por Malpighi no séc. XVII, mas foi só no séc. XIX que Faulds, Herschel, Darwin e Galton sistematizaram sua utilização e Juan Vucetich, na Argentina, criou o método de identificação dactiloscópico atualmente utilizado (GARRIDO e GIOVANELLI, 2009). O Sistema Vucetich se baseia na classificabilidade dos tipos básicos de conformação das papilas dérmicas nas falanges distais (dactilos): arco; presilha interna; presilha externa; verticilo. Estes tipos básicos podem apresentar variações melhor descritas em trabalhos próprios.

No ramo médico-legal da identificação humana é possível realizar, por exemplo, a estimativa de sexo pela análise do crânio, a determinação da idade pela característica dos ossos e, ainda, a identificação pelos detalhes dos seios da face, no que pode ser enquadrado na antropologia forense. É usual ainda a comparação de arcadas dentárias com odontogramas, feita pela odontologia forense (GALANTE-FILHO *et al.*, 1999).

A utilização dos estudos sobre a variação genética humana nas análises forenses para identificação humana teve início no século XX com a descoberta de Landsteiner. Ele descobriu um grupo de antígenos eritrocitários conhecido como sistema ABO que possibilitou os estudos iniciais sobre parentesco e passou a ser utilizada na identificação humana e na resolução de crimes. Esse sistema possui um grau de inclusão de paternidade muito baixo, mas com a descoberta de outros sistemas de grupos sanguíneos como MN e Rh, e a inclusão destes nos testes de identificação, possibilitou um aumento considerável no grau de inclusão de paternidade (RACE; SANGER, 1968).

Em 1954, a demonstração da ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos nas superfícies dos leucócitos, conhecido por complexo HLA (*histocompatibility leucocyte antigen*) marcou uma nova fase na Imunogenética e na Ciência forense.

O sistema HLA é um conjunto de genes co-dominantes, localizados no cromossomo 6 do homem, que se expressam como moléculas de glicoproteínas na superfície das células, quando são conhecidas como antígenos leucocitários humanos (JOBIM *et al.*, 2005).

A utilização da Imunogenética na discriminação de indivíduos apresenta alguns problemas decorrentes da instabilidade das proteínas em amostras biológicas expostas ao ambiente, seu baixo poder de discriminação e a inexistência dos marcadores proteicos em todos os tecidos do indivíduo.

Os avanços nas técnicas de Biologia Molecular possibilitaram a tipagem de polimorfismos genéticos no DNA aperfeiçoando os testes de identificação. A utilização do teste de DNA contornou muitas das limitações encontradas pela utilização de testes Imunogenéticos, dando início a terceira fase e talvez a mais significativa das ciências forenses voltadas à identificação humana.

Os primeiros testes de DNA para análise da individualidade humana foram desenvolvidos pelo geneticista inglês Sir Alec Jeffreys, Professor da Universidade de Leicester na Inglaterra. Esses testes analisam regiões do DNA que apresentam sequencias de VNTRs (minissatélites) de grande polimorfismo identificadas por meio de uma sonda multilocal (MLP) que originou o termo “impressão digital do DNA” ou “*DNA fingerprinting*”. Esse método de detecção de regiões polimórficas do DNA baseado no uso de sondas é denominado de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) ou polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição, onde fragmentos de DNA contendo VNTRs são cortados do DNA cromossômico por enzimas de restrição. Sondas multilocais analisam vários locos ao mesmo tempo produzindo uma quantidade exagerada de bandas de DNA de difícil interpretação assemelhando-se a um código de barras. O desenvolvimento de sondas unilocais (SLP), que estudam cada loco de minissatélite individualmente, permitiu uma análise mais sensível e de fácil interpretação gerando duas bandas de DNA para cada sonda, sendo uma referente ao alelo de origem materna e outro de origem paterna (JEFFREYS *et al*, 1985; JOBIM *et al*, 2005; THOMPSON; KRANE, 2003).

As limitações dos testes com VNTRs são decorrentes da necessidade de utilização de amostras com concentrações elevadas de DNA, assim como da dificuldade de análise de material parcialmente degradado. Por estas razões, o uso de sondas, ainda que SLP, não é recomendado para análises voltadas à elucidação de crimes. Os testes com sondas SLP já foram favoritas na análise de casos de investigação de paternidade, mas devido aos custos e ao procedimento lento, atualmente, utilizamos os STRs (JOBIM *et al*, 2005).

Os métodos de análise de DNA mais recentes, utilizados pela comunidade que atua na área de identificação humana, baseiam-se na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), descrita pela primeira vez pelo americano Kary Mullis em 1985, o que lhe rendeu o prêmio Nobel de química em 1993. Esta técnica é capaz de produzir bilhões de cópias de fragmentos de DNA de um ou mais loci, além de permite o uso de amostras muito pequenas de DNA. Comparada com a técnica da RFLP, a PCR apresenta algumas vantagens que incluem o

aumento da sensibilidade e especificidade, a diminuição no tempo do ensaio e de trabalho e a fácil automação.

Os fragmentos de DNA amplificados pela PCR podem ser tipificados usando-se diferentes métodos que incluem, principalmente, os sistemas STRs (repetições tandem curtas) e sequenciamento direto do DNA mitocondrial (mtDNA).

Os STRs que se utilizam em casos forenses apresentam-se, na maioria, com o núcleo repetitivo de quatro nucleotídeos e limitado número de alelos. O polimorfismo depende do diferente número de repetições. Por exemplo, o loco F13A apresenta quinze alelos diferentes, quanto ao número de repetições da unidade de bases GAAA. Enquanto alguns apresentam a unidade repetida 4 vezes e 16 vezes, outros podem ter alelos com 6 e 12 repetições consecutivas (em *tandem*). Diríamos que o primeiro apresenta os alelos 4 e 16, e o segundo, os alelos 6 e 12. Uma terceira pessoa poderia apresentar somente o alelo 10, tendo recebido o mesmo alelo de seus pais (homozigose) (JOBIM *et al*, 2005).

Para fins de identificação Humana, os STRs de valor são aqueles com maior polimorfismo (maior número de alelos), menor tamanho (100 e 200 pares de bases) e maior frequência de heterozigotos. Desta forma, os locos de STR devem ser analisados em cada laboratório para conhecimento da frequência na população. Além da sensibilidade, devemos identificar aqueles com maior polimorfismo, elevado índice de discriminação e de heterozigose, assim como de baixa frequência de mutações acarretando em um maior poder de exclusão. O poder de exclusão indica qual o percentual de exclusão alcançado por cada locos, e quanto maior ele for, mais discriminativa será a análise (JOBIM *et al*, 2005).

Após os testes de validação de 13 locos (sistema *multiplex*) de STRs para análises forenses, elaborados pelo FBI - *Federal Bureau Investigation*, no final dos anos 90, foram desenvolvidos testes comerciais, os famosos *kits*, para análise das STRs (Quadro 1). Esses testes, combinado a alta sensibilidade propiciada pela PCR e um poder discriminatório aproximado de um em trilhões, rapidamente suplantaram as análises RFLP nos laboratórios de análises de vestígios de crimes e de identificação de cadáveres (THOMPSON; KRANE, 2003).

Recentemente, os laboratórios forenses veem utilizando testes para analisar STRs presentes no cromossomo Y. Devido à falta de um cromossomo homólogo, só identificamos alelos de origem masculina, herdados em bloco dos antepassados masculinos. Dessa maneira, é possível a identificação de diversos locos de STR em um homem, sendo os mesmos alelos

encontrados em seu pai, irmãos, tios, primos, avô e demais antepassados masculinos. Os STRs do cromossomo Y possuem um baixo índice de mutação, podendo os mesmos alelos serem encontrados em gerações de até algumas centenas de anos. Essas características fazem com que os Y-STRs sejam importantes na análise forense do DNA, principalmente em casos de crimes sexuais e estudos genealógicos (JOBIM *et al*, 2005).

**Quadro 1** – Locus STRs recomendados pelos principais bancos de dados de DNA e alguns dos sistemas multiplex disponíveis atualmente no mercado.

Cromosomas	Locus recomendados		Principais kits comerciais		
	ENFSI INTERPOL	CODIS	NGM®	PowerPlex16 HS®	Identifiler® Plus
1	∅	∅	D1S1656	∅	∅
2	D2S1338	TPOX	D2S1338	TPOX	D2S1338
			D2S441		TPOX
3	D3S1358	D3S1358	D3S1358	D3S1358	D3S1358
4	FGA	FGA	FGA	FGA	FGA
5	∅	D5S818	∅	D5S818	D5S818
		CSP1PO		CSP1PO	CSF1PO
7	∅	D7820	∅	D7820	D7820
8	D8S1179	D8S1179	D8S1179	D8S1179	D8S1179
10	∅	∅	D10S1248	∅	∅
11	TH01	TH01	TH01	TH01	TH01
12	vWA	Vwa	Vwa	Vwa	Vwa
			D12S391		
13	∅	D13S317	∅	D13S317	D13S317
15	∅	∅	∅	Penta E	∅
16	D16S539	D16S539	D16S539	D16S539	D16S539
18	D18S51	D18S51	D18S51	D18S51	D18S51
19	D19S433	∅	D19S433	∅	D19S433
21	D21S11	D21S11	D21S11	D21S11	D21S11
				Penta D	
22	∅	∅	D22S1045	∅	∅
X/Y sexo	Amelogenina	Amelogenina	Amelogenina	Amelogenina	Amelogenina

Fonte: *Applied Biosystems e Promega Corporation*

A utilização do mtDNA em análises forenses deve-se ao fato de estar presente em várias cópias por célula e ser mais resistente à degradação que o DNA nuclear. Além disso, O mtDNA é uma herança materna, o que permite traçar a linhagem materna de um indivíduo.

