

Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics

Journal homepage: www.ipebj.com.br/forensicjournal



Identificação Genética: Contribuição dos Marcadores STR e dos Bancos de Perfis Genéticos em Investigações Forenses

Genetic Identification: The Contribution of STR Markers and Genetic Profile Databases in Forensic Investigations

Ana Carolina Campos Batista¹, Victória Paz Machado¹, Jesse Pereira Machado Viana¹, Aline Costa Minervino², Marcelo Pereira Mendes², Ronaldo Carneiro da Silva Júnior^{2,*}

¹ Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

² Setor de Banco de Perfis Genéticos, Diretoria Técnico-Científica, Polícia Federal, Brasília, DF, Brasil

* Corresponding author. E-mail: ronaldo.rcsj@pf.gov.br

Received 1 March 2023; Accepted 16 April 2024

Resumo. A descoberta dos marcadores genéticos revolucionou a pesquisa científica e deu início às mais diversas aplicações no uso do DNA para identificação genética. Nas ciências forenses, por exemplo, o uso de marcadores possibilitou o aperfeiçoamento das metodologias empregadas na identificação genética humana, para fins cíveis, criminais e humanitários. Em 1997 o *Federal Bureau of Investigation* (FBI) estabeleceu o *CODIS Core Loci*, um conjunto de marcadores genéticos a serem utilizados em análises de identificação humana. O sistema CODIS (*Combined DNA Index System*) é utilizado para o gerenciamento de perfis genéticos e mais de 50 países aderiram à ferramenta, inclusive o Brasil, que em 2013 fundou a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG). Esta rede tem o objetivo de proporcionar o intercâmbio de perfis genéticos de interesse da Justiça, obtidos em laboratórios de perícia oficial.

Palavras-Chave: STR; Genética forense; Banco de dados; Marcadores genéticos; DNA forense.

Abstract. The discovery of genetic molecular markers has revolutionized the scientific research and gave rise to the most diverse applications in the use of DNA for genetic

identification. In forensic genetics, for instance, the use of markers has enabled the improvement of methodologies used in human genetic identification, for civil, criminal and humanitarian purposes. In 1997 the Federal Bureau of Investigation (FBI) established the CODIS Core Loci, a set of genetic markers to be used in human identification analyses. CODIS (Combined DNA Index System) is used to manage genetic profiles and more than 50 countries have joined the tool, including Brazil, which in 2013 founded the Integrated Network of DNA Databases (Rede Integrada de Perfis Genéticos - RIBPG). This network's main objective is to provide the exchange of genetic profiles of interest to Justice, obtained in official forensic laboratories.

Keywords: STR; Forensic genetics; Database; Genetic markers; Forensic DNA.

1. Introdução

O objeto de estudo da genética são as informações contidas no DNA dos seres vivos. Tais informações são transmitidas ao longo de gerações e podem, ou não, estar associadas a características morfológicas ou comportamentais. No século XIX, Gregor Mendel foi pioneiro a dedicar-se ao estudo de características hereditárias¹, contribuindo com a descoberta de princípios que fundamentaram a genética clássica. Desde então, o desenvolvimento de estudos e técnicas de Biologia Molecular permitiram a identificação estrutural e funcional do genoma humano, abrangendo a caracterização de *loci* polimórficos de um indivíduo até a hiper variabilidade genética em uma população, além de técnicas que possibilitaram a identificação dessas variações que caracterizam as especificidades genéticas de cada pessoa.

Para o estudo de polimorfismos a nível genômico, os marcadores genéticos moleculares são relevantes por realizarem distinção genotípica. O primeiro sistema descoberto foi o Polimorfismo do Comprimento do Fragmento de Restrição (RFLP)². Sua análise baseia-se em técnica de hibridização e permite a detecção de fragmentos de DNA de diferentes tamanhos produzidos por ação de endonucleases de restrição, enzimas que reconhecem e cortam o DNA em determinado local. Entretanto, limitações como a necessidade de grande quantidade de DNA e o uso de sondas radioativas descontinuaram o uso desse tipo de marcador³.

Ao contrário de outros tipos de marcadores que apresentaram diversas limitações, os STRs, “*Short Tandem Repeats*”, também conhecidos como

microssatélites, demonstraram ter grande potencial. Entraram em uso devido à possibilidade de individualizar pessoas pelos polimorfismos de sequências repetitivas amplamente distribuídas em todos os genomas. Tais marcadores consistem em regiões repetitivas de sequências de 2 a 6 pares de bases localizadas em *loci* genômicos não codificantes⁴. O número de repetições STRs no genoma de cada indivíduo é altamente variável, formando o perfil genético, que é um padrão único resultante da herança de genitores e variação alélica.

Para tanto, o perfil genético é explorado como ferramenta auxiliar no processo de investigação forense para fins de identificação criminal e cível, e de pessoas desaparecidas. Esta mesma técnica é aplicada na análise de amostras questionadas, como vestígios de crimes (por exemplo, crimes sexuais, contra a vida e contra o patrimônio) e restos mortais não identificados. Nesses casos, a partir da obtenção por coleta e processamento de amostras biológicas, os perfis genéticos que possuem qualidade suficiente para tal (número mínimo de marcadores genéticos, por exemplo) são inseridos em bancos de dados e realizam-se confrontos entre as amostras questionadas, e as amostras de referências – explicadas adiante –, com intuito de investigar se ocorrem coincidências (*matches*), que são analogias completas ou parciais entre os perfis obtidos de tais amostras.