O mtDNA é uma peça circular de DNA com 16.569 pb de comprimento, sendo maior parte de seu genoma formado por genes. Entretanto, uma região não codificadora de aproximadamente 1.200 nucleotídeos flanqueia a posição “0” do genoma, conhecida como região controle ou D-loop, acumula mutações pontuais aproximadamente dez vezes mais

comuns do que o DNA nuclear, sendo considerada uma região hipervariável. A maioria dos laboratórios que utiliza a tipagem do mtDNA se baseia nos polimorfismos presentes na sequência de nucleotídeos de dois segmentos da região controle, HV1 e HV2. Os testes de DNA mitocondrial são altamente sensíveis e podem produzir resultados em amostras não convenientemente analisáveis por outras metodologias, tais como fios de cabelos com bulbo degradado, ossos e dentes antigos. Os testes de DNA mitocondrial têm menor poder discriminatório que os testes STR, discriminando apenas um em centenas. Acrescente-se ainda que, por ser o mtDNA oriundo de herança matrilinear, os testes geralmente não podem distinguir indivíduos de mesma linhagem maternal. Pequenas variações são algumas vezes encontradas em perfis de mtDNA de diferentes células da mesma pessoa devido a mutações. Este fenômeno, conhecido como heteroplasmia, complica o processo para determinar se dois perfis encontrados em diferentes amostras são realmente coincidentes ou não (PANETO, 2006).

Os SNPs em DNA autossômico também apresentam baixo poder discriminatório, quando comparado ao dos STRs. Entretanto, o estudo dos SNPs para análise de materiais extremamente degradados pode ser de grande utilidade, como ficou demonstrado nos trabalhos de identificação das vítimas dos ataques terroristas ao World Trade Center, em 11 de setembro de 2001 (MARCHI, 2004).

### **1.3 BANCO DE DADOS**

Bancos de dados que contenham perfis de DNA de criminosos e/ou perfis de evidências de casos em que não se encontrou o suspeito são de grande ajuda e utilidade na investigação de certos crimes, uma vez que os perfis de DNA são arquivados em computadores e comparados eletronicamente.

Em 1990, o FBI (*Federal Bureau of Investigation*) dos Estados Unidos da América (EUA) montou uma base de dados de DNA, CODIS (*Combined DNA Index System*) ou Sistema Combinado de Índices de DNA, que combina a Ciência Forense e a Tecnologia Informática, proporcionando uma ferramenta efetiva para o desenvolvimento da investigação criminal. Até outubro de 2013, o CODIS já contém mais de 10.647.800 perfis de delinquentes, 1.677.100 perfis detidos e 522.200 perfis forenses (FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION, 2013).

Uma das principais justificativas para uma base de dados nacional é o potencial de se fazer *cold hits* – identificação a partir exclusivamente de dados já cadastrados. A impressão genômica de uma dada amostra de DNA é determinada e cadastrada no CODIS e o sistema pode acusar uma correspondência, identificando o indivíduo que já possuía sua impressão genômica armazenada.

#### **1.4 NÚCLEO DE DNA FORENSE DO ESTADO DO CEARÁ**

No ano de 2005 a Secretaria Nacional de Segurança Pública-SENASP implantou a Rede Nacional de Laboratórios de DNA Forense com o objetivo de treinar Peritos Oficiais na área de Genética Forense e ao mesmo tempo incentivar parcerias com os Estados para criação de laboratórios de DNA Forense.

Para tanto, a SENASP promoveu, em convênio com as Universidades Federais do Pará e Alagoas cursos de Especialização nessa área e encaminhou peritos de vários Estados do país para participarem do referido curso.

Do Ceará foram encaminhadas para formação as peritas Iraê de Aguiar Cavalcanti e Teresa Cristina Lima da Rocha no ano de 2005 e no ano de 2007 a perita Ana Claudia de Menezes Sobreira. Os peritos Samyra Maria Vieria Brasil e Julio César Nogueira Torres vieram a se juntar a este grupo nos anos de 2008 e 2013, respectivamente.

O Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado do Ceará (NUPDF-CE) foi construído no ano de 2006 e inaugurado em 13 de dezembro do mesmo ano, sendo que o primeiro caso a ser processado em suas instalações físicas foi no mês de julho do ano de 2007, por ocasião da queda do avião da empresa TAM, onde foram colhidas e processadas as amostras-referências das famílias de 3 cearenses que haviam morrido em tal acidente.

O objetivo deste laboratório é realizar exames de detecção de perfis de DNA em casos criminais nas áreas de crimes sexuais (incluindo paternidade criminal), criminalística biológica (relação de identidade genética entre amostras), identificação de desconhecidos e restos mortais, bem como troca de bebês e raptos.

## 2 OBJETIVOS

Geral:

Avaliar o perfil dos casos de identificação humana analisados no Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado do Ceará (NUPDF-CE) nos últimos 3 anos (Janeiro de 2011 à Outubro de 2013).

Específicos:

- Quantificar o número de casos analisados no período de realização do estudo;
- Identificar os locais onde os corpos foram localizados, classificando-os por mesorregiões geográficas do Estado do Ceará;
- Identificar o sexo dos indivíduos que foram submetidos a análise de DNA;
- Classificar o estado (natureza) dos corpos identificados;
- Analisar o número de amostras referências utilizadas para conclusão dos casos;
- Analisar o sexo e grau de parentesco dos familiares encaminhados ao NUPDF-CE para coleta de amostras referências;
- Analisar os resultados dos laudos expedidos durante o período deste estudo.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 EXTRAÇÃO DO DNA

Para o isolamento do DNA duas metodologias de extração foram empregadas: Resina chelex 100® e Extração orgânica (Fenol-Clorofórmio-Álcool isoamílico), de acordo com os protocolos em anexo (Anexo 3 e 4). A escolha do método foi realizada com base no tipo de amostra, sua quantidade e seu estado de conservação. A metodologia que emprega a resina *chelex 100*® foi utilizada para amostras referências e algumas amostras questionadas em bom estado de conservação, como, sangue e saliva contida em *swabs*; tecido muscular, e órgãos frescos. A extração orgânica foi utilizada para extração de DNA em amostras com pior estado de conservação, tais como, tecidos moles, cabelos, ossos e dentes.

Em casos de extração orgânica a partir de ossos e elementos dentários, os fragmentos de ossos e dentes, com cerca de 1cm<sup>3</sup>, foram previamente incubados por cerca de 5 dias em 20 mL de uma solução de EDTA 0,5M pH 8,0; removida as impurezas e utilizada a parte descalcificada para extração do DNA

#### 3.2 AMPLIFICAÇÃO DO DNA

As amostras de DNA foram submetidas à amplificação pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), com emprego dos sistemas *AmpFℓ STR® Identifiler*, *AmpFℓ STR® Identifiler Plus*, *AmpFℓ STR® NGM*, *AmpFℓ STR® Y FILER* da *Applied Biosystems*; e *AmpFℓ STR® PowerPlex16*, *AmpFℓ STR® PowerPlex16 HS* da *Promega Coporation*, que variaram de acordo com o caso analisado.

#### 3.3 REVELAÇÃO DOS PERIFS ALÉLICOS

Os produtos obtidos com os sistemas de amplificação, foram objetos de corrida eletroforética em capilar no aparelho *ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer* da *Applied Biosystems* e analisados pelo software *GeneMapper ID v3.2*, a fim de se obter os perfis alélicos dos indivíduos.

### **3.4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

Os perfis alélicos obtidos foram submetidos a análise estatística pelo *software* Famílias 2,0, com base na frequência populacional brasileira estabelecida por *Pardini, Applied Biosystems e Poiares* com o objetivo de estabelecer uma eventual relação de vínculo genético.

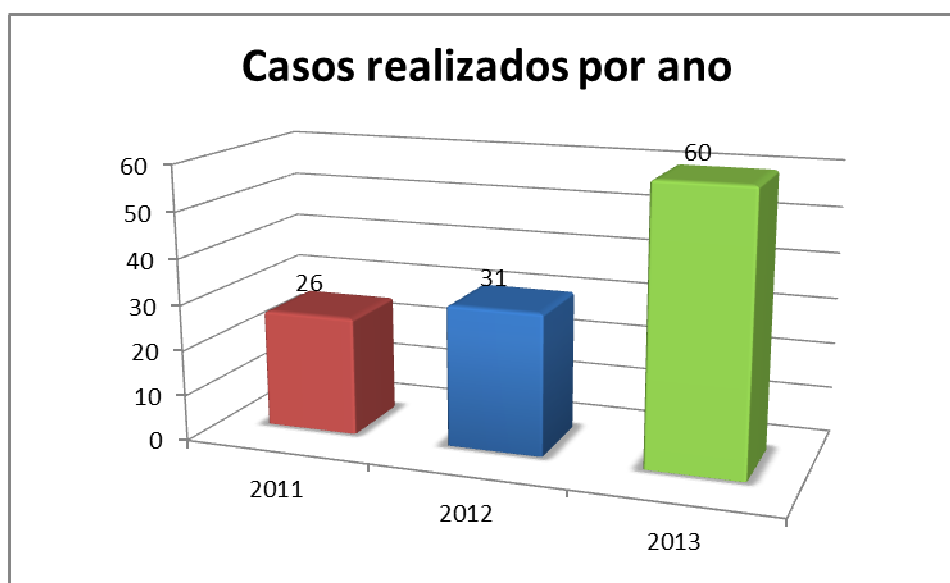
### **3.5 LEVANTAMENTO DOS CASOS DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA**

Foi realizado o levantamento de todos os casos analisados no Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado do Ceará (NUPDF-CE) no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. Os casos foram avaliados por ano; sexo dos indivíduos; local (mesorregiões geográficas do Estado, de acordo com o Anexo 1) onde o cadáver foi encontrado; natureza das amostras questionadas (classificadas em: cadáver preservado, carbonizado, exumação, feto, formolizado, identificação *in vivo*, ossada e putrefeito); tipos de amostras (exemplo: fragmento do fêmur, fragmento costela, *swab* sanguíneo); número de amostras referências analisadas e o grau de parentesco por caso; e a condição do caso analisado (classificado em conclusivo: inclusão ou exclusão; e inconclusivo). Conforme formulário em Anexo 2.