No Brasil, os laboratórios de genética forense que compõem a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), utilizam o software *Combined DNA Index System* (CODIS) para o gerenciamento dos perfis genéticos. A Rede potencializa a investigação criminal a nível nacional, portanto, a integração dos bancos de dados é um fator essencial para a realização do trabalho investigativo, assim como a manutenção e o abastecimento desses bancos com perfis genéticos.

Desse modo, o presente estudo tem como objetivo reunir informações acerca do uso de STRs em análises forenses, com enfoque nos temas de identificação por perfil genético, teste de paternidade, genética de populações, entre outros assuntos correlacionados.

2. Materiais e métodos

Para a realização deste artigo, a metodologia baseou-se em uma revisão de literatura relacionada com as publicações sobre marcadores genéticos STRs. A

coleta de dados e as informações a respeito do assunto específico foram colhidas em bases de dados como Pubmed, Google Acadêmico e portal de periódicos da CAPES, bem como por meio de documentos publicados pela RIBPG.

Os descritores utilizados para busca dos artigos científicos foram: STR, genética forense, genética de populações, marcadores genéticos, testes de paternidade e banco de dados.

3. Resultados

3.1. Histórico da identificação genética

A identificação humana utilizando técnicas genéticas iniciou-se com base na análise de tipagem sanguínea (ABO e fator Rh)⁵. Em meados da década de 1930, antes do surgimento da PCR (polimerase chain reaction) e do uso do material genético na identificação humana, as metodologias empregadas foram se tornando mais sofisticadas, e em 1950, começou-se a aplicar a identificação por isoenzimas⁶. Posteriormente outras técnicas ganharam espaço, como identificação por grupos sorológicos (transferrina, haptoglobina)⁷ e sistema HLA (Antígenos Leucocitários Humanos)⁸. Contudo, o uso de fato do material genético ocorre quando Ray White descreveu o primeiro marcador polimórfico, em 1980⁹, e Alec Jeffreys e colaboradores desenvolveram a técnica *DNA fingerprinting*¹⁰.

Na década de 1980, Alec Jeffreys e colaboradores da Universidade de Leicester desenvolveram a importante técnica de impressões de DNA (*DNA fingerprinting*) de múltiplos *loci* (*multilocus*) pressupondo que essa técnica possibilitaria utilizar o DNA para identificação de indivíduos, além de permitir a realização de testes de paternidade. A resolução de um caso que envolvia um processo de imigração no Reino Unido somente foi possível a partir do uso da técnica de *DNA fingerprinting*, o que evidenciou a relevância dessa ferramenta¹⁰.

DNA fingerprinting baseia-se na análise de Repetições em Tandem de Número Variável (VNTRs - *variable number of tandem repeats*), ou minissatélites. Elas se caracterizam por apresentarem tamanho entre 10 e 100 pares de bases, possuírem sequências repetidas em tandem (lado a lado) e localizarem-se em diferentes regiões do genoma (*multilocus*), possibilitando a distinção entre dois ou mais indivíduos baseado em polimorfismo¹¹. No entanto, devido a sua localização telomérica no DNA, dificuldade de amplificação e

complexidade de interpretação de resultados¹², tais marcadores foram posteriormente substituídos pelos *Short Tandem Repeats* (STRs), que são uma outra classe de sequências repetitivas, porém menores e localizadas em determinadas regiões do genoma, além de possuírem seus resultados mais facilmente interpretados¹³.

Como ferramenta de análise de STRs, o uso da PCR demonstrou ser uma ferramenta rápida e efetiva para tipagem dessas repetições¹⁴. A sua invenção revolucionou a Biologia Molecular¹⁵ e rendeu o Prêmio Nobel em Química em 1993 ao bioquímico Kary B. Mullis¹⁶. Embora seja uma técnica relativamente simples, a PCR é bastante efetiva, capaz de produzir de milhões a bilhões de cópias de sequências específicas do DNA, que são os *amplicons*¹⁷. Os componentes da reação consistem em iniciadores (*primers*), DNA molde, DNA polimerase termoestável e nucleotídeos (dNTPs). As três etapas da reação são desnaturação, anelamento e extensão, as quais são repetidamente realizadas em um termociclador, equipamento laboratorial que realiza ciclos de mudanças de temperatura, até que a quantidade de *amplicons* seja suficiente para detecção em aparelhos de eletroforese de alta performance. Esse procedimento possui diversos usos além da aplicação em análises forenses¹⁸, pois permite a análise genética de amostras que possuem pequena quantidade de DNA viável.

Após a PCR, os *amplicons* dos diferentes STRs são submetidos à separação de marcadores e de outros fragmentos de DNA. Antigamente, utilizavam-se técnicas que envolviam o uso de materiais radioativos, como por exemplo, o isótopo fósforo-32, o qual servia como sonda para a detecção dos fragmentos de DNA^{19,20}. Porém, com o desenvolvimento técnico-científico, as formas de separação foram sendo sucedidas por técnicas mais modernas como a eletroforese capilar e plataformas automatizadas. A eletroforese capilar foi introduzida em 1981 por Jorgenson e Lukacs²¹ e envolve a separação de analitos através de migração diferenciada desses por meio de fluxo eletroforético e eletrosmótico a partir de campo elétrico gerado no capilar. As plataformas automatizadas foram um avanço significativo que elevaram a celeridade e proporcionaram a padronização do processamento de amostras para análise de produtos de PCR²².

Durante as pesquisas genéticas, outros marcadores também foram descobertos. Este é o caso dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), os

quais também foram conhecidos na década de 1980. Porém, a sensibilidade, robustez e poder de discriminação dos STRs favoreceram a utilização desses como marcadores de preferência nas análises forenses²³. Os SNPs, atualmente, não são as ferramentas de escolha para a identificação genética, mas possuem boa aplicabilidade em outras áreas de interesse, como a genealogia genética e a fenotipagem genética, além da área médica²⁴.

3.2. STRs adotados para identificação humana

Os marcadores genéticos mais amplamente utilizados para análises de identificação humana foram definidos em 1997 pelo *Federal Bureau of Investigation* (FBI), em seu Sistema Combinado de Índices de DNA (*Combined DNA Index System - CODIS*). Este conjunto de marcadores são chamados *CODIS Core Loci*: CSF1PO, FGA, THO1, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11. Em 2017, O FBI expandiu os Core CODIS e incluiu os seguintes marcadores: D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433, D22S1045²⁵.

Outro marcador genético muito utilizado na identificação humana é o gene codificante da amelogenina, proteína encontrada no esmalte dentário. O gene da amelogenina está presente tanto no cromossomo X (existente em homens e em mulheres), quanto no cromossomo Y (existente apenas em homens). Apesar de poucas diferenças quanto às sequências da amelogenina-X e da amelogenina-Y, a análise de genética forense permite diferenciá-las, o que é especialmente útil na identificação de amostras biológicas masculinas e femininas.

Além de permitir a identificação humana, uma importante característica dos STRs é não revelar informações fenotípicas de um indivíduo, com exceção do marcador genético sexual, o que está de acordo com a legislação brasileira. Este é um preceito bioético, que visa remover o viés discriminatório e garantir a privacidade genética. Apesar de existirem estudos que sugerem a associação de marcadores STRs com traços fenotípicos complexos^{26,27}, estes foram inconclusivos. Desta maneira, entende-se, atualmente, que os *loci CODIS* não revelam informações a respeito de características físicas e comportamentais dos indivíduos²⁸.

3.3. Genética de populações no Brasil

A genética forense, como área científica, requer que toda avaliação de dados seja validada por cálculos bioestatísticos²⁹. Tais cálculos envolvem a análise individual de perfil genéticos de uma pessoa, sendo necessário conhecer as frequências alélicas de cada marcador genético na população da qual o indivíduo faz parte. A bioestatística, fornece resultados numéricos que podem corresponder em última análise à probabilidade de vinculação de suspeitos aos crimes, por meio de testes de hipóteses de acusação e defesa³⁰.

Desse modo, estudos de genética de populações têm como finalidade determinar estimativas para parâmetros bioestatísticos de um determinado conjunto de indivíduos. Deve-se tomar em conta que o resultado de análises de identificação por perfil genético tem maior acurácia quando utilizam-se fatores de correção de acordo com o *background* genético da população, cuja frequência alélica resulta de questões como miscigenação, endogamia e variabilidade genética. Faz-se, portanto, necessário estimar os coeficientes que representam a configuração do *pool* alélico de uma determinada população³¹.

Alguns dos conceitos citados a seguir são usados para valoração adequada da informação genética dos perfis obtidos em laboratório³²:

- Frequência alélica, que é a proporção de um alelo em uma determinada população;
- Poder de discriminação, referente à variabilidade de determinado marcador genético, relacionando-se com a capacidade de individualização de uma pessoa dentro de uma população;
- Equilíbrio de Hardy-Weinberg, que implica na transmissão aleatória do *pool* alélico de uma população, assim os alelos podem ser assumidos como independentes nos cálculos bioestatísticos³³.

É válido destacar que a população brasileira é composta principalmente por uma mistura étnica de povos indígenas, europeus e africanos. O processo migratório no Brasil foi heterogêneo, de modo que a contribuição das diversas frequências alélicas dos povos imigrantes varia nas regiões do país. Em vista disso, foram feitos diversos estudos de genética populacional que podem embasar as análises bioestatísticas de identificação forense na população brasileira^{34,35,36,37}. Por exemplo, entre os marcadores X-STRs analisados, o DXS7133 teve maior capacidade de diferenciar indivíduos da mesma população,

isto é, de maior especificidade na comparação entre as populações das cinco regiões do Brasil³⁸. Para marcadores Y-STRs, o de maior média de diferenciação gênica foi o DYS389II³⁹. Em comunidades quilombolas foram identificados *loci* fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg⁴⁰. Além disso, os marcadores CODIS, exceto CSF1PO, D5S818 e TPOX, apresentaram alto grau de polimorfismo genético⁴¹.