#### 4 RESULTADOS E DICUSSÃO

Foram contabilizados 118 casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013. Durante esses 3 anos observou-se um grande aumento no número de casos analisados do ano de 2012 ao ano de 2013. Foram contabilizados 26 casos (22,2%) no ano de 2011; 31 casos (26,5%) no ano de 2012; e 60 casos (51,3%) em 2013. Como mostra a Figura 1.

**Figura 1** – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por ano.

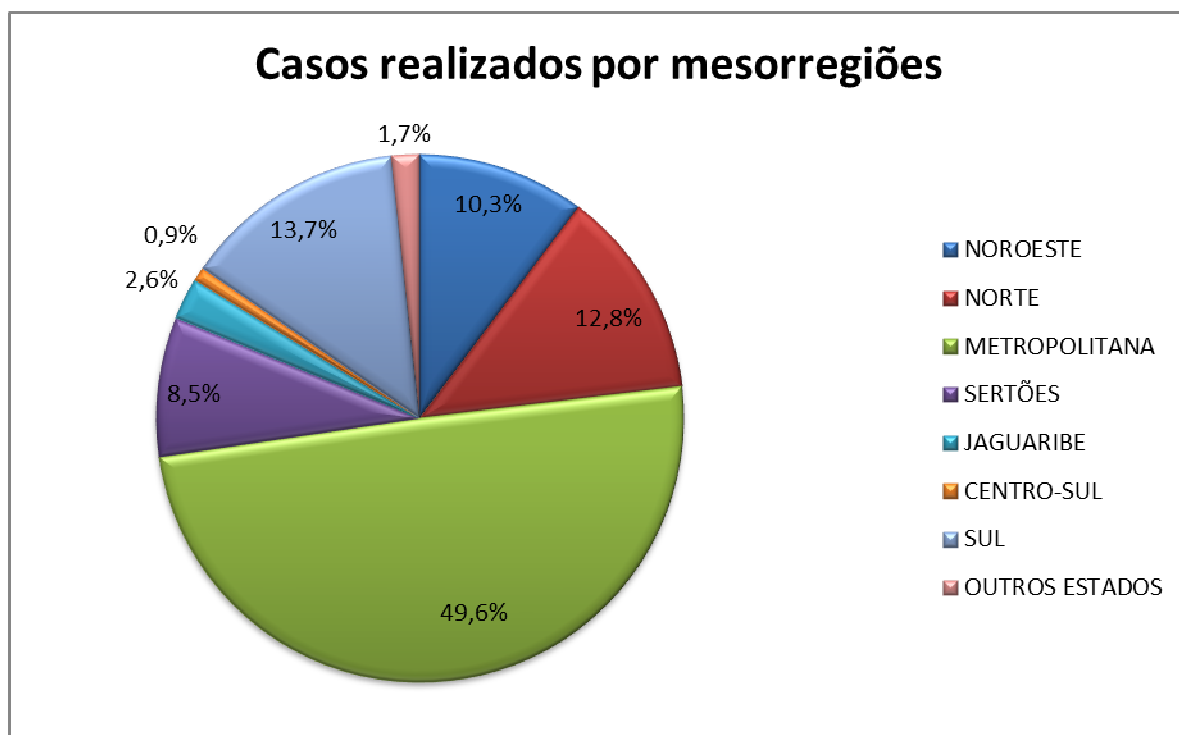


Uma das causas do aumento no número de laudos expedidos pelo NUPDF-CE deve-se ao crescimento da violência no Estado do Ceará nos últimos anos, já o aumento drástico observado no ano de 2013 deve-se, principalmente, à uma nova determinação do Perito Geral da Perícia Forense do Estado do Ceará (PEFOCE), no dia 4 de junho de 2013, onde tornou-se obrigatório a utilização de um método científico (Papiloscopia, Odontologia Forense ou DNA) para a identificação/liberação dos corpos na instituição.

Ao classificar os exames realizados por mesorregiões geográficas, verificou-se que 58 casos (49,6%) são da Região Metropolitana; 16 (13,7%) da Região Sul; 15 (12,8%) da Região Norte; 12 (10,3%) da Região Noroeste; 10 (8,5%) da Região dos Sertões; 3 (2,6%) da Região de Jaguaribe; e apenas 1 caso (0,9%) da Região Centro-Sul. Outros 2 casos (1,7%)

pertencentes à outros Estados, Rio Grande do Norte e Piauí, foram contabilizados. Como mostra a Figura 2.

**Figura 2** – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por mesorregiões geográficas.

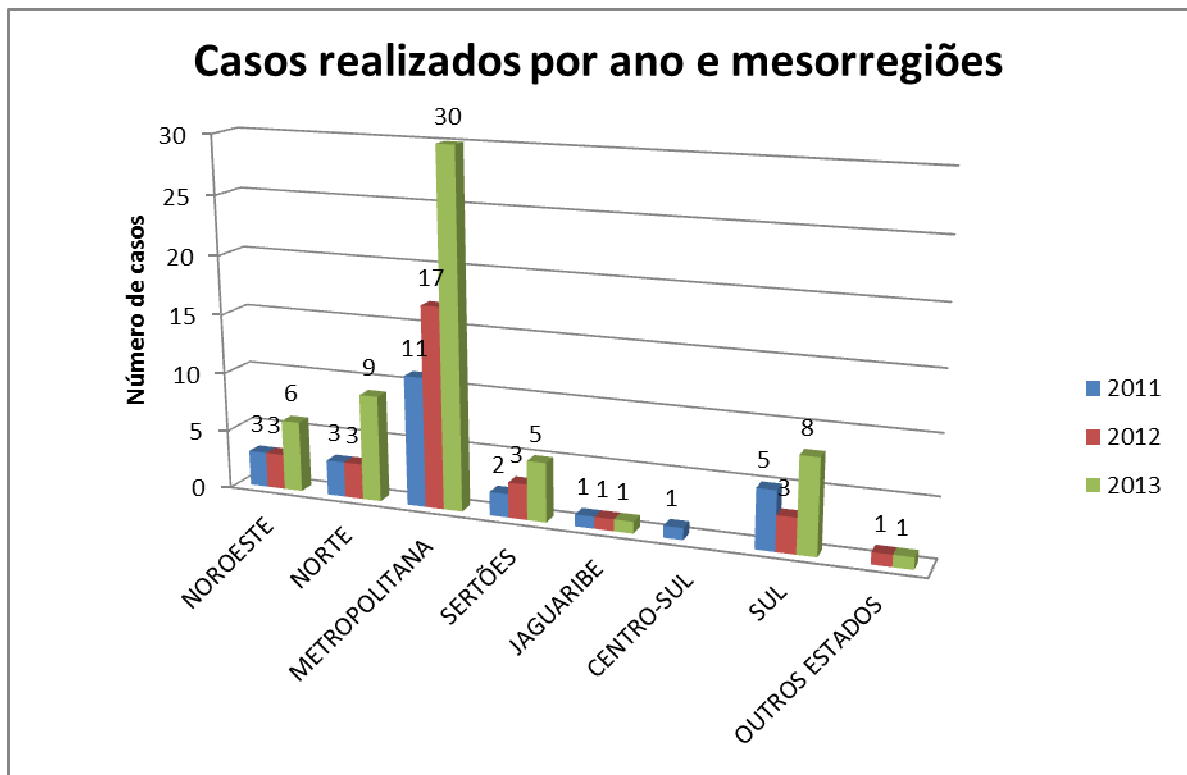


Observa-se que cerca da metade dos casos analisados pertence à região metropolitana e a outra metade é dividida principalmente pelas regiões Sul, Norte, Noroeste e Sertões. Essa distribuição do número de casos reflete nitidamente a concentração de habitantes do Estado do Ceará, onde 41% da população cearense concentram-se na Região Metropolitana; 10,4% na Região Sul; 11,9% na Região Norte; 15,7% na Região Noroeste; 10,4% na Região Sul; 6,3% na Região de Jaguaribe; e 4,5% na Região Centro-Sul (IBGE, 2010). Desta forma a distribuição populacional pode explicar o elevado número de casos na Região Metropolitana.

Ao correlacionar os casos por ano e mesorregiões, pode-se observar, que dos 58 casos analisados referentes à Região Metropolitana, 11 são do ano de 2011; 17 do ano de 2012; e 30 pertencentes ao ano de 2013. Dos 12 casos concernentes à Região Noroeste, 3 são de 2011; 3 do ano de 2012; e 6 do ano de 2013. A Região Norte apresentou os mesmos perfis da Região Noroeste nos anos de 2011 e 2013 com um acréscimo de 3 casos no ano de 2013, contabilizando 15 casos. Dos 10 casos pertencentes à Região dos Sertões, 2 casos são do ano

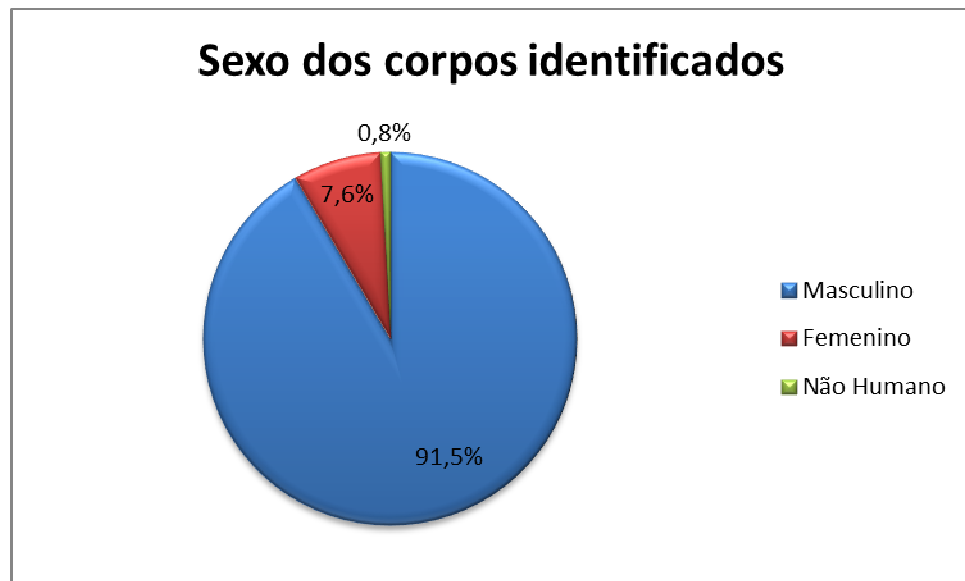
de 2011; 3 do ano de 2012; e 5 do ano de 2013. Um aumento do número de casos é visível nessas regiões, porém, observa-se que na Região Sul (16 casos) houve um decréscimo de 5 casos no ano de 2011 para 3 casos no ano de 2012 e então um aumento de 5 casos no ano de 2013. Na Região de Jaguaribe foram contabilizados 1 caso por ano e na Região Centro-Sul 1 caso no ano de 2011. Como mostra a Figura 3.