3.4. O perfil genético e os bancos de dados

A obtenção laboratorial do perfil genético é realizada por uma série de etapas. Inicialmente, faz-se a coleta de materiais biológicos que contenham DNA, como amostras de saliva, sangue, ossos, suor, urina e líquido seminal. Tais amostras podem ser coletadas por meio de instrumentos como *swabs*, os quais permitem o armazenamento e mantêm a integridade do material até que esse seja processado. Após isso, em laboratórios especializados, realiza-se a extração do DNA do compartimento nuclear e intracelular, para que ele fique livre no sobrenadante e possa ter contato direto com enzimas e reagentes. Tal etapa é feita usando kits próprios e protocolos para extração. A seguinte etapa é a quantificação de DNA, realizada por meio de equipamentos chamados quantificadores, os quais utilizam a tecnologia de PCR em Tempo Real (*Real-Time PCR*). A principal aplicação da quantificação é determinar a quantidade de DNA presente na amostra visando o ajuste das proporções dos reagentes para a etapa de amplificação, o que é especialmente útil em amostras questionadas. Kits mais modernos de quantificação permitem, ainda, estimar proporções de DNA masculino *versus* DNA feminino em amostras de mistura (o que é especialmente útil em casos de crimes sexuais), bem como avaliar o nível de degradação das amostras submetidas a análise. Todos esses pontos fazem da quantificação uma etapa recomendada no planejamento do fluxo analítico de amostras forenses. Esta etapa de quantificação é considerada facultativa em casos de amostras de referência, visto que estas geralmente contêm maior quantidade de DNA e menor índice de degradação em relação às amostras forenses questionadas.

Em seguida, realiza-se a amplificação das sequências dos marcadores, através da técnica de PCR em termocicladores, como explicado anteriormente. Após a amplificação, realiza-se a separação de *amplicons*, os quais são

separados entre si e do restante de DNA da amostra, por meio da já mencionada técnica de eletroforese capilar, gerando um resultado gráfico chamado eletroferograma. Por fim, realiza-se análises estatísticas e interpretação dos resultados. Assim, é gerado o perfil genético, um código alfanumérico, que é específico e único para cada indivíduo, com exceção de gêmeos univitelinos. Tal código, cumprindo as exigências técnicas e legais estabelecidas em cada país, poderá ser inserido no banco de dados de modo a ser comparado com outros.

No âmbito de uma investigação policial, deve-se observar as boas práticas da cadeia de custódia durante o manejo das amostras, desde o momento da coleta até o ato de armazenamento e processamento. Tais medidas têm como objetivo garantir a lisura, tanto do processo de análise laboratorial, quanto do processo judicial. Ademais, tais cuidados garantem, também, a incolumidade da amostra e direitos humanos do indivíduo identificado geneticamente⁴².

Uma ferramenta usada para verificação de identidade ou semelhança entre perfis genéticos é o CODIS, um programa computacional de gerenciamento de perfis genéticos que até a data de 21 de março de 2021 era utilizado por 58 países.⁴³ O objetivo da ferramenta é realizar confrontos entre perfis genéticos obtidos de vestígios de cena de crime (ou coletados nos corpos de vítimas) e de indivíduos cadastrados criminalmente para identificar se há ocorrência de coincidências⁴⁴. Por exemplo, quando o perfil genético de referência de um suspeito é idêntico ao perfil genético obtido de uma amostra coletada em um local de crime, a perícia forense pode relacionar o indivíduo ao crime investigado. O *software* CODIS promove a comparação escolhida pelo operador entre diferentes categorias de perfis⁴⁵. Esse programa foi projetado com níveis de hierarquia de modo a garantir a segurança dos dados, assim como facilitar a investigação de crimes tanto a nível local quanto nacional. Os níveis locais, no Brasil, correspondem aos bancos de dados estaduais, distrital e federal, os quais podem alimentar o banco de dados nacional, o Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG), que corresponde ao nível mais elevado.

No Brasil, os laboratórios de genética forense que utilizam o CODIS para gerenciamento dos perfis genéticos compõem a RIBPG. Ela foi criada em 2013 por meio de ação conjunta entre a Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP) e a Polícia Federal (PF) com o objetivo de ser uma rede para

compartilhamento de perfis genéticos obtidos em laboratórios oficiais de Genética Forense⁴⁶.

Os marcadores requeridos e aceitos pela RIBPG podem variar de acordo com as categorias de perfis genéticos. Para amostras de referência são requeridos, no mínimo, os 13 marcadores originais *CODIS core loci*. Este tipo de amostra costuma possuir maior integridade, de forma que ao ser processada, tem chance de exibir todos os *loci* alvos. Também são aceitos os seguintes marcadores: D2S1338, D19S433, Penta D, Penta E, D10S1248, D22S1045, D1S1656, D12S391, D2S441 e SE33⁴⁷. Por outro lado, amostras questionadas podem estar em maiores graus de degradação e por esse motivo, conforme o Manual de Procedimentos Operacionais da RIBPG, os marcadores requeridos podem variar de 8 a 13 dentre os chamados marcadores *CODIS core loci*, além da amelogenina em alguns casos. Esse último marcador revela o sexo do indivíduo, sendo requerido para perfis de Restos Mortais Identificados ou Não Identificados, referências para busca por pessoas desaparecidas e pessoas de identidade desconhecida, além de ser aceito para as demais categorias de perfis genéticos.

A RIBPG conta com um Comitê Gestor com a finalidade de promover a coordenação das ações dos órgãos gerenciadores de banco de dados de perfis genéticos e a integração dos dados nos âmbitos da União, dos Estados e do Distrito Federal⁴⁶. As exigências estabelecidas por esse colegiado devem ser cumpridas para viabilizar a inserção de perfis genéticos nos repositórios correspondentes⁴⁵. Essas medidas visam a garantia da qualidade dos perfis genéticos contidos em todos os níveis de bancos de dados.