**Figura 3** – Casos de identificação humana realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por ano e mesorregiões geográficas.



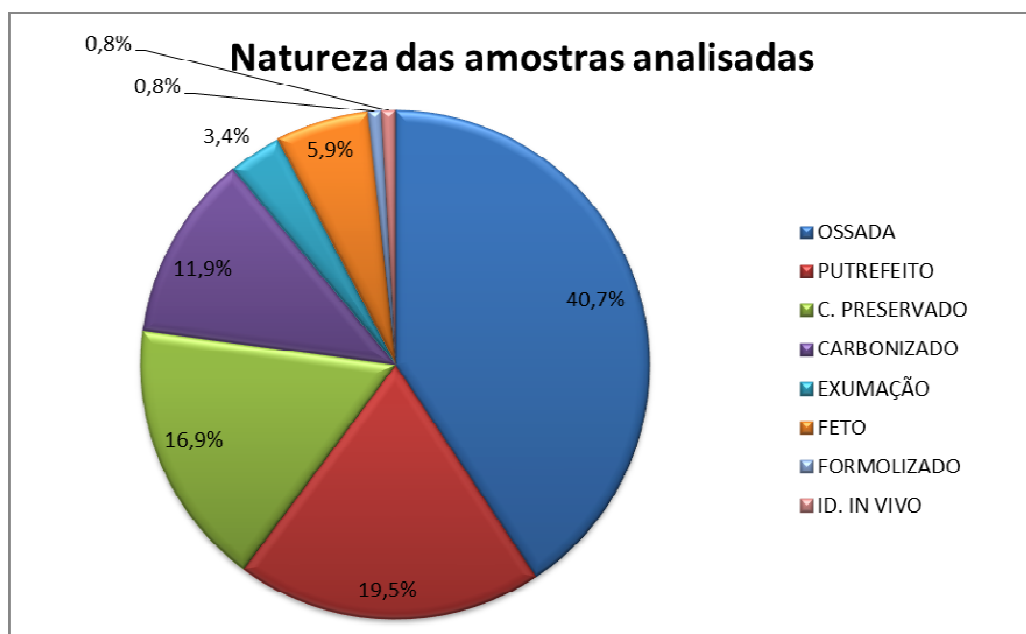
Com relação ao sexo dos corpos identificados, dos 118 analisados, foram contabilizados 108 pertencentes ao sexo masculino, e 9 pertencentes ao sexo feminino. Contabilizou-se, também, 1 caso de Identificação como Não Humano. A Figura 4 ilustra percentualmente os dados obtidos nesta análise.

**Figura 4** – Sexo dos corpos identificados realizados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



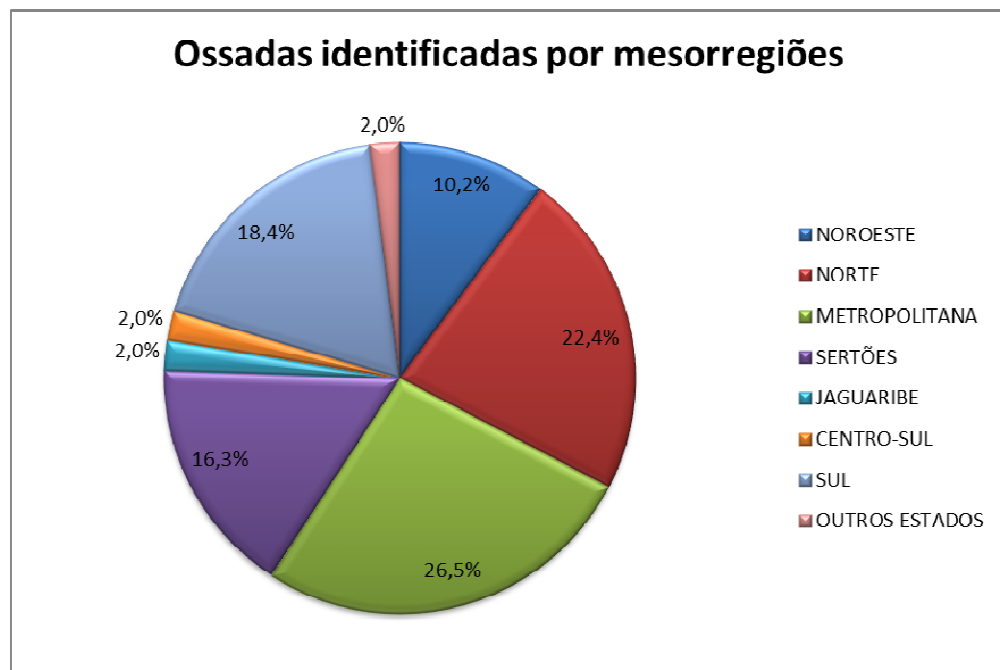
Com relação à natureza da amostra, dos casos analisados neste trabalho, 48 dos casos eram ossadas; 23 cadáveres em estado de putrefação; 20 cadáveres preservados; 14 corpos carbonizados; 4 corpos provenientes de exumação; 7 fetos; 1 corpo formolizado; e 1 caso de falsidade ideológica onde a identificação foi realizada *in vivo*. Como mostra a Figura 5.

**Figura 5** – Natureza das amostras analisadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



Percentualmente, torna-se nítido o maior número de casos relacionados à ossadas, cerca de 41% dos casos. Destes casos, 13 são pertencentes à Região Metropolitana; 11 à Região Norte; 9 à Região Sul; 8 à Região dos Sertões; 5 à Região Noroeste; 1 à Região de Jaguaribe; 1 à Região Centro-Sul; e 1 pertencente a outro Estado, Piauí.

**Figura 6** – Casos de ossadas analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013, classificados por mesorregiões.

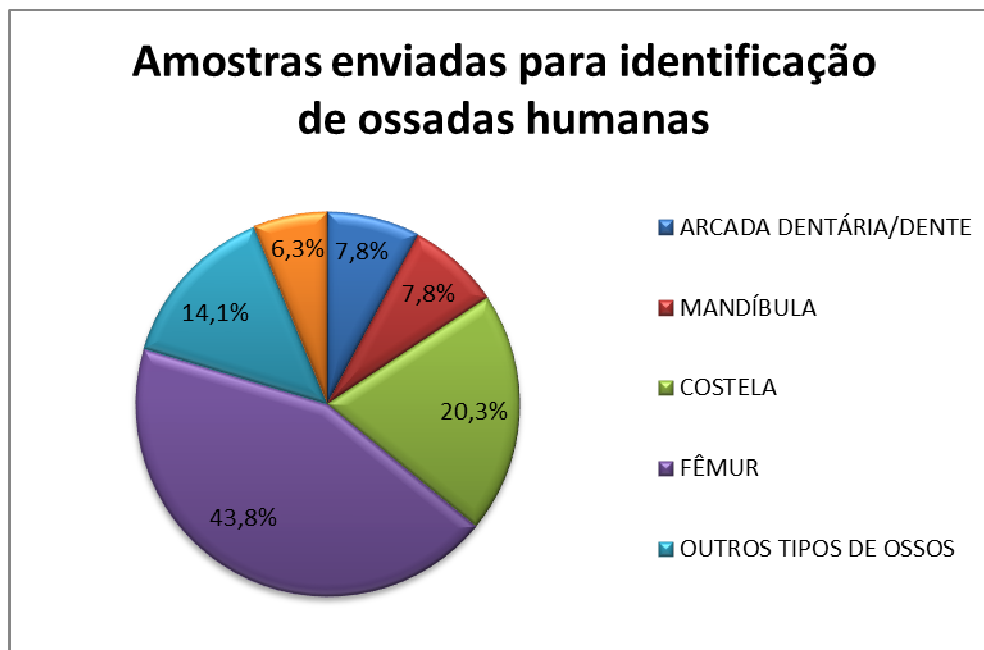


Anteriormente, foi discutido a respeito da concentração do número de casos na Região Metropolitana ocorrerem devido à concentração de habitantes. Porém, quando destacamos os casos envolvendo ossadas, observamos que apenas 26,5% dos casos são pertencentes a referida região (Figura 2). Os outros 73,5% são, principalmente, pertencentes às Regiões Norte (22,4%); Sul (18,4%); Sertões (16,3%); e Noroeste (10,2%). Esses números podem ser justificados pela grande presença de zona rural e áreas de matas, fator este que pode dificultar a dinâmica da localização dos corpos.