3.5. Aplicações dos STRs na área forense

3.5.1. Identificação genética

O processo de identificação genética humana tem base na comparação entre perfis genéticos. O mais comum é haver uma amostra de referência, cuja origem é conhecida, e uma amostra questionada, que pode ser proveniente de um resto mortal não identificado, de uma pessoa de identidade desconhecida ou de vestígios coletados em cena de crime ou no corpo de vítimas. Os perfis genéticos obtidos de amostras de referência serão confrontados com os perfis genéticos obtidos de amostras questionadas⁴⁵.

De posse dos perfis genéticos que serão confrontados, é feita uma análise estatística de teste de hipóteses que resultará na razão de verossimilhança (*Likelihood Rate, LR*)⁴⁸. Esse cálculo leva em conta parâmetros correspondentes à população da qual o perfil questionado possa ser pertencente. A razão de verossimilhança é a proporção entre a probabilidade de que a amostra questionada tenha origem do indivíduo de referência e a probabilidade de que a amostra questionada tenha origem em qualquer outro indivíduo da população.

3.5.2. Identificação Genética em investigações criminais

A categorização das amostras biológicas tem notável relevância pois permite a configuração de filtros para confrontos posteriores entre determinados tipos de perfis genéticos. De acordo Manual de Procedimentos Operacionais⁴⁵ da RIBPG, para fins de investigação criminal, as categorias, e entre parênteses seus respectivos nomes no software CODIS, são as seguintes:

Amostras questionadas:

- *Vestígio (Forensic, Unknown)*: Amostras biológicas coletadas em locais de crimes ou em vítimas, que possam estar relacionadas com o autor do crime, conforme preceitua o Código de Processo Penal, contendo material genético de apenas um indivíduo.
- *Vestígio parcial (Forensic Partial)*: Amostras biológicas coletadas em locais de crimes ou em vítimas, que possam estar relacionadas com o autor do crime, conforme preceitua o Código de Processo Penal, das quais se obteve um perfil parcial.
- *Vestígio com mistura (Forensic Mixture)*: Amostras biológicas coletadas em locais de crimes ou em vítimas, que possam estar relacionadas com o autor do crime, conforme preceitua o Código de Processo Penal, contendo material genético de mais de um indivíduo.
- *Resto mortal não identificado (Restos Mortais NI)*: amostra que seja coletada de restos mortais de identidade indeterminada.

Amostras de referência:

- *Condenado¹ (Convicted Offender)*: amostra obtida de indivíduo condenado por crimes previstos no art. 9º-A da Lei n. 7.210/1984.

- Identificado criminalmente¹ (*Suspect, Known*): amostras coletadas de acordo com a Lei nº 12.037/2009, que dispõe da identificação criminal.
- Decisão judicial¹ (*Legal*): são aquelas em que a amostra não se enquadra nas categorias “condenado” tampouco na “identificado criminal”, mas são coletadas por uma solicitação judicial.
- Restos mortais identificados (RMI): são referentes a perfis genéticos obtidos de cadáveres de identidade conhecida.
- Equipe (*Staff*) e Exclusão (*Elimination, Known*): amostras biológicas dos envolvidos na coleta e processamento da amostra. Esse grupo é usado para identificar possíveis contaminações em amostras de outras categorias.

3.5.3. Identificação Genética para fins humanitários

Tanto investigação de questões humanitárias como a busca por pessoas desaparecidas e a identificação de pessoas ou cadáveres são tarefas desempenhadas pela polícia. Logo, existem ainda outras categorias de amostras que são aplicadas à RIBPG segundo seu Manual de Procedimentos Operacionais⁴⁵:

- Pessoa não identificada (*Unidentified Person*): amostra que seja coletada de pessoa viva de identidade indeterminada.
- Resto mortal não identificado (Restos Mortais NI): amostra que seja coletada de restos mortais de identidade indeterminada.
- Referência direta de pessoa desaparecida (*Missing Person*): amostras de referência direta do desaparecido obtidas através de objetos pessoais como, por exemplo, escova de dentes, roupa íntima, dente de leite ou material de biópsia, cedidos pelos familiares.
- Familiares de pessoas desaparecidas: para que seja criada uma árvore genealógica, ou *pedigree*, que representa a família da pessoa desaparecida, assim pode-se estimar/calcular quais seriam os possíveis perfis genéticos que possam pertencer ao desaparecido. Esse método de busca baseia-se no vínculo

genético, explicado adiante, compartilhado por entes de uma família.

- Cônjuge (*Spouse*);
- Filho biológico (*Biological Child*);
- Irmão biológico (*Biological Sibling*);
- Pai biológico (*Biological Father*);
- Parente materno (*Maternal Relative*) e
- Parente paterno (*Paternal Relative*)

Os perfis genéticos obtidos das categorias acima, coletadas com fim humanitário, são confrontados apenas entre essas categorias, ou seja, não há comparação entre categorias de amostras coletadas para finalidades criminais e amostras com finalidades humanitárias.

3.5.4. Vínculo Genético

A base da análise de vínculos genéticos envolve a identificação indireta de um indivíduo a partir da comparação de seu perfil genético com os de seus supostos parentes biológicos. Os vínculos genéticos podem ser utilizados em casos cíveis. Desse modo, sabendo que em um indivíduo os alelos STR do descendente são resultado da combinação dos alelos paternos e maternos, faz-se necessário a construção de uma árvore genealógica para, então, analisar os STRs de cada familiar, averiguando a possível ligação desses com o indivíduo.