Nos casos de identificação humana de ossadas, 43,8% das amostras enviadas eram referentes a segmentos de fêmur; 20,3% a costela; 14,1% a outros tipos de ossos; 7,8% a mandíbula; 7,8% a vestígios dentários (arcada dentária ou dente); e 6,3% a outros tipos de amostras, como, fios de cabelo e resquícios de tecidos (Figura 7). Observa-se que segmentos

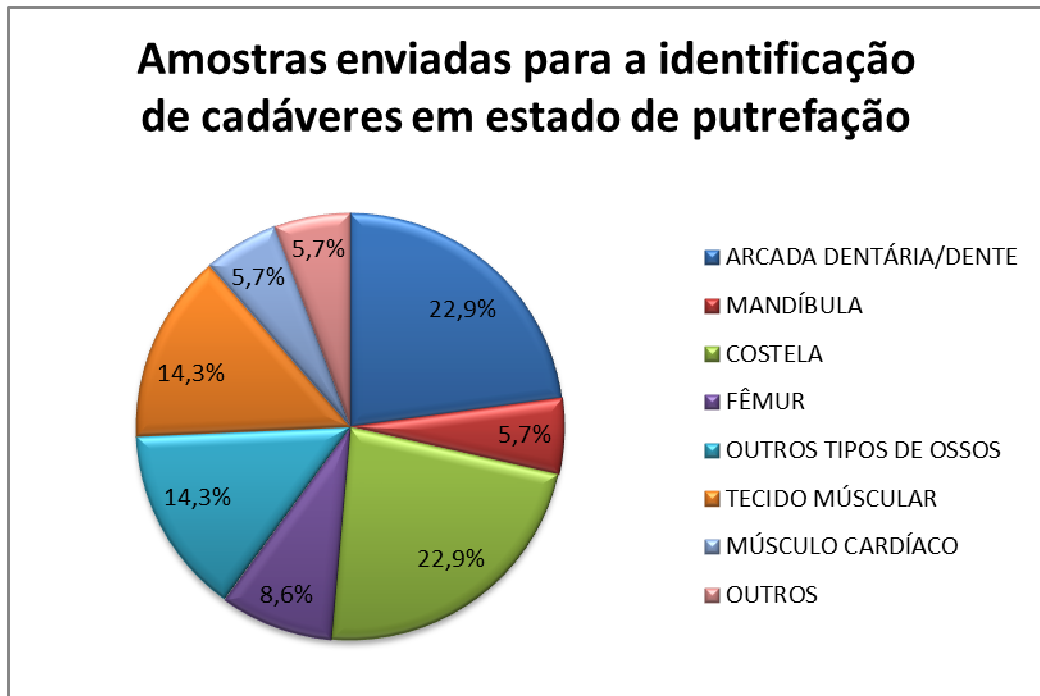
de fêmur e costelas são as amostras mais utilizadas na identificação por serem mais adequados para obtenção de um perfil genético completo (JOBIM *et al*, 2005).

**Figura 7** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de ossadas humanas analisadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



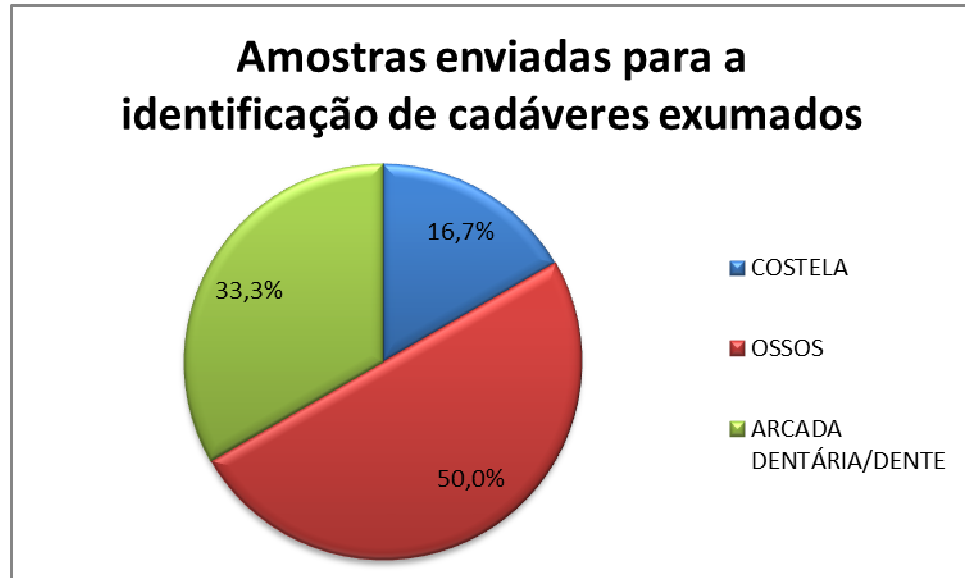
Já nos casos com cadáveres em estado de putrefação, observamos que as amostras preferencialmente enviadas são vestígios dentários (22,9%), segmento de costela (22,9%) e segmentos de fêmur, 8,6% das amostras. Outros tipos de ossos foram enviados somando 14,3%. Amostras de tecido muscular (14,3%) foram, também, enviadas. Esse valor é baixo por conta do estado de conservação em que se encontram os corpos. Entre as outras amostras enviadas, 5,7% são de mandíbulas; 5,7% de músculo cardíaco; e 5,7% de amostras diversas (Figura 8).

**Figura 8** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres em estado de putrefação analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



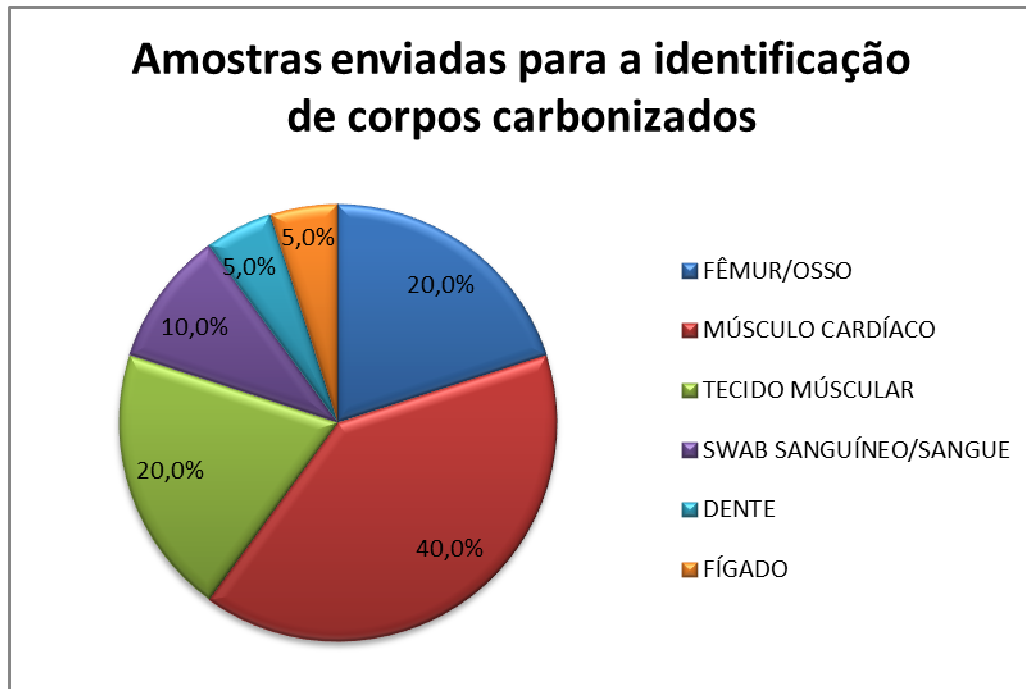
Nos casos de exumação, 33,3% das amostras enviadas foram de vestígios dentários; 16,7% de segmentos de costela; e os outros 50% referentes a outros tipos de ossos (Figura 9).

**Figura 9** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres exumados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



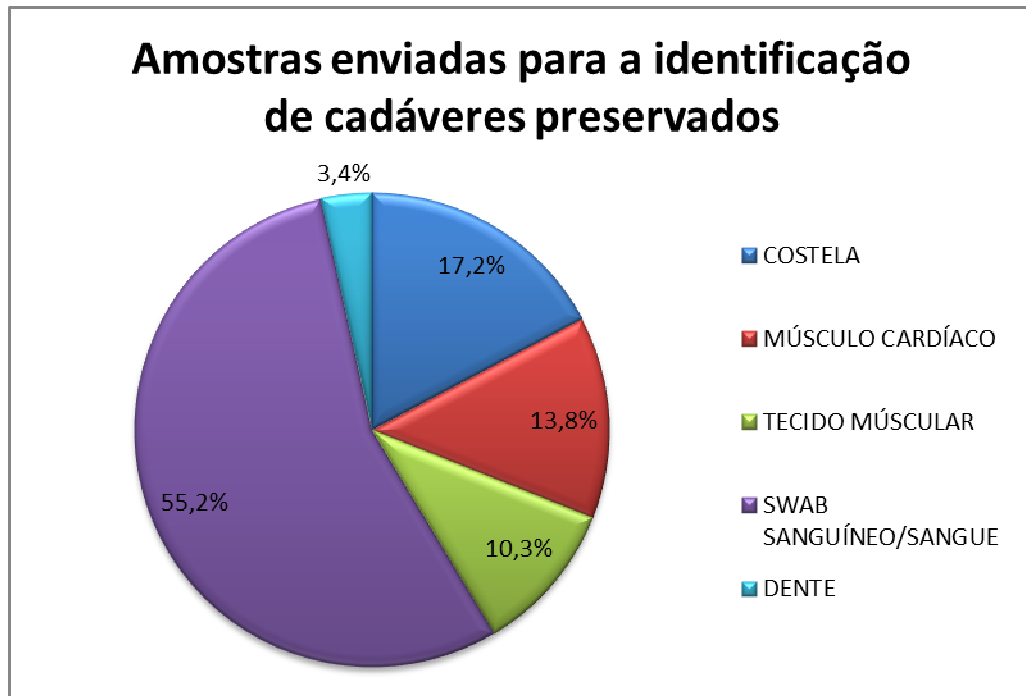
Nos casos envolvendo corpos carbonizados, a maioria das amostras que foram enviadas é de músculo cardíaco (40%). Essa preferência ocorre pelo fato do coração, por ser um músculo interno, encontra-se muitas vezes em bom estado de conservação. Tecidos musculares profundos e/ou em bom estado de conservação somam 20% das amostras enviadas. Outros 20% são referentes a segmentos de ossos, principalmente segmentos de fêmur. Em alguns casos foi possível à coleta de amostras de sangue (10%). Outros tipos de amostras, também, foram coletadas: amostra de fígado (5%) e vestígios dentários (5%).  
Figura 10.

**Figura 10** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de corpos carbonizados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



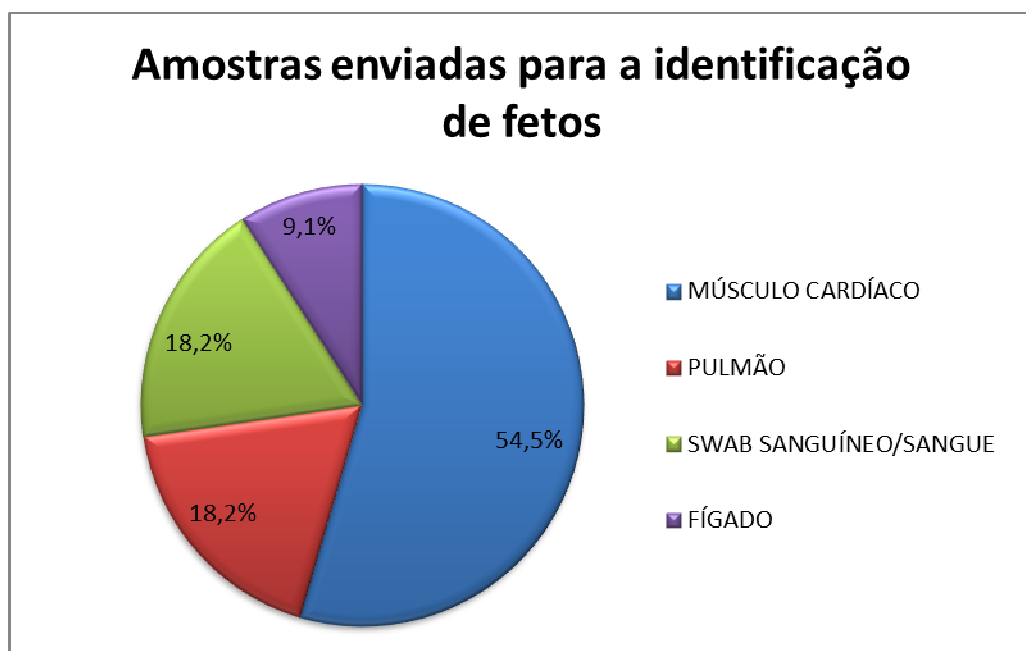
Quando referimos a cadáveres preservados, as amostras preferencialmente enviadas são de sangue ou *swab* sanguíneo (55,2%), devido a grande quantidade de DNA presente nesse tipo de amostra, proveniente principalmente dos glóbulos brancos (leucócitos). Amostras de segmentos de costela são enviadas com frequência (17,3%), principalmente, nos casos onde há perda total sanguínea por politraumatismo (acidentes de trânsito). São enviadas, também, amostras de músculo cardíaco (13,8%); tecido muscular (10,3%); e vestígios dentários (3,4%). Figura 11.

**Figura 11** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de cadáveres preservados analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



Em relação as amostras de fetos enviadas para análise ao NUPDF-CE, 54,5% são de músculo cardíaco; 18,2% de pulmão; 18,2% de sangue; e 9,1% de fígado (Figura 12).

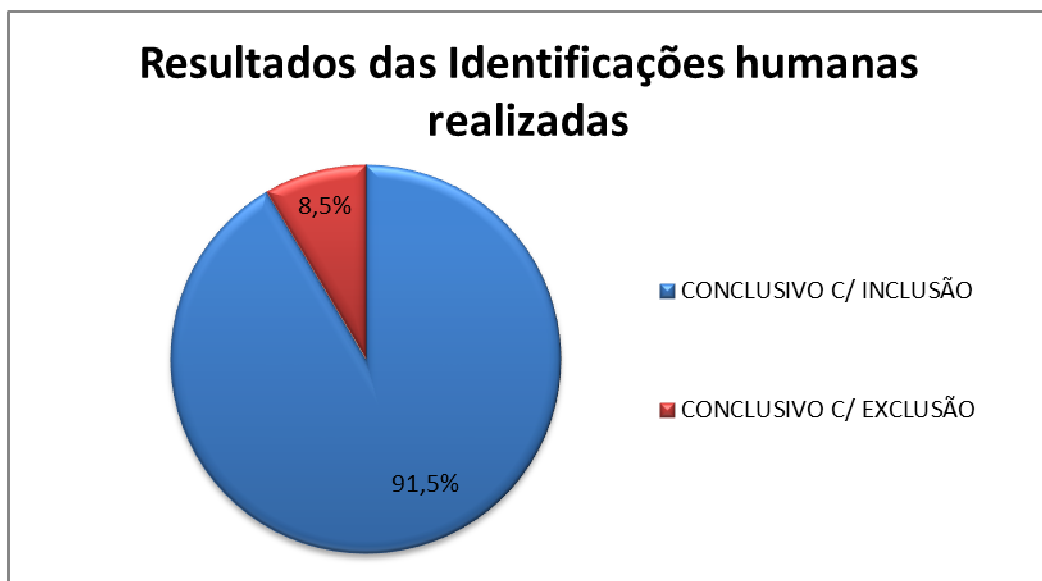
**Figura 12** – Tipo de amostras enviadas para a identificação de fetos analisados pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



No caso onde foi realizada a identificação *in vivo* foram enviadas amostras de *swab* bucal e *swab* sanguíneo. Já na identificação humana do caso com corpo formolizado, as amostras enviadas foram de músculo cardíaco e segmento de costela.

Dos 118 casos analisados pelo NUPDF-CE, foi constatado que todos foram conclusivos, indicando a qualidade e eficiência das técnicas e metodologias utilizadas desde a obtenção e acondicionamento das amostras até a genotipagem do DNA. Dos 118 laudos expedidos, 108 indicaram a existência de vínculo genético familiar (inclusão), e 10 indicaram exclusão deste tipo de vínculo. Esse dado revela que em 91,5% dos casos fica comprovada a existência de vínculo genético entre o suposto familiar e o corpo não identificado.. A Figura 13 retrata percentualmente os dados obtidos nesta análise.

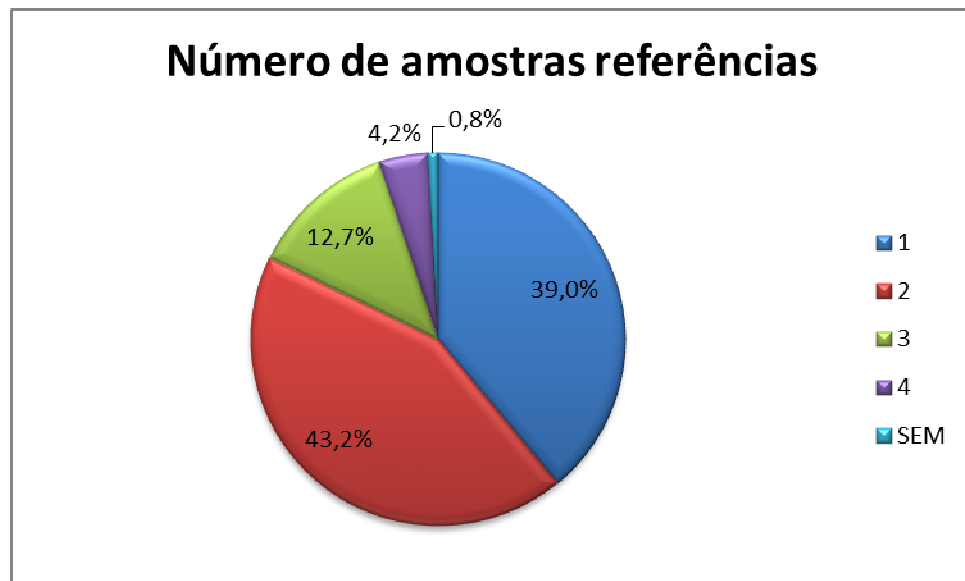
**Figura 13** – Resultados obtidos nas análises de 118 casos de identificação humana, realizadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



Em relação ao número de referências utilizadas para a expedição dos laudos, 46 casos foram resolvidos utilizando uma única amostra referência; 51 casos foram concluídos com duas amostras referências; 15 casos com três amostras referências; 5 casos com quatro amostras referências; e 1 caso foi concluído sem a necessidade de amostras referência por se tratar de identificação de material não humano. Os dados obtidos mostram que o exame de DNA pode ser conclusivo em grande parte dos casos utilizando o material genético de apenas um familiar relacionado ao indivíduo não identificado, indicando o poder de discriminação

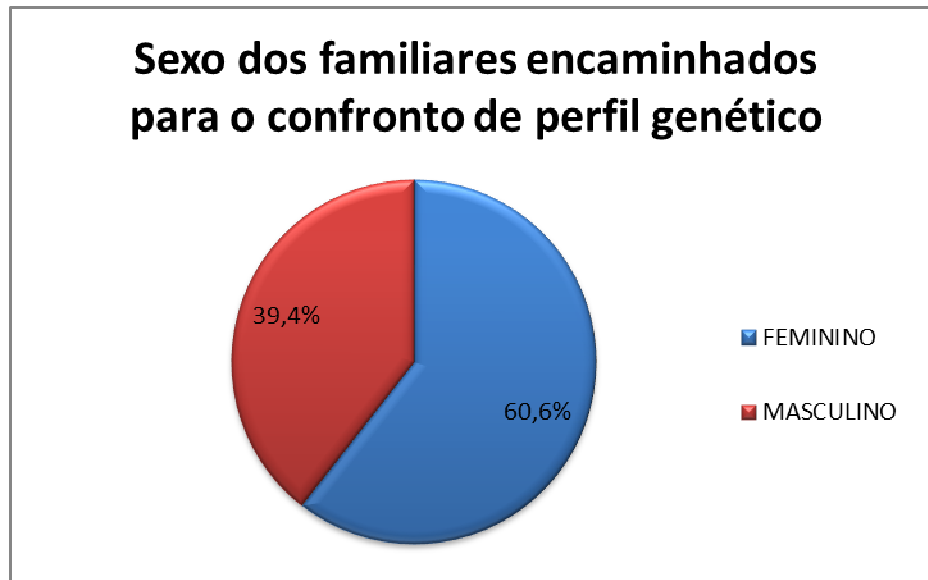
das metodologias utilizadas. Vale ressaltar que melhores resultados são obtidos com parentes de primeiro grau. Na Figura 14 podemos observar o percentual do número de referências utilizadas para a conclusão dos casos.

**Figura 14** – Número de amostras referências utilizadas por casos de identificação humana, realizadas pelo NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



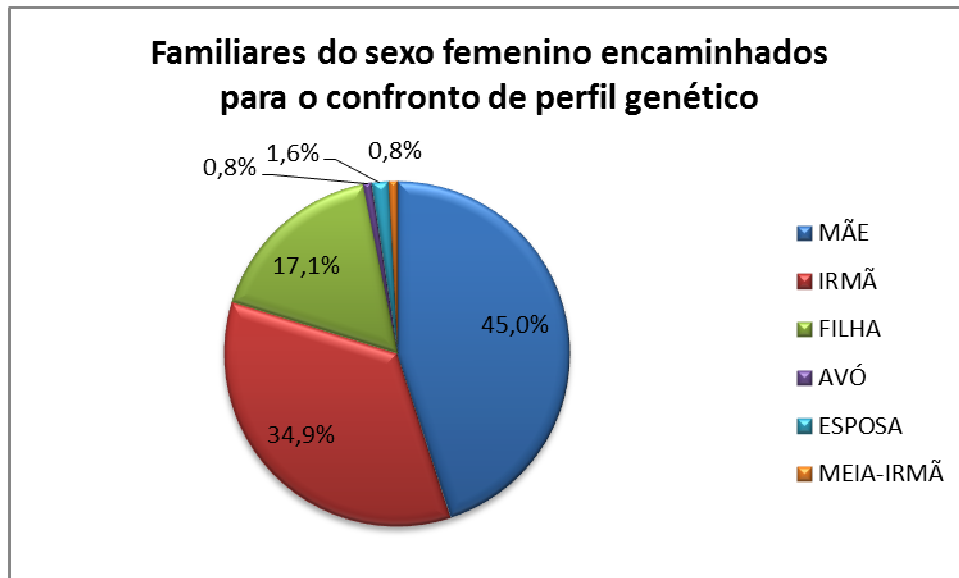
No período analisado neste trabalho, foram determinados 216 perfis genéticos de amostras referências. Entre os familiares que se encaminharam para a realização da coleta de amostra, 129 (60,6%) eram mulheres e 84 (39,4%) eram homens. Figura 15.

**Figura 15** – Sexo dos familiares encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



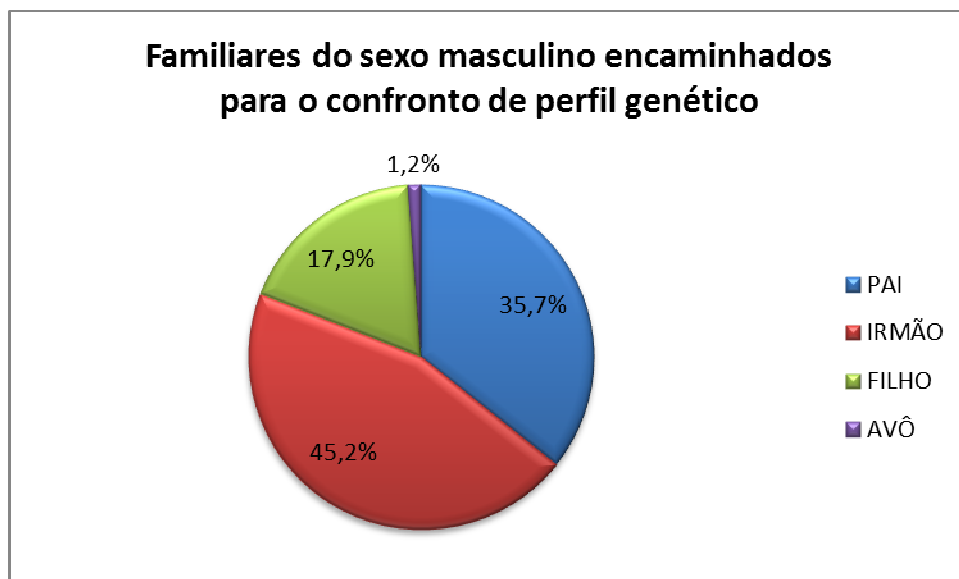
Das mulheres que se encaminharam, 58 (45,0%) eram supostamente mãe do cadáver; 45 (34,9%) irmãs; 22 (17,1%) filhas; 1 (0,8%) avô; 1 (0,8%) meia-irmã (somente materna); e 2 (1,6%) esposas (amostras utilizadas para formação de trios). Figura 16. Esse episódio ocorre como consequência de uma questão sócio-cultural, onde é mais fácil definir o vínculo entre mãe e filho que entre outros membros da família.

**Figura 16** – Grau de parentesco dos familiares, pertencentes ao sexo feminino, encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



Dos homens que se encaminharam, 30 (35,7%) eram supostamente pai do cadáver; 38 (45,2%) irmãos; 15 (17,9%) filhos; e 1 (1,2%) avô (Figura 17).

**Figura 17** – Grau de parentesco dos familiares, pertencentes ao sexo masculino, encaminhados para o confronto de perfil genético nos casos de identificação humana, realizados pelo ao NUPDF-CE, no período de Janeiro de 2011 à Outubro de 2013.



De acordo com os resultados, a maioria dos familiares que compareceu para reconhecimento dos corpos não identificados era composto por pai, mãe e irmãos. Esse dado deve-se ao fato que qualquer indivíduo tem o seu perfil genético definido a partir do DNA de seus pais, sendo metade do DNA herdado da mãe e a outra do pai, assim cada locus analisado apresenta dois “padrões” genéticos (alelos); estes padrões são comparados com os dos familiares determinando um grau de parentesco, com base em informações estatísticas obtidas da população em questão.

## 5 CONCLUSÕES

- Houve um crescimento no número de casos realizados pelo NUPDF-CE nos últimos anos, observando-se um aumento maior no ano de 2013 atribuído, principalmente, à uma nova determinação do Perito Geral da Perícia Forense do Estado do Ceará (PEFOCE), no dia 4 de junho de 2013, onde tornou-se obrigatório a utilização de um método científico (Papiloscopia, Odontologia Forense ou DNA) para a identificação/liberação dos corpos na instituição.
- Cerca da metade dos casos analisados pertence à região metropolitana e a outra metade é dividida principalmente pelas regiões Sul, Norte, Noroeste e Sertões, refletindo nitidamente à distribuição de habitantes do Estado do Ceará.
- A maior parte dos casos analisados é referente a indivíduos do sexo masculino (91,5%).
- A maioria das identificações realizadas foi proveniente de ossadas (40,7%) encontradas principalmente nas regiões do Estado com grande presença de zona rural e áreas de matas, fator este que pode dificultar a dinâmica da localização dos corpos.
- Em casos de identificação a partir de ossos, o fêmur, costela e vestígios dentários são os tipos de amostras preferencialmente enviadas ao NUPDF-CE para análise de DNA.
- O músculo cardíaco é o principal tipo de amostra utilizada na identificação de fetos e corpos carbonizados. Este último, devido ser um músculo interno, encontrando-se muitas vezes em bom estado de conservação.
- Quando referimos a cadáveres preservados, as amostras preferencialmente enviadas são de sangue e *swab* sagúneo.
- As técnicas e metodologias utilizadas possuem um grande poder discriminatório sendo necessário 1 ou 2 amostras referências para conclusão dos casos, principalmente tratando-se de parente de primeiro grau.
- A maioria dos familiares encaminhada para confronto de perfil genético é de supostas mães dos cadáveres.

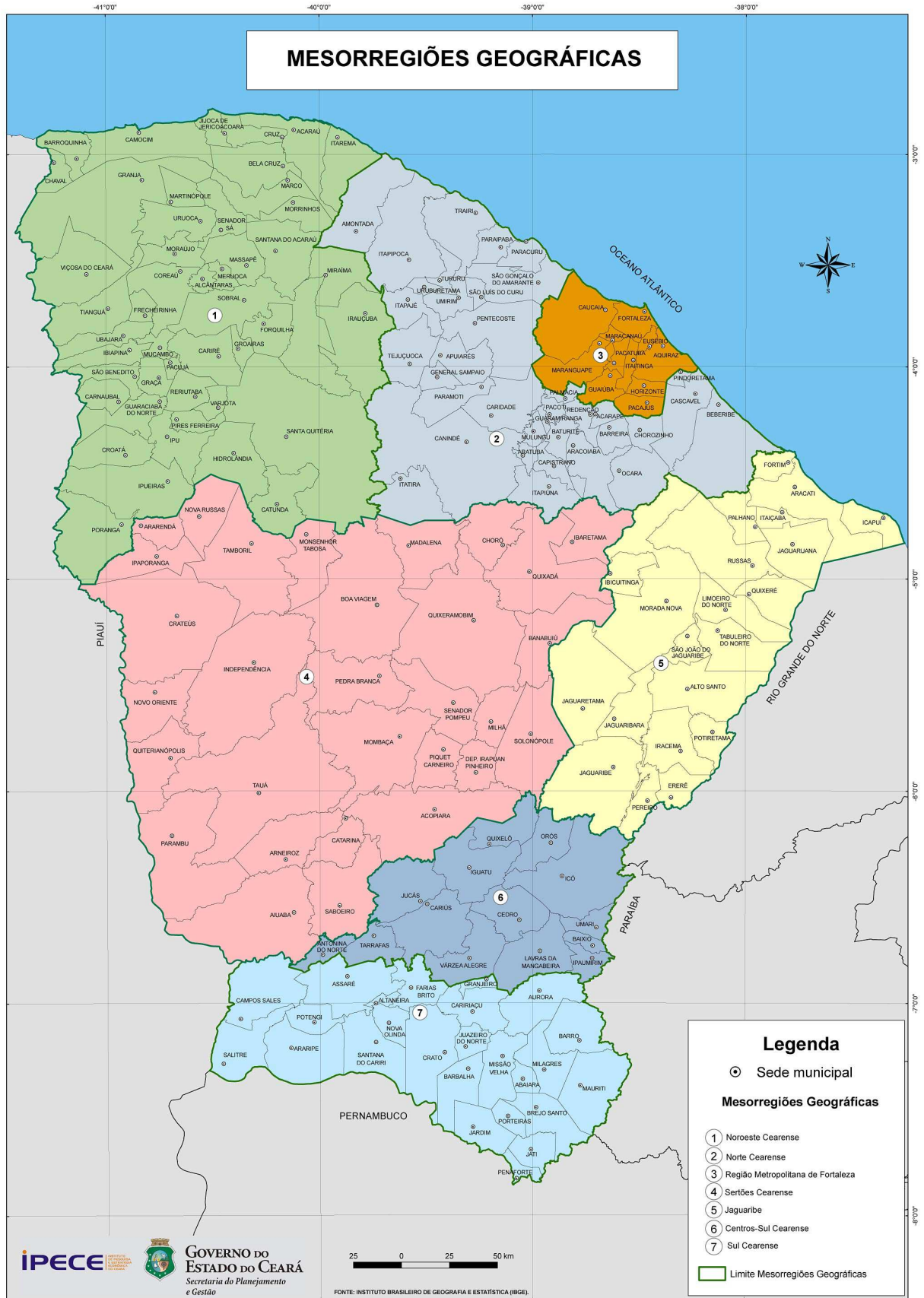
## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1359p.
- BIRD, A. **Perceptions of epigenetics**. *Nature*, v. 447, n. 7143, p. 396-398, 2007.
- BROWN, T. A. **Genética: um enfoque Molecular**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 336p.
- Censo Populacional 2010**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Página visitada em 19 de Dezembro de 2013.
- ESPÍNDULA, A. **Perícia Criminal e Cível: Uma visão completa para peritos e usuários da perícia**. 4.ed. Campinas: Millennium Editora, 2013. 512p.
- FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION. **CODIS (COmbined DNA Index System)**. Disponível em: <http://www.fbi.gov/hq/lab/codis/index1.htm>. Acesso em 26 nov. 2013.
- GALANTE-FILHO H, FIGINI AL, REIS AB, JOBIM LF, SILVA M. **Identificação humana**. Porto Alegre: Editora Sagra Luzzatto, 1999. 392p.
- GARRIDO, R.G.; GIOVANELLI, A. **Criminalística - Origem, Evolução e Descaminhos**. 5.v. Cadernos de Ciências Sociais Aplicadas, 2009. 43- 60p.
- GRIFFITHS, A.J.F. *et al.* **Introdução à genética**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 743p.
- JEFFREYS, A. J. *et al.* **Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints**. *Nature*, v.317, p.818-819, 1985.
- JOBIM, L.F.; COSTA, R. L.; SILVA, M. **Identificação Humana: Identificação pelo DNA, Identificação Médico-Legal, Perícias Odontológicas**. Campinas: Millennium Editora, 2005. 302p.
- LEWIN, B. **Genes IX**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 893p.
- MARCHI, E. **Methods developed to identify victims of the world trade center disaster**. *Am. Labor.*, n.36, p.30-36, 2004.
- PANETO, G. G. **Utilização do dna mitocondrial no contexto forense brasileiro**. Tese (Mestrado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia). Universidade Estadual Paulista – UNESP. Araraquara, 2006.
- RACE R.; SANGER, R. **Blood groups in man**. 5.ed. Oxford: Blackwell, 1968. 377p.

THOMPSON, W. C.; KRANE, D. 2003. Chapter 11: DNA in the courtroom. **Psychological and Scientific Evidence in Criminal Trials**. West Group. Disponível em: <<http://bioforensics.com/articles/Chapter11.pdf>>. Acesso em: 28 nov. 2004.

ZAHA A.; FERREIRA H.B.; PASSAGLIA L.M.P. **Biologia Molecular Básica**. 3.ed. Porto Alegre: Mercado Aberto, 2003, 424p.

# ANEXO 1



## ANEXO 2

**Universidade Federal do Ceará – UFC**  
**Perícia Forense do Ceará – PEFOCE**  
**Perfil das identificações humanas realizadas no Núcleo de Perícia em DNA Forense do Estado**  
**do Ceará (NUPDF-CE) no período de 2011 à 2013**  
**Projeto de Pesquisa – Monografia**  
**Celso Marinones Silva Araújo**

Amostra: \_\_\_\_\_

Caso: \_\_\_\_\_

Sexo do cadáver:  Masculino       Feminino

Local de origem do cadáver: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Natureza da amostra:  Ossada    Putrefeito    Carbonizado    Cadáver preservado  
 Outros \_\_\_\_\_

Tipo de amostra: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Situação do caso:  Inconclusivo  
 Conclusivo c/ inclusão  
 Conclusivo c/ exclusão

Familiares (amostras referências)

Quantos? \_\_\_\_

Grau de parentesco: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ANEXO 3



# Governo do Estado do Ceará

Secretaria da Segurança Pública e Defesa Social

Perícia Forense do Estado do Ceará - Pefoce

Coordenadoria de Análises Laboratoriais Forense - CALF

Núcleo de Perícia em DNA Forense - NUPDF

**POP- 08**

**Protocolo de Extração de DNA por  
CHELEX ( *swab oral* )**

## Procedimento:

1. Cortar os pedaços do algodão e colocar dentro do tubo;
2. Adicionar 200ul de Chelex (Chelating resin 100) a 5%, não esquecer de cortar a ponta da pipeta;
3. Colocar os tubos em banho maria a 56°C por 30 min;
4. Agitar um pouco no vórtex (5 a 10s);
5. Ferver os tubos durante 8 min, não esquecer de furar os tubos com uma agulha;
6. Agitar um pouco no vórtex (5 a 10s);
7. Centrifugar por 2 a 3 min (10000-15000);

## Observações:

1. O chelex contém resina esférica que precisa ser colocada na solução das amostras. O furo nos tubos é para permitir saída de vapor, logo impedir abertura dos frascos durante fervura.
2. Após extração do DNA deverá ser congelado. Não deitar os tubos antes do congelamento total do produto extraído.
3. Quando for amplificar, vortexar os tubos e centrifugar 2 a 3 min. Retirar o sobrenadante para ser amplificado, pois a resina não pode ser aspirada (algodão com chelex).

## ANEXO 4



# Governo do Estado do Ceará

Secretaria da Segurança Pública e Defesa Social

Perícia Forense do Estado do Ceará - Pefoce

Coordenadoria de Análises Laboratoriais Forense - CALF

Núcleo de Perícia em DNA Forense - NUPDF

**POP- 09**

**Protocolo para Extração Orgânica com o uso da membrana concentradora**

Procedimentos iniciais:

1. Serrar/cortar fragmento de osso (espessura de aproximadamente 0,5 cm); limpar todas as superfícies do osso com auxílio de um bisturi;
2. Em caso de elemento dentário, utilizar um molar ou pré-molar sem restaurações;
3. Incubar os fragmentos de osso ou dente (1cm<sup>3</sup>) por cerca de 5 dias em 20 mL de uma solução de EDTA 0,5M pH 8,0;
4. Remova as impurezas da superfície do osso com o uso de H<sub>2</sub>O mili-Q e gaze;
5. Retire a parte descalcificada do osso com o auxílio de um bisturi e proceda a extração

### Procedimentos para a Extração Orgânica:

1. Adicionar 600 μL de SEB, 60 μL de Proteinase K, homogeneizar, 40 μL de DTT;
2. Homogeneizar em vortex, incubar em banho-maria a 56°C e incubar overnight a 56°C.
3. Adicionar 600 μL da solução fenol/clorofórmio/álcool isoamílico e homogeneizar em vortex até a formação de uma emulsão leitosa;
4. Centrifugar por 3 minutos a 15000 rpm ;
5. Transferir a fase aquosa (sobrenadante) para Microcon 100, contendo 40 μL de água ultra-pura;
6. Centrifugar a 4500 rpm, até que o volume tenha sido filtrado.
7. Descartar o líquido filtrado e adicionar 500 μL de água ultra-pura na membrana;
8. Centrifugar a 4500 rpm , até que todo volume seja filtrado;
9. Adicionar 20 a 40 μL de água estéril (a temperatura ambiente) no Microcon e pipetar várias vezes tendo o cuidado de não romper a membrana.
10. Inverter o Microcon em um tubo novo e centrifugar por 7 min a 7000 rpm
11. Incubar 95°C por 10 min (opcional);
12. DNA extraído, congelar a -20°C.