Em investigações policiais, a vinculação genética é usada principalmente para a identificação de pessoas desaparecidas. Nesse tipo de caso, são realizados confrontos periódicos entre amostras biológicas de familiares de pessoas desaparecidas com o perfil genético tanto de restos mortais não identificados quanto de pessoas vivas sem identificação⁴⁹. Diferentemente de outros países, no Brasil não se utiliza a vinculação genética para buscas de criminosos (busca familiar), por força da Lei nº 7210/1984 (Lei de Execução Penal)⁵⁰. Por exemplo, no caso de crimes sexuais não se pode inserir o material genético do feto legalmente abortado em bancos de dados para confrontos visando a busca do ofensor.

Como exemplos de investigações que foram auxiliadas pela vinculação genética e tiveram alta repercussão no Brasil, tem-se o Caso Pedrinho⁵¹ e o Caso Glória Trevi⁵². No primeiro caso, investigou-se a subtração do menor

Pedrinho, um caso de furto de bebê na maternidade, em que a mulher suspeita o criou como filho, e, após testes de vinculação, averiguou-se que esta não era sua genitora. No segundo caso, investigou-se a paternidade do bebê da cantora Glória Trevi que, durante seu cárcere na Polícia Federal, engravidou e afirmou ter sido vítima de estupro. Para os testes de vinculação genética, os quais ocorreram sem o consentimento da cantora, foi usada a placenta recolhida após o parto como evidência probatória. Com tais exemplos, percebe-se o valor da identificação por vinculação genética e seu auxílio na elucidação de investigações.

Por outro lado, a vinculação genética é amplamente utilizada em investigações cíveis, também relativas à área forense, em que há o uso da ciência dentro do sistema judiciário. Isso ocorre, na maioria dos casos, em testes de paternidade em que se investiga os perfis de STR de filho, mãe e suposto pai. Contudo, existem diversas outras possibilidades de buscas legais por vínculos genéticos familiares. De todo modo, para melhor valoração do cálculo para determinação de vinculação genética, é preferível a coleta de amostras genéticas de descendentes e ascendentes diretos, a fim comparativo dos STRs obtidos. Em particular, existem situações de análise com material somente de filho e de suposto pai, além de casos em que o suposto pai é falecido ou não se conhece seu paradeiro. Nestes últimos casos, o exame de DNA é realizado com amostras de parentes consanguíneos com preferência de graus mais próximos, o que está de acordo com a Lei nº 14.138, de 2021.

Ademais, para as investigações cíveis, deve-se utilizar marcadores com alto poder de discriminação de acordo com a população a qual os progenitores pertencem. Aqueles marcadores com maior variabilidade genética são os que proporcionam resultados com maior confiabilidade. Visto que um alelo com alta prevalência na população geralmente não fornece informação de valor estatístico para individualização e identificação de pessoas.

Por fim, dentre os diferentes tipos de vínculo genético, é importante ressaltar a diferença entre o grau de qualidade de amostras em relação ao número de marcadores exigidos. Em casos cíveis, tanto as amostras de referências quanto as amostras questionadas em exame de paternidade têm alta qualidade já que são coletadas em situação controlada. De modo contrário, em situações de análise de vínculo genético para identificação de restos mortais,

muitas das vezes as amostras forenses encontram-se degradadas e com baixa quantidade de DNA amplificável. Isto justifica o fato de que, para a finalidade de inclusão nos bancos da RIBPG para fins de busca de pessoas desaparecidas, exigem-se menos marcadores⁴⁵.

4. Considerações finais

Desde o início da implementação do DNA na identificação humana muitos tipos de marcadores genéticos foram utilizados em análises forenses. Porém, entre eles, marcadores do tipo STR foram os que apresentaram maior proporção entre as vantagens e desvantagens, uma vez que apresentam sensibilidade, especificidade, robustez e custo razoável de análise.

A análise de marcadores do tipo STR por meio de sistemas *multiplex* (sistemas que permitem a amplificação simultânea de múltiplos *loci* em uma única reação de PCR) associada à eletroforese capilar, impulsionou a área de genética forense permitindo a produção de perfis genéticos de maneira facilitada e padronizada. Os perfis genéticos, por sua vez, podem ser facilmente expressos como uma sequência alfanumérica facilmente armazenável de forma eletrônica. Isto traz uma outra vantagem associada ao uso dos marcadores do tipo STR na genética forense que é a possibilidade de uso do produto de sua análise (o perfil genético) em bancos de dados. Daí surge o conceito de banco de perfis genéticos, que são sistemas informáticos com capacidade de armazenamento e comparação massiva de perfis genéticos provenientes tanto de amostras questionadas (cuja identidade é desconhecida) quanto amostras de referência (de identidade conhecida). Estes bancos de dados têm se mostrado ferramentas extremamente úteis na investigação policial, seja na elucidação de crimes ou na busca de pessoas desaparecidas.

É importante destacar que os bancos de perfis genéticos vinculados à RIBPG são uma ferramenta em ascensão, pois têm contribuído cada vez mais para a solução de investigações policiais. Segundo o XIX Relatório Semestral da RIBPG, até o dia 28 de novembro de 2023, a RIBPG apresentou ao poder público 7.588 coincidências confirmadas, sendo 5.734 entre vestígios e 1.856 entre vestígio e indivíduo cadastrado criminalmente, e auxiliou 5.607 investigações⁵³. Isso reafirma a importância do fomento tanto ao uso de informações genéticas,

quanto de bancos de dados de perfis genéticos como ferramentas dentro da perícia.

Dessa forma, nesta revisão foram relacionadas diversas aplicações dos STRs na área forense, as quais compartilham o objetivo comum de identificação genética. Dito isso, observa-se o uso desses marcadores para fins humanitários, como a busca por pessoas desaparecidas e a identificação de pessoas ou cadáveres; investigações criminais, em que são confrontados perfis genéticos de amostras questionadas com amostras de referências para investigar se existem coincidências entre tais amostras; e, finalmente, vínculos genéticos, cujas análises podem ser usadas tanto em casos policiais quanto em casos cíveis. Em suma, os STRs demonstraram ter grande potencial como marcadores genéticos para fins forenses.

Referências

1. Mendel GJ. “Versuche über Pflanzen-Hybriden” [Experiments Concerning Plant Hybrids]; 1866. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.61004>
2. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol.* 1975;98(3):503–17. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(75\)80083-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(75)80083-0)
3. Grover A, Sharma PC. Development and use of molecular markers: past and present. *Crit Rev Biotechnol.* 2016;36(2):290–302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>
4. Ge J, Eisenberg A, Budowle B. Developing criteria and data to determine best options for expanding the core CODIS loci. *Investig Genet.* 2012 [citado 6 de fevereiro de 2023];3(1):1. <https://doi.org/10.1186/2041-2223-3-1>
5. Maeda H. Applicability of an immuno-microsphere technique for a forensic identification of ABO blood types: the use of fluorescent microspheres. *Nihon Hoigaku Zasshi.* 1989;43(4):322–7.
6. ESPÍNDULA A. Perícia Criminal e Cível. Uma visão completa para peritos e usuários da perícia. Millennium. 2006;2^a.ed.
7. Langlois MR, Delanghe JR. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clin Chem.* 1996;42(10):1589–600. <https://doi.org/10.1093/clinchem/42.10.1589>
8. Wu YY, Csako G. Rapid and/or high-throughput genotyping for human red blood cell, platelet and leukocyte antigens, and forensic applications. *Clin Chim Acta.* 2006;363(1–2):165–76. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.07.010>

9. Garrido RG. Evolução dos processos de identificação humana: Das características antropométricas ao DNA. *Genet Esc.* 2009;4(2):38–40. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2009.81>
10. Jeffreys AJ, Brookfield JF, Semeonoff R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature.* 1985;317(6040):818–9. <https://doi.org/10.1038/317818a0>
11. Wolff R, Nakamura Y, Oldelberg S, Shiang S, White R. Generation of Variability at VNTR Loci in Human DNA. *DNA Fingerprinting: Approaches and Applications.* 1991;20-38. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7312-3_2
12. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. *An Introduction to Forensic Genetics.* John Wiley & Sons. 2007.
13. Velho JA, Geiser GC, Espindula A. *Ciências Forenses: Uma Introdução Às Principais Áreas da Criminalística Moderna.* Millennium. 2017.
14. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet.* 1989;44(3):388–96.
15. Bustin SA. *The PCR Revolution: Basic Technologies and Applications.* Cambridge University Press. 2010. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511818974>
16. Mullis KB. The Nobel Prize in Chemistry 1993. *Nobel Prize Outreach AB 2023.*2023;
17. Canene-Adams K. *General PCR: Methods in Enzymology.* Academic Press. 2013;p-291-298. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00024-0>
18. Lenstra A. The applications of the polymerase chain reaction in the life sciences. *Cellular and Molecular Biology-Noisy le Grand.* 1995; p.603-314.
19. Burns J, Melmer G, Rommens J M, Riodan J R, BUCHWALD M. Identification of sequences of chromosome 7 that are expressed in sweat gland epithelial cells. *Human genetics.* 1990; p.151-156. <https://doi.org/10.1007/BF00193187>
20. Gray M R. Detection of DNA sequence polymorphisms in human genomic DNA by using denaturing gradient gel blots. *American journal of human genetics.* 1992;p.331.
21. Jorgenson J, Lukacs K. Capillary zone electrophoresis. *Science.* 1983;266-272. <https://doi.org/10.1126/science.6623076>
22. Mayrand PE, Robertson J, Ziegle J, Hoff LB, McBride LJ, Chamberlain JS, Kronick MN. Automated genetic analysis. *Annales de Biologie Clinique.* 1991;p224-230.
23. Jobling MA, Gill P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nature Reviews Genetics.* 2004;p.739-751. <https://doi.org/10.1038/nrg1455>
24. Biesecker B. Genetic counseling and the central tenets of practice. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* 2020. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038968>

- 122 Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics 12(2):105-124 (2024)
25. Hares DR. Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;17:33–4. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.006>
 26. van der Sanden BPGH, Corominas J, de Groot M, Pennings M, Meijer RPP, Verbeek N, et al. Systematic analysis of short tandem repeats in 38,095 exomes provides an additional diagnostic yield. *Genet Med.* 2021;23(8):1569–73. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01174-1>
 27. Press MO, Carlson KD, Queitsch C. The overdue promise of short tandem repeat variation for heritability. *Trends in genetics: TIG.* 2014;30(11). <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.008>
 28. Katsanis SH, Wagner JK. Characterization of the standard and recommended CODIS markers. *J Forensic Sci.* 2013;58 Suppl 1(Suppl 1):S169-72. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02253.x>
 29. Aitken CGG, Taroni F, Bozza S. *Statistics and the evaluation of evidence for forensic scientists* 3e. 3o ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2020. <https://doi.org/10.1002/9781119245438>
 30. Doolittle M. *The Role of Statistics in Forensic Science. Center for Statistics and Applications in Forensic Evidence.* 2019.
 31. Novokmet N, Peričić Salihović M, Škaro V, Projić P, Šarac J, Havaš Auguštin D, et al. Influence of genetic substructuring of statistical forensic parameters on genetic short tandem repeat markers in the populations of Southeastern Europe. *Croat Med J.* 2022;63(3):244–56. <https://doi.org/10.3325/cmj.2022.63.244>
 32. Souto L. Alguns conceitos de genética populacional com relevância em genética forense. *Princípios de genética forense. Imprensa da Universidade de Coimbra;* 2016. p. 124–42. https://doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_5
 33. Huston KA. Statistical analysis of STR data. *Profiles in DNA*, v. 1, n. 3, p. 14-15, 1998.
 34. Góes AC de S, da Silva DA, Fonseca Gil EH, da Silva MTD, Pereira RW, de Carvalho EF. Allele frequencies data and statistic parameters for 16 STR loci-D19S433, D2S1338, CSF1PO, D16S539, D7S820, D21S11, D18S51, D13S317, D5S818, FGA, Penta E, TH01, vWA, D8S1179, TPOX, D3S1358-in the Rio de Janeiro population, Brazil. *Forensic Sci Int.* 2004;140(1):131–2. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2003.11.023>
 35. Rodrigues EMR, Palha T de JBF, dos Santos SEB. Allele frequencies data and statistic parameters for 13 STR loci in a population of the Brazilian Amazon Region. *Forensic Sci Int.* 2007;168(2–3):244–7. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.03.003>

36. del Castillo DM, Perone C, de Queiroz AR, Mourão PHO, de Souza Vasconcellos L, do Nascimento MA, et al. Populational genetic data for 15 STR markers in the Brazilian population of Minas Gerais. *Leg Med (Tokyo)*. 2009;11(1):45–7. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2008.07.005>
37. Wolfgramm E de V, Silva BC, Aguiar VR da C, Malta FSV, de Castro AM, Ferreira AC de S, et al. Genetic analysis of 15 autosomal and 12 Y-STR loci in the Espírito Santo State population, Brazil. *Forensic Sci Int Genet*. 2011;5(3):e41-3. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.05.001>
38. Ribeiro-Rodrigues EM, Palha T de JBF, Bittencourt EA, Ribeiro-Dos-Santos A, Santos S. Extensive survey of 12 X-STRs reveals genetic heterogeneity among Brazilian populations. *Int J Legal Med*. 2011;125(3):445–52. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0561-x>
39. Grattapaglia D, Kalupniek S, Guimarães CS, Ribeiro MA, Diener PS, Soares CN. Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations. *Forensic Sci Int*. 2005;149(1):99–107. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.06.003>
40. Gontijo CC, Mendes FM, Santos CA, Klautau-Guimarães M de N, Lareu MV, Carracedo Á, et al. Ancestry analysis in rural Brazilian populations of African descent. *Forensic Sci Int Genet*. 2018;36:160–6. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.06.018>
41. Aguiar VR da C, Wolfgramm E de V, Malta FSV, Bosque AG, Mafia A de C, Almeida VC de O, et al. Updated Brazilian STR allele frequency data using over 100,000 individuals: an analysis of CSF1PO, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA, Penta D, Penta E, TH01, TPOX and vWA loci. *Forensic Sci Int Genet*. 2012;6(4):504–9. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.07.005>
42. Louzada L, ROHDEN ALM. Banco de Perfis Genéticos Para Fins de Investigação Criminal no Brasil. DataPrivacyBR Research. 2022.
43. CODIS and NDIS Fact Sheet. Federal Bureau of Investigation. 2016.
44. U.S. Department of Justice Office of the Inspector General. Reports - Federal Bureau of Investigation. The Combined DNA Index System. 2001.
45. Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Comitê Gestor da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Manual De Procedimentos Operacionais Da Rede Integrada De Bancos De Perfis Genéticos - Versão 5. Resolução nº 17, de 14 de fevereiro de 2022, do Comitê Gestor da RIBPG. 2022.
46. Brasil. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Decreto nº 7.950, de 12 de março de 2013. DOU - Seção 1 - 13/3/2013. p. 4.

47. Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Curso De Administrador De Bancos De Perfis Genéticos E Uso Do Codis. 2019.
48. Lucy D. Introduction to statistics for forensic scientists. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2005.
49. Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. XVI Relatório Semestral do Comitê Gestor da RIBPG. 2022.
50. Brasil. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei nº 7.210, de 11 de julho de 1984.
51. DNA confirma que rapaz de Goiânia é menino sequestrado em Brasília em 1986. Agência Brasil - Empresa Brasil de Comunicação. 2002.
52. STF autoriza exame de DNA em placenta de Gloria Trevi. Estadão. 2002.
53. RIBPG. XIX RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS. Brasília: Comitê Gestor RIBPG, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/mj/ptbr/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg>