



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Ludmila Alem

**Padronização de metodologia para a identificação de perfil genético de impressões papilares impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar**

Rio de Janeiro

2019

Ludmila Alem

**Padronização de metodologia para a identificação de perfil genético de impressões papilares impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Dayse Aparecida da Silva

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A367 Alem, Ludmila.  
Padronização de metodologia para a identificação de perfil genético de impressões papilares impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar / Ludmila Alem. – 2019.  
88 f.

Orientadora: Dayse Aparecida da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Genética forense - Teses. 2. Genoma humano - Teses. 3. DNA - Teses. 4. Ciências Forenses - Teses. 5. Antropologia Forense - Teses. I. Silva, Dayse Aparecida da. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 575.113.1

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira  
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Ludmila Alem

**Padronização de metodologia para a identificação de perfil genético de impressões papilares impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 17 de maio de 2019.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Dayse Aparecida da Silva  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Helena Faria Ornellas de Souza  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

---

Prof. Dr. Jorge José de Carvalho  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

---

Prof. Dr. Marcos Dornelas Ribeiro  
Instituto de Biologia do Exército

Rio de Janeiro

2019

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu pai, Sander Alem, pelo incentivo e apoio durante toda a minha formação acadêmica, pelos conselhos, compreensão e por acreditar em minha capacidade profissional. À minha mãe, Cirleide Orlandeli, pelo carinho de mãe indescritível. Dedico este trabalho a todos os desconhecidos que poderão eventualmente beneficiar-se dos conhecimentos aqui compartilhados.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de desenvolver e concluir este trabalho.

Aos meus pais pelo apoio inigualável.

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e ao Laboratório de Diagnósticos por DNA da UERJ (LDD), na pessoa de minha orientadora, a professora Dayse Silva, pela acolhida e ensinamentos.

Ao Instituto de Biologia do Exército, especialmente à Seção de Genética que foi durante esta pós-graduação e tem sido há anos, a minha casa científica.

À equipe da Seção de Genética, Olivia, Valentin e Tatiana, por todo o apoio científico e emocional. À querida amiga Thaís Oliveira, pelos rodopios que tornavam os dias mais alegres.

Às amigas de faculdade, que levo para a vida, e às amigas do APTO 103: Laura, Caroline, Maria Isabel, Amanda e Ana Marota e Paula Salino, pelas conversas, terapias e risadas que fizeram os dias cansativos mais leves.

Aos militares do Exército Brasileiro e da Marinha do Brasil que foram voluntários neste projeto tornando a sua realização possível e mais prática.

Ao querido amigo Cap Guilherme Gagliardi pelo apoio técnico fundamental no início desta jornada e à Escola de Instrução Especializada pela acolhida e assistência.

À querida amiga Tatiana Nogueira pela parceria e companheirismo desde sempre, na vida e na Ciência.

Wherever he steps, wherever he touches, whatever he leaves, even unconsciously, will serve as silent evidence against him (...)

*Edmond Locard*

## RESUMO

ALEM, Ludmila. *Padronização de metodologia para a identificação de perfil genético de impressões papilares impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar*. 2019. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019

As impressões papilares são os vestígios mais inveterados presentes na história da humanidade. Registros datam de 7000 anos a.C. no período Neolítico e uma das primeiras tomadas de impressões papilares como forma de identificação – ainda que rudimentar – é datada de aproximadamente 1955 anos a.C. na antiga Babilônia. A necessidade de diferenciar os indivíduos tanto na esfera civil como criminal impulsionou a criação de um sistema de identificação baseado nas impressões digitais. Contudo, tratando-se de impressões digitais em local de crime, é necessário ressaltar que essas são os vestígios mais frágeis encontrados e estão sujeitas a uma extensa gama de contaminantes provenientes do próprio local ou ainda a uma perturbação macroscópica de suas formas, ocasionando a perda de pontos necessários à identificação pelas vias papiloscópicas. Por conseguinte, considerando a casuística da criminalística de modo geral, o aproveitamento desse tipo de vestígio biológico em outra área investigativa se faz oportuno. Este trabalho objetivou avaliar a possibilidade de obtenção de perfil genético a partir de impressões digitais coletadas nos suportes de vidro, metal e papel, e reveladas com alguns dos reveladores datiloscópicos comumente empregados na Perícia Criminal Militar (pó magnético preto, pó vulcano preto e cianoacrilato). As amostras foram submetidas a análises por PCR em tempo real utilizando o kit InnoQuant<sup>®</sup> (InnoGenomics Technologies, LLC) e posteriormente à análise de regiões STR por eletroforese capilar utilizando o kit AmpFISTR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> em analisador genético ABI Prism<sup>®</sup> 3500 (Life Technologies Corporation<sup>©</sup>). Ainda, foram realizadas análises morfológicas empregando as técnicas de Microscopia de Contraste de Fase e coloração nuclear com DAPI e visualização no microscópio de fluorescência objetivando-se a avaliação das impressões papilares ao nível celular. Foi possível obter perfil genético da maioria das amostras testadas sendo que o teste estatístico aplicado (Kruskal-Wallis) indicou existir diferença significativa entre os grupos avaliados ( $p < 0,05$ ). O suporte de papel revelou-se o menos suscetível à recuperação de perfis genéticos. O revelador cianoacrilato apresentou-se como o mais indicado para a revelação de impressões digitais quando da intenção de analisar estes vestígios geneticamente.

Palavras-chave: DNA de toque. Impressões papilares. Genética Forense. Papiloscopia. Identificação Humana. Perícia Criminal Militar. Ciências Forenses.



## ABSTRACT

ALEM, Ludmila. *Standardization of a methodology for genotyping of fingerprints enhanced with chemicals utilized by military forensic experts*. 2019. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Fingerprints are the most inveterate vestiges present in the history of mankind. Records dates from 7000 years BC in the Neolithic period and one of the first fingerprints recorded as a form of identification - albeit rudimentary - dates back approximately 1955 BC to ancient Babylon. The need to differentiate individuals in both the civil and criminal spheres has spurred the creation of a fingerprint-based identification system. However, in terms of fingerprints at a crime scene, it must be noted that these are the most fragile traces found and are subject to a wide range of contaminants from the site itself or to a macroscopic disturbance of their morphology, leading to a loss of minutiae precluding identification through dactyloscopy. Therefore, considering the casuistry of the criminalistic in general, the use of this type of biological vestige in another forensic science field is timely. This work aimed to evaluate the possibility of obtaining a genetic profile from fingerprints collected on glass, metal and paper supports and enhanced with some of the commonly fingerprint enhancers used in the Military Criminal Expertise (black magnetic powder, black volcanic powder and cyanoacrylate). Samples were analyzed by real-time PCR using the InnoQuant<sup>®</sup> kit (InnoGenomics Technologies, LLC) and therefore analysis of STR regions by capillary electrophoresis using the AmpFISTR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> kit on ABI Prism<sup>®</sup> 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation<sup>®</sup>) were conducted. Morphological analyzes were performed using Phase-Contrast Microscopy technique and nuclear staining with DAPI and visualization with fluorescence microscopy aiming a fingerprint analyzes from at the cellular level. It was possible to obtain a genetic profile from most of the tested samples, and the statistical test applied (Kruskal-Wallis) indicated a significant difference between the evaluated groups ( $p < 0.05$ ). The paper surface has proved to be the least susceptible to the recovery of genetic profiles. The cyanoacrylate developer was the most suitable for the development of fingerprints when it was intended to analyze these traces genetically.

Keywords: Touch DNA. Fingerprint. Forensic Genetics. Dactyloscopy. Human Identification. Military Forensic Expertise. Forensic Science.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Sistemas de linhas em um papilograma.....	18
Figura 2 –	Tipos fundamentais de impressões digitais.....	19
Figura 3 –	Representação de fórmula datiloscópica.....	19
Figura 4 –	Células da mucosa bucal marcadas com DAPI. Visualização em microscópio Leica DMi8.....	29
Figura 5 –	Processo de preparação das superfícies para a coleta e revelação de impressões papilares.....	34
Figura 6 –	Coleta de impressão papilar.....	35
Figura 7 –	Exemplo de revelação de impressões papilares em superfície de papel com o revelador datiloscópico pó magnético (Sirchie®).....	37
Figura 8 –	Exemplo de revelação de impressões papilares em superfície não porosa com um bastão de cianoacrilato (Sirchie®).....	37
Figura 9 –	IPL recente em exame de Microscopia de Contraste de Fase.....	53
Figura 10 –	IPL não recente em exame de Microscopia de Contraste Diferencial de Fase.....	54
Figura 11 –	IPL após coloração com DAPI em exame de Microscopia de Fluorescência e Contraste de Fase.....	55

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Concentração de DNA em pg/ $\mu$ L obtida através de PCR por tempo real. Comparação entre participantes vs grupo (suporte + revelador) avaliado.....	45
Gráfico 2 –	Índice de degradação – kit InnoQuant <sup>®</sup> (InnoGenomics Technologies, LLC).....	47
Gráfico 3 –	Número de alelos amplificados considerando os grupos avaliados: suporte + tipo de revelador datiloscópico.....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Representação dos tipos fundamentais para a construção da fórmula datiloscópica.....	19
Tabela 2 –	Descrição das superfícies e reveladores datiloscópicos empregados.....	34
Tabela 3 –	Concentração, média de concentração e desvio padrão referente a quantidade de DNA obtido de impressões digitais coletadas nos suportes de papel, vidro e metal, impregnadas com diferentes reveladores datiloscópicos. N amostral por grupo = 10.....	44
Tabela 4 –	Dados resultantes do teste estatístico D'Agostino & Pearson para avaliação de normalidade dos dados.....	46
Tabela 5 –	Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e post hoc teste Dunn quando aplicado aos resultados da quantificação por PCR em tempo real.....	46
Tabela 6 –	Resultados referentes à análise de STR com o kit AmpFℓSTR® MiniFiler™.....	49
Tabela 7 –	Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e post hoc teste Dunn quando aplicado aos resultados da genotipagem STR.....	51
Tabela 8 –	Marcadores STR do kit AmpFℓSTR® MiniFiler™ e a taxa de sucesso na amplificação dos grupos estudados.....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
Art.	Artigo
CT	Limite de ciclagem
d.C.	Depois de Cristo
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPM	Código Penal Militar
CPPM	Código de Processo Penal Militar
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DIC	Contraste Diferencial de Fase
DFO	Diazafluorenoma
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EsIE	Escola de Instrução Especializada
GTEIHD	Grupo de Trabalho Europeu sobre Identificação de Impressões Papilares
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IAEG	Grupo de Trabalho Especializado em AFIS da Organização Internacional de
IBEx	Instituto de Biologia do Exército
ICCE	Instituto de Criminalística Carlos Éboli
ID	Índice de Degradação
INTERPOL	Organização Internacional de Polícia Criminal
IP	Impressões Papilares
IPC	Controle Interno de PCR
IPL	Impressões Papilares Latentes
LDD	Laboratório de Diagnósticos por DNA
NaCl	Cloreto de Sódio
pb	Pares de Base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotações por Minuto
SINEs	Elementos Nucleares Curtos Intercalados

SDS	Dodecilsulfato de sódio
STR	Repetições Curtas em Tandem
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

## LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
cm <sup>2</sup>	Centímetros quadrados
g	Gramma
°C	Graus centígrados
J	Joule
kDa	Kilodaltons
μL	Microlitro
mL	Mililitro
ng	Nanograma
nm	Nanômetros
pg	Picograma
%	Porcentagem
RPM	Rotações por minuto
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1	<b>HIPÓTESE</b> .....	31
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	32
2.1	<b>Geral</b> .....	32
2.2	<b>Específicos</b> .....	32
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
3.1	<b>Coleta de Impressões Papilares</b> .....	35
3.2	<b>Amostras de referência</b> .....	36
3.3	<b>Revelação das impressões papilares</b> .....	36
3.4	<b>Extração e concentração de DNA</b> .....	38
3.5	<b>Análise quantitativa: quantificação absoluta por PCR em tempo real</b> .....	39
3.6	<b>Índice de Degradação</b> .....	39
3.7	<b>Amplificação de DNA</b> .....	39
3.8	<b>Análise genética das impressões papilares</b> .....	40
3.9	<b>Análise estatística</b> .....	40
3.10	<b>Análise morfológica: Microscopia de contraste diferencial de fase</b> .....	41
3.11	<b>Análise morfológica: Coloração nuclear com DAPI / Microscopia de fluorescência</b> .....	41
4	<b>RESULTADOS</b> .....	43
4.1	<b>Quantificação absoluta por PCR em tempo real</b> .....	43
4.2	<b>Análise de regiões STR</b> .....	48
4.3	<b>Análise morfológica: Microscopia de contraste de fase</b> .....	52
4.4	<b>Análise morfológica: Coloração nuclear com DAPI / Microscopia de fluorescência</b> .....	55
5	<b>ANÁLISE DE DADOS E DISCUSSÃO</b> .....	56
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	63
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	64
	<b>APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)</b> .....	70
	<b>APÊNDICE B – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Pó Volcano</b> .....	73



<b>APÊNDICE C</b> – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Pó Magnético.....	74
<b>APÊNDICE D</b> – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Cianocrilato.....	75
<b>APÊNDICE E</b> – Perfil genético obtido de IP; Suporte metal – Revelador Pó Volcano.....	76
<b>APÊNDICE F</b> – Perfil genético obtido de IP; Suporte metal – Revelador Cianocrilato.....	77
<b>APÊNDICE G</b> – Perfil genético obtido de IP; Suporte papel – Revelador Pó Magnético.....	78
<b>APÊNDICE H</b> – Produção Científica.....	79
<b>ANEXO A</b> – Aprovação do Comitê de Ética (Emenda).....	80
<b>ANEXO B</b> – Justificativa da Emenda.....	83
<b>ANEXO C</b> – Comprovação de submissão do 1º artigo científico.....	85
<b>ANEXO D</b> – Artigo científico publicado na revista <i>Forensic Science International: Genetics Supplement Series</i> .....	87

## INTRODUÇÃO

A Criminalística em sua essência constitui um sistema de métodos técnicos embasados no conhecimento científico que tem por objetivo responder à demanda da sociedade no que diz respeito à Justiça para o esclarecimento das infrações penais através de exames de caráter técnico-científico (perícia) (RABELLO, 1996).

A perícia por si consiste na avaliação objetiva do local no qual ocorreu o delito (área imediata) e áreas correlatas (área mediata) buscando-se compreender a dinâmica e a autoria dos fatos por meio da correta apreciação dos vestígios, seja no próprio local ou através dos exames especializados conduzidos em laboratório. Vestígios, por sua vez, são quaisquer alterações perceptíveis da naturalidade do ambiente: alterações no posicionamento dos objetos, marcas, sinais, desalinhos, entre outros, que guardem em si relação direta com o delito (DEMERCIAN E MALULY, 2001 e VELHO et al., 2013).

Na atividade pericial, diversos tipos de vestígios podem ser encontrados e são classificados de acordo com sua natureza e seu valor probatório. Didaticamente, dividem-se em vestígios biológicos, entomológicos, morfológicos, químicos, físicos e microvestígios. Aqueles que se evidenciam por suas características de relevo e que trazem em sua topografia informações importantes para a elucidação dos fatos, classificam-se como vestígios morfológicos e incluem marcas em superfícies, mordidas, pegadas e impressões papilares (IP) (VELHO et al., 2013).

### **Papiloscopia**

As IP são vestígios produzidos pela interação das pontas dos dedos, das palmas das mãos e plantas dos pés com as superfícies. A análise destes tipos de vestígios, bem como de outros tópicos correlatos são estudados por uma ciência robusta e complexa: a Papiloscopia, cujo objetivo concerne à identificação humana.

A Papiloscopia remonta à pré-história, sendo o registro mais antigo o de tijolos do período neolítico (cerca de 7000 a.C.) contendo impressões digitais (BERRY et al., 2001). Entre o período de 3.200 a.C. a 476 d.C., alguns registros do uso de impressões digitais foram encontrados para a validação de contratos (TOCCHETTO et al., 2012), denotando muito

embora de forma rudimentar, a percepção das impressões digitais como uma característica de individualidade. De meados do século 15 até o fim do século 19, a Papiloscopia se consolida como Ciência, sendo estudada e validada por muitos cientistas na Europa, como Marcello Malpighi – médico e filósofo que com pioneirismo evidenciou na publicação “*De Externo Tactus Organo*” (1668), determinados padrões apresentados pelas estrias elevadas da pele (cristas papilares) que, posteriormente, comporiam o atual sistema de identificação de impressões digitais, o sistema Vucetich. Vale ressaltar que, apenas no fim do século 19, por observação de Henry Faulds, as impressões digitais são citadas como uma ferramenta para a identificação científica de criminosos (FAULDS, 1894).

Durante esta era de robustecimento científico, identificam-se os princípios fundamentais que tornam a Papiloscopia uma ferramenta eficaz para a identificação humana: perenidade (o desenho digital forma-se ainda no ambiente intrauterino a partir da 10,5 semana gestacional até sua total maturação por volta da 24ª semana e mantém-se o mesmo durante toda a vida do indivíduo até o pós morte, ou seja, o desenho é eterno), imutabilidade (os desenhos digitais permanecem os mesmos durante toda a vida do indivíduo, não se alterando, exceto no caso de abrasões profundas que atinjam a camada da derme, estas particularmente irão imprimir uma cicatriz pontual), variabilidade [os desenhos digitais são únicos para cada indivíduo e não se repetem entre o mesmo e/ou outros indivíduos, sendo a probabilidade de repetição de um desenho dactiloscópico de 1:64 bilhões – valores para os primeiros cálculos estatísticos realizados por Herschel em 1891 quando a população mundial estimava-se em 1,56 bilhões de pessoas (ALVES, 2011)] e classificabilidade (as impressões digitais podem ser arquivadas de maneira organizada e rapidamente identificadas de acordo com um sistema de classificação).

A Papiloscopia divide-se em grandes subáreas de acordo com o tipo de impressão papilar estudado: Datiloscopia (estuda os desenhos e as impressões papilares deixadas a partir da interação das pontas dos dedos – impressões digitais), Quiroscopia (concentra-se no estudo dos desenhos e impressões deixados pelas palmas das mãos – impressões palmares) e Podoscopia (estudo dos desenhos e impressões produzidos pelas plantas dos pés – impressões plantares) (TOCCHETTO et al., 2012).

A IP ou papilograma é o elemento classificável e é o alvo das perícias em Datiloscopia. Simplificadamente, uma IP apresentará linhas e sulcos espelhados com relação ao seu respectivo desenho digital, sendo qualquer classificação aplicada ao papilograma e, não ao desenho original observado na epiderme. Classificam-se em visíveis (vestígios ostensivos, naturalmente passíveis de visualização), modelares (impressões deixadas em

materiais flexíveis como a cera) e latentes (impressões papilares latentes – IPL – demandam o emprego de métodos de revelação para tornarem-se visíveis) (CABALLERO, 2012).

No que se diz respeito à Datiloscopia, as impressões digitais são classificadas de acordo com o Sistema de Vucetich: sistema elaborado pelo croata Juan Vucetich Kovacevich em 1891, o qual inspirado nos estudo de Francis Galton em sua publicação “*Personal Identification*” na revista Nature (1888), foi capaz de desenvolver um sistema de classificação atualmente utilizado nas perícias em identificação humana pela datiloscopia.

### Sistema datiloscópico de Vucetich

O sistema datiloscópico de Vucetich tem como base a classificação de cada impressão digital de acordo com seu tipo fundamental. Esse por sua vez, é definido pela presença, posição e número observável do elemento delta. O delta é representativo da confluência de três sistemas (regiões) de linhas (cristas papilares) que compõem o papilograma: sistema marginal, sistema basal e sistema nuclear (Figura 1). Do encontro dos sistemas de linhas, observa-se a formação do delta, de modo que, o número de deltas presentes e o posicionamento desse(s) formará os tipos fundamentais de impressões digitais. De modo simplificado, um delta à direita ou à esquerda do observador será representativo do tipo fundamental presilha interna e presilha externa respectivamente, dois deltas será representativo do tipo verticilo e a ausência de delta configurará o tipo fundamental arco, perfazendo-se o total de quatro tipos fundamentais utilizados para a classificação de uma IP (Figura 2).

Figura 1 – Sistemas de linhas em um papilograma

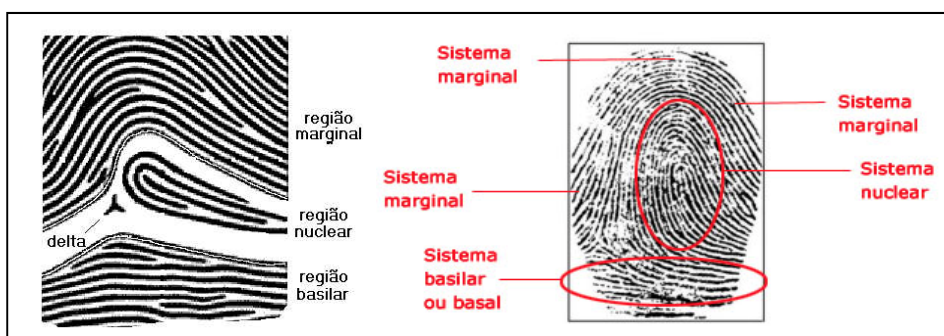
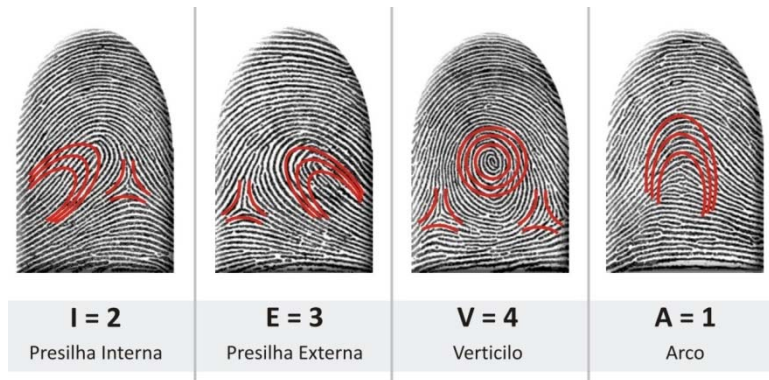


Figura 2 – Tipos fundamentais de impressões digitais



Fonte: Adaptado de Tocchetto et al., 2012

A partir da tomada das impressões digitais dos dez dedos, o sistema de Vucetich permite o arquivamento com base em uma fórmula datiloscópica na qual o tipo fundamental observado nos polegares será representado por letras e os tipos fundamentais dos demais dedos serão representados por números conforme exemplificado na Tabela 1. A fórmula é construída com a representação em forma de fração, sendo as informações referentes à mão direita dispostas no numerador, e à mão esquerda no denominador (Figura 3).

Tabela 1 – Representação dos tipos fundamentais para a construção da fórmula datiloscópica

<b>Tipo Fundamental</b>	<b>Polegares</b>	<b>Demais quirodáctilos</b>
Arco	A	1
Presilha Interna	I	2
Presilha Externa	E	3
Verticilo	V	4

Fonte: A autora, 2019.

Figura 3 – Representação de Fórmula Datiloscópica

$$\text{Fórmula Datiloscópica } \frac{A 2433}{V 3321}$$

Fonte: A autora, 2019.

Entre os anos 2000 a 2004, a INTERPOL (Organização Internacional de Polícia Criminal), em duas reuniões distintas com especialistas do GTEIHD (Grupo de Trabalho Europeu sobre Identificação de Impressões Papilares) e da IAEG (Grupo de Trabalho Especializado em AFIS da Organização Internacional de Polícia Criminal), desenvolveram dois documentos que versam sobre protocolos e recomendações para a análise e identificação de impressões papilares. Sumariamente, as análises devem basear-se no método científico que compreende: fase da análise, fase da comparação, fase de avaliação, fase de conclusão e fase de verificação (método ACEV) (CABALLERO, 2012). Na fase da análise, avalia-se o tipo fundamental da impressão papilar (de acordo com o Sistema de Vucetich), sendo tal análise intitulada de nível I e prossegue-se para a avaliação de minúcias (nível II). Minúcias ou pontos característicos são conformações observadas nas cristas papilares e/ou entre as cristas que se distribuem por toda a topografia do papilograma. Recomenda-se ainda uma avaliação em nível III: análise dos padrões de poros que se distribuem sobre as cristas papilares (relevos dérmicos) e garantem a originalidade da IP observada, ou seja, apenas impressões de fato produzidas pelo contato dos dedos de uma pessoa com determinada superfície apresentarão poros (THE FINGERPRINT SOURCEBOOK, 2012).

Após conduzida a análise na IP questionada (vestígio coletado no local do delito), submete-se ao mesmo procedimento a IP coletada previamente do (s) suspeito (s), chamada IP referência. Se observada congruência em todos os níveis de análise, conclui-se pela positivação (identificação) do vestígio (MANUAL TÉCNICO DE DATILOSCOPIA, 2002).

### Composição das impressões papilares

Morfologicamente, uma impressão papilar é composta por cristas papilares (relevos dérmicos), sulcos (depressões – intervalo entre as cristas papilares) e poros (distribuídos sobre as cristas). Quimicamente, carregam elementos secretados pelas glândulas sudoríparas (do tipo écrinas) e pelas glândulas sebáceas (do tipo holócrinas) (TOCCHETTO et al., 2012).

As glândulas écrinas estão presentes em todo o corpo, estando concentradas na planta dos pés e nas palmas das mãos, e são as maiores contribuintes para as substâncias presentes nas impressões digitais. Componentes inorgânicos, como amônia, sódio, fosfato, flúor, cloreto e alguns componentes orgânicos, como proteínas são excretados através das glândulas écrinas (LEE et al., 2001; HOLDER et al., 2011). Por sua vez, as glândulas sebáceas estão presentes

em partes do corpo que apresentam folículos capilares e são mais abundantes na região facial, não estando presentes nas palmas das mãos, ponta dos dedos e planta dos pés, regiões nas quais a pele é glabra (ausência de pelo). Essas glândulas secretam sebo e material oleoso, compostos principalmente, por lipídios do tipo triglicerídeos, monoésteres de cera, ácidos graxos livres, esqualeno e colesterol (TOCCHETTO et al., 2012).

Contudo, como o comportamento natural humano envolve tocar a face e outras áreas que possuem glândulas sebáceas, os respectivos materiais secretados por elas também são encontrados nas impressões digitais. Além do suor e gordura, substâncias exógenas contaminantes advindas do meio e/ou trazidas pelos indivíduos e endógenas, como a saliva, podem contribuir para a constituição química das impressões digitais, tornando sua composição química complexa (VAN DAM et al., 2015).

No contexto das perícias em datiloscopia, a compreensão da composição das impressões digitais é essencial visto que os métodos empregados para a revelação de impressões papilares latentes são embasados principalmente nestas características, no tipo de superfície na qual se encontra a IPL, nas condições de conservação do local e exposição do ambiente e tempo de deposição da IPL (VELHO et al., 2013).

Não obstante, sabe-se que além da composição química, durante a deposição das impressões papilares são transferidas para as superfícies, células epiteliais que permitem além da avaliação pela datiloscopia, também a análise genética das impressões papilares (LOWE et al., 2002; SANKHLA e KUMAR., 2017; DALY et al., 2010)

### Tipos de superfícies

O sucesso da identificação de IP através da datiloscopia se dá em função de alguns fatores como: tipo de superfície, composição da IP, tempo de deposição e técnicas de revelação e coleta empregadas (RAYMOND et al., 2004; ARCHER ET AL., 2005)

As superfícies podem ser classificadas quanto a sua porosidade em porosas, não porosas e semi-porosas e, quanto a sua textura em lisas e rugosas ou regular e irregulares.

Superfícies porosas tendem a absorver os componentes presentes nas IP sendo recomendado para os procedimentos de revelação a utilização de reveladores que irão reagir quimicamente com os depósitos. Em paralelo, quando se trata de superfícies não porosas, a IP torna-se um vestígio mais frágil e mais susceptível à destruição. Nestes casos, os reveladores

datiloscópicos recomendados interagem fisicamente com os componentes da IP. (THE FINGERPRINT SOURCEBOOK, 2012).

### Técnicas de revelação

Impressões papilares latentes são evidenciadas a partir da aplicação de químicos que irão interagir fisicamente com os resíduos presentes na IP – técnica dos pós, por exemplo, ou reagir quimicamente com estes resíduos – técnica do cianoacrilato ou ninidrina, por exemplo (BOWMAN, 2004).

A técnica dos pós é uma das mais comumente utilizadas na rotina das perícias em papiloscopia, sendo recomendada para superfícies não porosas (vidros, metais, madeiras envernizadas) (BANDEY, 2007) mas também pode ser aplicada a superfícies porosas, como o papel, comportando-se melhor, neste caso, para impressões papilares recentemente depositadas. A interação dos pós se dá principalmente com os resíduos de água em impressões recentes e à medida que a água evapora ao longo do tempo, a interação ocorre com os lipídios e outros resíduos como aminoácidos (THE FINGERPRINT SOURCEBOOK, 2012).

De modo geral, para superfícies porosas recomenda-se a aplicação de reveladores que irão reagir quimicamente com os resíduos, como a ninidrina ou o DFO (diazfluorenoma) (SCHULZ et al., 2004; JELLY et al., 2009). Devido à porosidade do suporte estes resíduos tendem a ser absorvidos, sendo necessário para o sucesso da revelação, químicos que possam ter certa penetração no suporte e assim reagir com estes resíduos que não estarão totalmente expostos na superfície como no caso de suportes não porosos.

A técnica do cianoacrilato, por exemplo, consiste de uma reação de polimerização do etilcianoacrilato com os resíduos presentes na impressão papilar, sendo uma técnica recomendada para superfícies não porosas (MCLAREN et al., 2010; TAHTOUH et al., 2011). À medida que a reação de polimerização ocorre, o cianoacrilato é vaporizado e um depósito esbranquiçado no formato da impressão papilar se forma sobre o suporte no qual encontra-se a IP (VON WURMB et al., 2001). Comumente aplica-se outro revelador colorido (algum pó ou corante, por exemplo) para evidenciar o vestígio revelado levando-se em consideração a cor do suporte no qual foi revelada a IP.



## Papiloscopia e Genética Forense

A Genética Forense é uma das áreas das Ciências Forenses dedicada à identificação humana através dos exames de DNA nos casos de desastres em massa, investigações de pessoas desaparecidas e em casos criminais (VAN OORSCHOT et al., 2010). O advento da reação em cadeia da polimerase (PCR) e o uso de regiões polimórficas altamente variáveis permitiram a obtenção de perfil genético a partir de quantidades mínimas de DNA (menos de 100 picogramas de DNA) (EDWARDS et al., 1991; KIMPTON et al., 1993; GILL, 2001). Segundo VAN OORSCHOT E JONES (1997), no fim da década de 90 foi reportada pela primeira vez a possibilidade de se gerar perfis de DNA a partir do processamento de amostras coletadas de quaisquer objetos que foram tocados, por exemplo facas, armamentos, munições, superfícies de interesse em crimes contra o patrimônio (maçaneta de porta, parapeito de janelas, tampo de mesas) e objetos comuns em cenas de crime como copos, garrafas e roupas, ampliando-se assim as possibilidades investigativas no âmbito da Genética Forense. Essas amostras são intituladas *Touch DNA*, DNA de contato ou DNA de toque.

A interface entre a Genética Forense e a Papiloscopia se dá na premissa de que ao tocar as superfícies há a produção de impressões papilares assim como há a transferência de células epiteliais. O estudo da possibilidade de recuperação de perfil genético a partir de impressões digitais impregnadas com reveladores datiloscópicos se faz oportuno visto que na prática, durante a realização de perícias, o perito criminal é compelido a escolher qual análise conduzir (genética ou datiloscópica) (FIELDHOUSE et al., 2016), sendo que a possibilidade de realizar ambas análises sem prejuízo da prova material representa importante perspectiva para a persecução penal.

Há de se considerar que diversos fatores podem influenciar na quantidade de DNA transferida em um toque como a pressão dos dedos sobre o suporte, o tempo de contato, a distribuição dos resíduos sobre a pele da ponta dos dedos, a frequência de lavagem das mãos e a variação natural da doação de DNA inerente a cada indivíduo, além de outros fatores não científicos (LOWE et al., 2002; ALLESANDRINI et al., 2003; ARCHER et al., 2005).

A densidade de células presentes na pele é em torno de 500.000 células/cm<sup>2</sup> (MARIEB e HOEHN, 2007) as quais passam por processo constante de renovação resultando em descamação e, por consequência, estas células são doadas para o ambiente (BUTLER et al., 2004). Alguns grupos defendem a teoria de que o DNA transferido para as impressões digitais é advindo de células epiteliais com queratinização incompleta enquanto outros, defendem que

o DNA encontrado é oriundo de resíduos de suor (KUMAR et al., 2015). Farber et al. (2010) discutem que o conteúdo das glândulas sebáceas secretado na superfície da pele pode carrear células epiteliais que são transferidas para as pontas dos dedos a partir da interação natural e involuntária feita dessas com a face. Ainda, ações como esfregar os olhos e morder as unhas podem auxiliar na deposição de células contendo DNA nas pontas dos dedos, pois as células do globo ocular são regeneradas a cada 6 a 24 horas e na saliva há certa carga de DNA, assim como nas células da mucosa bucal (WICKENHEISER, 2002).

Alguns estudos reportam que os indivíduos podem ser classificados em bons e maus doadores de DNA (LOWE et al., 2002) enquanto outros grupos como o de Phipps e Petricevic (2007) discutem que o mesmo indivíduo pode ser tanto um bom doador quanto um mau doador a depender do dia avaliado. Bons doadores seriam indivíduos capazes de deixar em um toque uma quantidade de células suficiente para gerar um perfil completo de DNA e, maus doadores seriam indivíduos capazes de gerar perfis genéticos parciais ou nulos, independentemente da recenticidade na lavagem das mãos ou tempo de contato com a superfície (WICKENHEISER, 2002). Um contato breve (10 segundos) foi capaz de gerar 3ng de DNA, segundo reportaram Alessandrini et al. (2003).

Em um estudo com 300 voluntários (150 homens e 150 mulheres), Daly et al. (2010) reportaram não existir diferença significativa entre o gênero dos indivíduos no que diz respeito à transferência de DNA e o tipo de superfície seria um dos fatores decisivos para a recuperação de DNA, de modo que, das superfícies avaliadas no estudo – madeira, tecido e vidro – nesta ordem, são as superfícies mais indicadas para a coleta de DNA. Lowe et al. (2012) também ressaltam não terem detectado diferenças entre gêneros.

Goray et al. (2016) e Ostojic e Wurmbach (2014) reportam que o tipo de superfície, dentre todas as variáveis que interferem na genotipagem de amostras de DNA de contato, apresentam forte impacto nas taxas de sucesso. Superfícies de vidro em detrimento de superfícies de plástico, papel e metal apresentaram os melhores resultados (OSTOJIC E WURMBACH, 2014). A composição da superfície de metal (cobre e níquel) – neste estudo foi utilizada uma moeda de um dólar americano – foi reportada como um possível fator de interferência no sucesso das análises, de modo que, tais elementos exercem potencial efeito de degradação do DNA (HENLE E LINN, 1997). O tamanho da superfície de contato também é um fator relevante para resultados satisfatórios (OSTOJIC E WURMBACH, 2014; GORAY e VAN OORSCHOT, 2015).

Raymond et al. (2009) estudaram a possibilidade de recuperação de DNA de contato ao longo de seis semanas, comparando amostras expostas ao ambiente externo e amostras

mantidas em ambiente interno com pouca movimentação e baixa luminosidade. Os autores concluíram que o tempo entre a deposição da amostra sobre a superfície e a coleta dessa e o estado de conservação do local são fatores cruciais nestas análises: o sucesso na genotipagem do DNA decai rapidamente ao longo das semanas para amostras expostas a ambiente externo e que a obtenção de um perfil satisfatório de DNA nestas situações é provavelmente resultado da recenticidade do contato entre o doador da amostra e a superfície.

Em um estudo elaborado por Goray e van Oorschot (2015) identificou-se que contatos mínimos realizados em um contexto natural de interação social são capazes de transferir quantidades detectáveis de DNA, sendo a última pessoa ou a única pessoa a interagir com as superfícies avaliadas a contribuinte majoritária ou a única contribuinte identificada. Sendo assim, a permanência de material genético transferido para uma superfície se torna foco de discussão no âmbito jurídico no que se refere à interpretação das análises de DNA de contato e mais uma variável envolvida no sucesso destes exames.

Outros fatores como a pressão aplicada durante o contato e o uso da mão dominante / não dominante também foram avaliados. Phipps e Petricevic (2007) reportaram existir diferenças significativas entre a transferência de DNA da mão dominante e da mão não dominante, sendo que a primeira naturalmente transferiria mais DNA. Contudo, o tempo de lavagem que antecede ao contato também seria um fator preponderante nesta análise: intervalos de tempo mais extensos entre a lavagem e a coleta levariam a um acúmulo maior de DNA nas mãos e por conseguinte, mais material genético seria transferido para as superfícies.

Ainda que a compreensão de como o DNA de contato é transferido para as superfícies e dos fatores que influenciam sua deposição sejam importantes para o aperfeiçoamento das perícias e melhor interpretação dos resultados obtidos, não existe uma única teoria aceita pela comunidade científica e os esforços são continuados para o aprimoramento técnico-científico nesta área.

### **Marcadores microssatélites (STR)**

Marcadores microssatélites são sequências com um núcleo de repetição que estão distribuídos ao longo do genoma entre os genes. Essas sequências variam em tamanho e permitem a diferenciação entre os indivíduos. São classificadas pelo tamanho do núcleo de repetição (quantas bases nitrogenadas compõem determinado núcleo de repetição, por

exemplo: a repetição “GATA” é um núcleo composto por 4 bases nitrogenadas) e pelo número de vezes que os núcleos de repetição se repetem (por exemplo: “GATA-GATA-GATA”: são três repetições do núcleo “GATA”) (BUTLER, 2010).

Os núcleos de repetição compostos por 2 a 7 bases nitrogenadas são denominados microssatélites ou STR (*short tandem repeats* – repetições curtas em tandem). As sequências microssatélites também são classificadas de acordo com o padrão de repetição em:

- a) Repetições simples: unidades de repetição idênticas no que se refere à sequência e tamanho do núcleo de repetição;
- b) Repetições compostas: duas ou mais repetições simples;
- c) Repetições complexas: vários blocos de repetição com núcleos de repetição de estrutura e tamanhos variáveis;

Os marcadores STR têm notável aplicabilidade para a identificação humana por serem facilmente amplificados nas reações em cadeia da polimerase (PCR), por serem regiões altamente variáveis no que diz respeito ao número de repetições entre os indivíduos – permitindo com precisão a diferenciação entre os indivíduos – e ainda, apresentam melhor aplicabilidade para amostras forenses – as quais comumente apresentam determinado nível de degradação – dado seu tamanho reduzido (100 a 400 pares de bases) (BUTLER, 2010).

### **Perícia Criminal no âmbito do Exército Brasileiro**

O Código de Processo Penal Militar (CPPM) no Decreto Lei nº 1.002 de 21 de outubro de 1969, em seu artigo 8º esclarece sobre a competência da Polícia Judiciária Militar, que inclui a apuração dos crimes militares, assim como daqueles que aconteçam em área sob a jurisdição militar. Para tanto, segundo o artigo 328 do CPPM, sempre que uma infração deixar vestígios, o exame de corpo de delito (perícia) é obrigatório. Para a realização das perícias são nomeados os peritos criminais militares (Art. 47 e Art. 48, CPPM). Esses profissionais são formados na Escola de Instrução Especializada (EsIE) em cooperação com instituições que prestam serviços de perícia, seja no âmbito militar ou civil, como por exemplo, o Instituto de Biologia do Exército (IBEx) e o Instituto de Criminalística Carlos

Éboli (ICCE), respectivamente, sendo o primeiro responsável pela condução dos exames de DNA no âmbito das Forças Armadas.

O Instituto de Biologia do Exército é uma unidade militar de saúde localizada na cidade do Rio de Janeiro que atende os militares e seus dependentes através do Sistema de Saúde do Exército nos serviços de análises clínicas, virologia, banco de sangue, análise de águas, vacinas, veterinária e vigilância em saúde (Divisões Técnicas). Ainda, o IBEx possui uma Divisão de Ensino e Pesquisa que compreende os laboratórios de Biologia Molecular, Genética Forense e Centro de Estudos em Biodefesa.

Os estudos na área integrada de Papiloscopia e Genética Forense foram iniciados em 2013, no Laboratório de Genética Forense do IBEx motivados por uma demanda de determinados casos que a própria perícia criminal militar apresentou à época ao laboratório. Além disso, no âmbito castrense, os crimes contra o patrimônio (Art. 240 a Art. 267, CPM) figuram entre uma das ocorrências mais comuns as quais atendem os peritos criminais militares. Da avaliação técnico-científica desses crimes (perícia), os vestígios de impressões papilares são um dos mais comumente encontrados e podem demandar uma análise técnica para além da Papiloscopia.

A partir de meados de 2015, com o primeiro trabalho na temática concluído por esse laboratório (OLIVEIRA et al., 2015) que versou sobre a recuperação de perfil genético a partir de impressões digitais latentes (sem o uso de reveladores datiloscópicos), foi possível de modo satisfatório corresponder a alguns questionamentos da Justiça Militar no desdobramento de casos criminais. Conseqüentemente, fez-se relevante prosseguir em um trabalho que atendesse com exatidão a rotina prática das perícias: o desenvolvimento e padronização de metodologias que permitissem a recuperação de perfil genético a partir de impressões digitais reveladas visto que a busca por vestígios de impressões papilares com a utilização de reveladores químicos é a primeira opção no desenvolvimento das perícias nesses casos.

Além dos crimes contra o patrimônio, quando da comprovação da materialidade de crimes contra a pessoa (Art. 330, CPPM), perícias em Papiloscopia – impressões papilares – e Genética Forense também podem ser solicitadas. Isto posto, torna-se essencial o estudo destas áreas em conjunto para a aplicação à demanda das perícias criminais militares e aprimoramento da qualidade dos serviços periciais no âmbito criminal, realizados por instituições como o Exército Brasileiro.

## **Microscopia de contraste diferencial de fase**

A microscopia óptica baseia-se na incidência de raios luminosos para a formação de imagens, de modo que, os materiais possuem diferentes densidades e, por consequência, diferentes índices de refração. Quando os raios luminosos incidem sobre a amostra, devido a diferença de densidade, fazem-no com diferentes velocidades e assim, notam-se diferenças na formação da imagem. A Microscopia de Contraste Diferencial de Fase é um dos tipos de microscopia óptica que converte os diferentes índices de refração dos materiais em intensidades luminosas diferentes que podem ser visualizadas no microscópio. Logo, esta técnica permite a análise de materiais sem a necessidade de qualquer tratamento e/ou coloração. Uma configuração alternativa que pode ser associada a microscopia de contraste diferencial de fase é a técnica DIC (*Differential Interference Contrast* – Contraste Diferencial de Fase), que utiliza um compensador ou polarizador (filtro), gerando uma imagem tridimensional (BALDANI et al., 1998; FIGUEIREDO et al., 2014). A técnica da Microscopia de Contraste Diferencial de Fase faz-se oportuna para a avaliação morfológica das impressões papilares e dos materiais transferidos a partir do contato, pois não requer qualquer processamento amostral permitindo uma avaliação fidedigna.

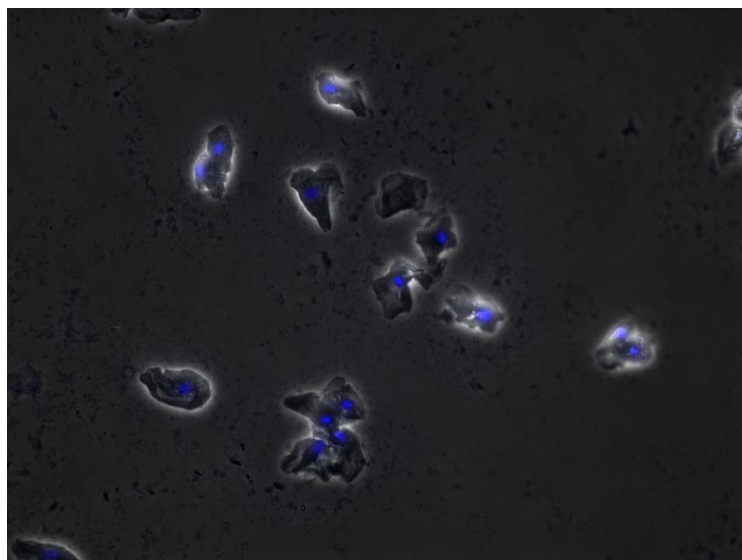
## **Coloração nuclear com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol)**

O DAPI é um marcador fluorescente sintético. Estruturalmente, a molécula do DAPI possui duas cargas positivas (uma em cada extremidade), o que permite sua ligação com a molécula de DNA que é carregada negativamente (DOS REIS, 2017). Assim sendo, o DAPI torna-se um excelente intercalante de DNA, permitindo a visualização do material genético presente nas células, o modo como é distribuído e localização específica. Quando o DAPI se liga ao DNA, sua faixa de emissão de luz visível é na cor azul (461nm) que pode ser visualizada após o tratamento em um microscópio de fluorescência (Figura 4).

No que diz respeito à Papiloscopia, é sabido que no momento da produção de uma impressão papilar são transferidos para as superfícies diversos materiais dentre eles, células epiteliais. Objetivando-se identificar do ponto de vista celular com maior precisão a existência e distribuição de material genético na estrutura morfológica das impressões papilares, a

técnica da coloração nuclear com DAPI associada à visualização em microscópio de fluorescência torna-se propícia.

Figura 4 – Células da mucosa bucal marcadas com DAPI. Visualização em microscópio Leica DMi8



Fonte: A autora, 2019. Colaboração do Laboratório de Biomedicina do Cérebro, Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer (IECPN).

### **Índice de Degradação (ID)**

Nas análises genéticas de amostras forenses o conhecimento prévio da qualidade e quantidade de DNA disponível na amostra é essencial para o sucesso da genotipagem. Através das reações em tempo real da cadeia da polimerase (PCR em tempo real) é possível obter-se estas informações. Contudo, o kit de quantificação por tempo real (InnoQuant<sup>®</sup>) utilizado neste trabalho permitiu, além da quantificação absoluta, a determinação de um índice de degradação (ID), uma medida expressiva de qualidade da amostra.

Para realizar esta análise são utilizados na reação iniciadores que têm como alvo para a amplificação determinadas regiões repetitivas de DNA, especificamente as sequências *Alu* – uma classe de retrotransposons – que são elementos nucleares curtos intercalados (SINEs) ao longo do DNA (MIGHELL et al., 1997; SCHUMANN et al., 2010). Em tamanho, variam entre 100 a 600 pares de bases e não são codificantes. Estas sequências estão amplamente

distribuídas por todo o genoma humano (acima de mil inserções), sendo essa a vantagem para tê-las como alvo para a determinação da quantidade de DNA presente em uma amostra forense (PINEDA et al., 2014).

Para o cálculo do índice de degradação são utilizadas as quantidades detectadas de DNA de duas sequências alvo nos SINEs: uma sequência alvo curta (80 bp) e uma sequência alvo longa (207 bp). A razão entre estas quantidades, nessa ordem, gera o índice de degradação de cada amostra. O índice igual a um representa uma amostra não degradada, de alta qualidade. Índices maiores que um indicam degradação, de modo que, quanto maior o índice gerado, mais degradada pode ser considerada a amostra em questão.



## **1 HIPÓTESE**

É possível recuperar DNA de impressões papilares latentes submetidas a revelação com os químicos escolhidos e gerar perfil genético que identifique o autor daquele vestígio.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- a) Analisar a viabilidade da obtenção de perfis genéticos a partir de impressões papilares reveladas com químicos utilizados na rotina das perícias papiloscópicas.

### 2.2 Objetivos Específicos

- a) Validar metodologia de coleta de impressões papilares utilizando suabe de algodão embebido em solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,9% em IPL submetidas a revelação com químicos amplamente utilizados nas perícias criminais: cianoacrilato, carbonato de chumbo II (pó vulcano preto) e óxido de ferro II (pó magnético preto);
- b) Padronizar técnicas de extração de DNA de amostras de impressões papilares latentes depositadas nas superfícies de papel, vidro e metal, coletadas após revelação com os reagentes químicos cianoacrilato, pó vulcano preto e pó magnético preto;
- c) Validar a pertinência do uso destas IPL no âmbito da investigação criminal através da análise do DNA, quando os vestígios não responderem aos critérios mínimos para a identificação pela Papiloscopia, definindo se há interferência química dos reagentes empregados, não impedindo a obtenção de perfis genéticos;
- d) No que tange a análise dos vestígios, determinar quais reveladores são mais viáveis para serem utilizados quando houver intenção de analisar as impressões digitais pela tecnologia do DNA;
- e) Aprimorar a qualidade dos serviços periciais no âmbito criminal, realizados por instituições como o Exército Brasileiro, ao capacitar os peritos criminais militares, visando o desenvolvimento das Ciências Forenses em prol da Defesa Nacional.

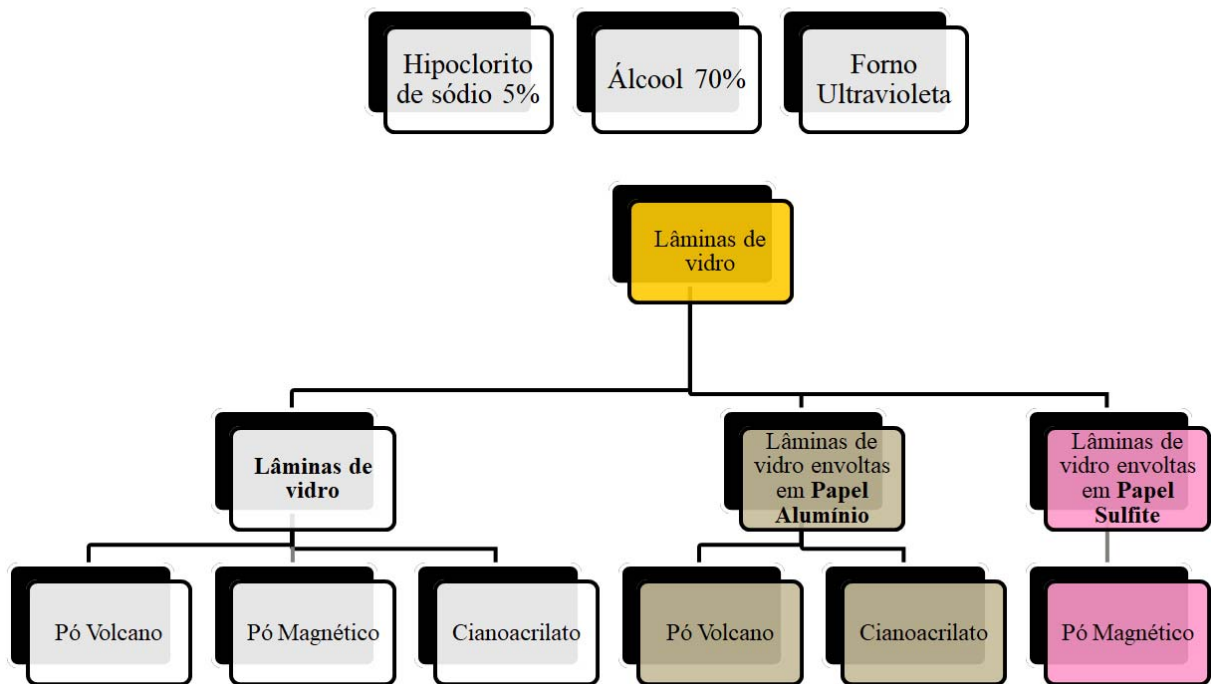
### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto – CEP HUPE/UERJ – sob o número de parecer 1.790.600 (CAAE 48026615.6.0000.5259 – ANEXOS A e B), tendo sido desenvolvido no Laboratório de Diagnósticos por DNA (LDD), pertencente ao Instituto de Biologia Roberto de Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (IBRAG – UERJ) e na Seção de Genética do Instituto de Biologia do Exército (IBEx), sendo resultante de parceria firmada entre as instituições supracitadas através do Programa Pró-Defesa 3 (CAPES/Ministério da Defesa), o qual tem por finalidade o desenvolvimento científico de áreas relativas à Defesa Nacional, dentre essas, a área da identificação humana pela tecnologia do DNA.

Para a condução das análises pretendidas foram utilizadas 60 lâminas transparentes para microscopia (Cral<sup>®</sup>). As lâminas foram limpas e esterilizadas com hipoclorito de sódio 5% seguido de álcool 70% e 30 minutos em forno Ultravioleta Crosslinker<sup>®</sup> UVP na potência 120 J antes do início da coleta de impressões papilares. Para mimetizar uma superfície de metal, 20 unidades dessas lâminas foram embaladas em papel alumínio e novamente aplicou-se o processo de limpeza e esterilização descrito acima. Para a superfície de papel, 10 unidades dessas lâminas de vidro foram embaladas em papel sulfite 75g (Chamex<sup>®</sup> Office). Esta superfície foi submetida apenas a esterilização em forno UV (Figura 5).

As lâminas foram divididas em grupos de acordo com o revelador datiloscópico aplicado e o tipo de superfície (Tabela 2).

Figura 5 – Processo de preparação das superfícies para a coleta e revelação de impressões papilares



Fonte: A autora, 2019.

Tabela 2 – Descrição das superfícies e reveladores datiloscópicos empregados

Superfície	Tipo de Superfície	Revelador datiloscópico	Número de amostras
<b>Vidro</b>	Não - Porosa	Pó Magnético	10
<b>Vidro</b>	Não - Porosa	Pó Volcano	10
<b>Vidro</b>	Não - Porosa	Cianoacrilato	10
<b>Metal</b>	Não - Porosa	Pó Volcano	10
<b>Metal</b>	Não - Porosa	Cianoacrilato	10
<b>Papel</b>	Porosa	Pó magnético	10
			60

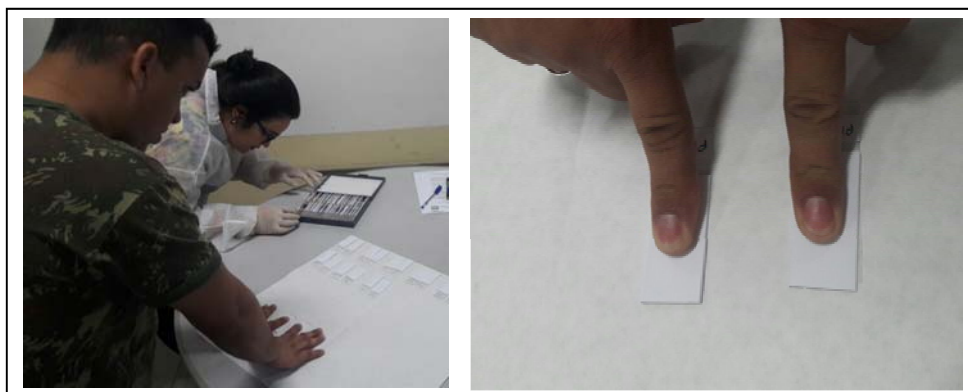
Fonte: A autora, 2019.

### 3.1. Coleta de Impressões Papilares

Para este estudo, dez voluntários participaram realizando a doação de impressões papilares dos segundos quirodáctilos direito e esquerdo (região da falange distal) por seis vezes, perfazendo-se um total de 60 amostras para a análise genética. Para a participação nesta pesquisa os voluntários foram instruídos quanto aos objetivos e procedimentos e formalizaram o concorde na assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

Os voluntários foram instruídos, anteriormente à coleta, a friccionar os quirodáctilos pela face a fim de incrementar o aporte de células a serem transferidas para as lâminas durante a deposição das impressões papilares. Esse procedimento objetiva mimetizar uma situação próxima à realidade na qual durante a execução do ato delituoso o autor estaria em estado de estresse, sob a influência da adrenalina, com maior produção de suor e possivelmente maior interação com outras partes do corpo e face. A coleta de cada impressão papilar foi realizada durante 30 segundos através de um toque leve sobre as lâminas e sem rolamento dos dedos como exemplificado na figura a seguir (Figura 6).

Figura 6 – Coleta de impressão papilar em suporte de papel



Fonte: A autora, 2019.

### 3.2 Amostras de referência

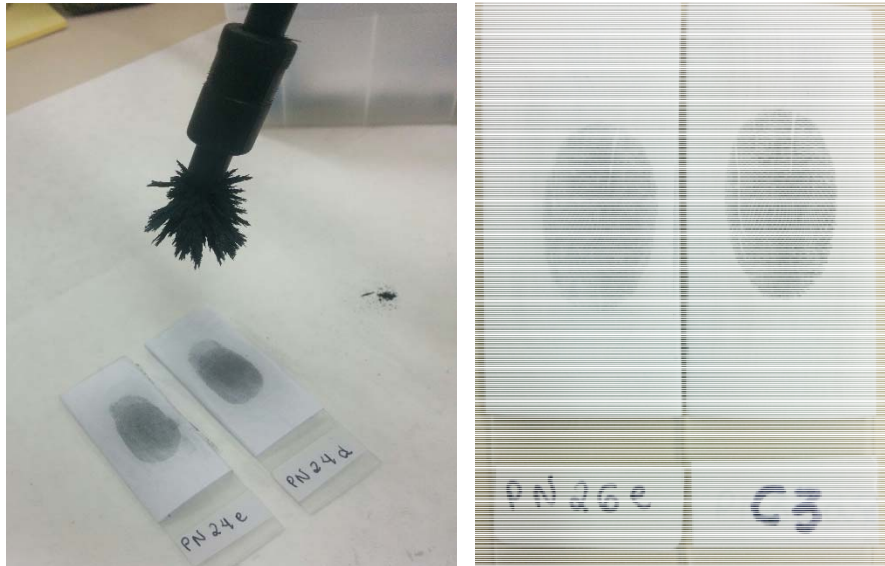
Foram coletadas amostras de referência (suabe da mucosa bucal) de cada voluntário para a obtenção dos perfis genéticos de referência objetivando a comparação destes com os perfis genéticos obtidos a partir das impressões papilares.

### 3.3 Revelação das impressões papilares

Após a finalização das coletas, as impressões obtidas foram separadas em grupos conforme os reveladores datiloscópicos a serem aplicados. A revelação das impressões papilares foi conduzida conforme procedimento padrão para cada tipo de revelador e estes foram aplicados conforme o tipo de superfície: as impressões papilares presentes nas superfícies de papel foram reveladas somente com o pó magnético preto enquanto que, para as superfícies de vidro foram aplicados, individualmente a cada grupo de lâminas, os seguintes reveladores: pó magnético preto ou pó vulcano preto ou cianoacrilato. E, por fim, os reveladores pó vulcano e cianoacrilato também foram aplicados individualmente às impressões papilares depositadas nas superfícies de metal.

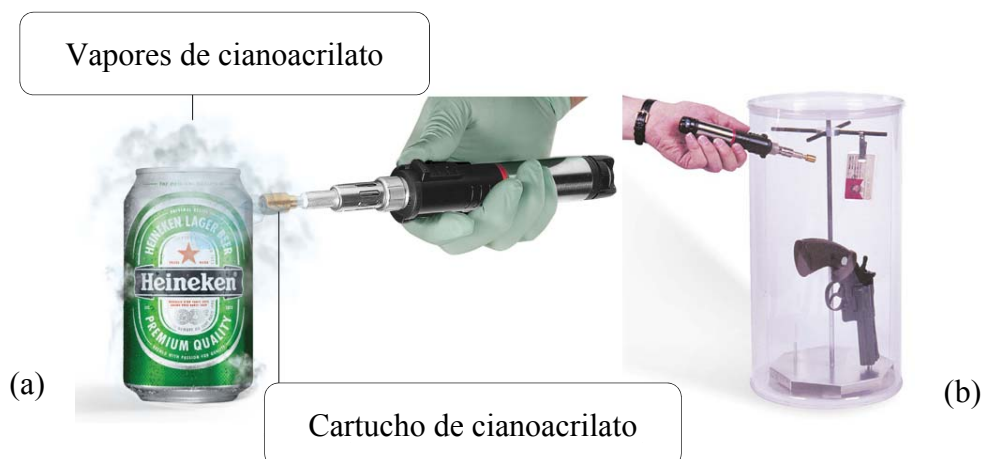
A aplicação do pó vulcano preto foi realizada com o auxílio de um pincel de fibra de vidro, a partir do qual quantidade suficiente do revelador foi transferida para a impressão papilar latente, tornando-a visível. Já a revelação das impressões papilares com o pó magnético preto foi realizada com o auxílio de um bastão magnético, de modo que, a aproximação entre o bastão e pó revelador culminou na formação de estruturas semelhantes às cerdas de um pincel, o que permitiu a varredura das superfícies estudadas para a busca das impressões ali depositadas (Figura 7). O processo de revelação utilizando o químico cianoacrilato foi realizado em uma cabine própria para a fumação (período no qual as impressões papilares ficam expostas aos vapores do químico) com o auxílio de um bastão de cianoacrilato: a extremidade anterior do bastão comporta um cartucho metálico preenchido com o cianoacrilato. Tal estrutura é aquecida, e rapidamente, os vapores de cianoacrilato são liberados dentro da cabine, e uma reação de polimerização ocorre entre o químico e os resíduos que compõem a impressão papilar, formando uma estrutura esbranquiçada no formato das IPL (Figura 8). O tempo de fumação foi estabelecido em torno de 20 minutos.

Figura 7 – Exemplo de revelação de impressões papilares em superfície de papel com o revelador datiloscópico pó magnético (Sirchie®)



Fonte: A autora, 2019.

Figura 8 – Exemplo de revelação de impressões papilares em superfície não porosa com um bastão de cianoacrilato (Sirchie®)



Nota: Em (a), processo de fumação iniciado utilizando-se o bastão de cianoacrilato. Em (b), exemplo de cabine própria para a condução desse processo de revelação.

Fonte: Adaptado de Arrowhead Forensics® Acesso em: 20 de abril de 2019.

### 3.4 Extração e concentração de DNA

As impressões papilares reveladas foram coletadas das lâminas empregando-se o método do duplo suabe (PANG e CHEUNG, 2007) que consistiu em realizar uma coleta inicial com suabe de algodão (Absorve<sup>®</sup>) umedecido com cloreto de sódio (NaCl) 0,9% como solução de coleta (OLIVEIRA et al., 2015), seguida de uma segunda coleta com suabe seco a fim de coletar integralmente todas as possíveis células aderidas à lâmina. Utilizando-se uma tesoura esterilizada de ponta fina, os algodões dos suabes foram desprendidos da haste plástica e transferidos individualmente para tubos plásticos de 1,5 mL de capacidade. O processo de extração de cada suabe foi realizado separadamente (ADAMOWICZ et al., 2014).

Utilizou-se para a de extração de DNA das amostras de impressões papilares, o método da Lise Enzimática (KISHORE, 2006), que consiste na adição de 198,2  $\mu$ L de tampão de extração dodecilsulfato de sódio (SDS) 0,05% + 7,2  $\mu$ L de proteinase K 20 mg/mL (Qiagen). As amostras foram submetidas a incubação a seco por 30 minutos, a 56 °C com agitação de 1400 rotações por minuto (RPM) em agitador térmico (Thermomixer R, Eppendorf), seguida de incubação a seco por 10 minutos, a 99 °C, sem agitação e resfriamento por 5 minutos a 4 °C.

O volume resultante da extração de cada suabe fez-se em torno de 250 a 300  $\mu$ L. O conteúdo da extração de DNA dos suabes úmido e seco referentes a cada impressão papilar foram transferidos para um único tubo plástico de 1,5 mL de capacidade e o volume final foi reduzido (SEWELL et al., 2008) a 19  $\mu$ L utilizando-se filtro com membrana de celulose regenerada para concentração de DNA (Amicon<sup>®</sup> Ultra 0.5 mL 30 kDa Merck Millipore). Foi adicionado ao processo 2  $\mu$ L de Poly RNA 1 ng/ $\mu$ L (KISHORE, 2006) objetivando aumentar a eficiência da recuperação de DNA.

O intervalo entre a coleta e a revelação foi em média de 7 dias. Depois de reveladas, o prazo médio para completar os processos de coleta, extração e concentração das amostras, foi de 30 dias. Após concentradas, as amostras permaneceram congeladas em freezer -20 °C e foram quantificadas e genotipadas até 6 meses depois, com exceção às amostras de IP coletadas em papel, as quais foram genotipadas após 1 ano. Tais considerações serão elaboradas posteriormente na seção 5 deste trabalho.



### 3.5 Análise quantitativa: quantificação absoluta por PCR em tempo real

A quantidade absoluta de DNA obtida a partir de cada impressão papilar foi mensurada através da reação de amplificação do DNA em tempo real, utilizando-se o kit comercial InnoQuant<sup>®</sup> (InnoGenomics Technologies, LLC), com sensibilidade para detecção de até 0,005 ng/ $\mu$ L de DNA. Esta análise foi conduzida no termociclador para PCR em tempo real Rotor-Gene Q (Qiagen).

### 3.6 Índice de Degradação

Os índices de degradação foram calculados com base nos dados da quantificação absoluta por PCR em tempo real, a partir da razão entre a quantidade de DNA obtida da amplificação de fragmentos curtos (80 pb) e fragmentos longos (207 pb) de DNA, alvos específicos encontrados no genoma. Os índices calculados estão representados na seção de resultados (Gráfico 2).

### 3.7 Amplificação de DNA

A amplificação do DNA extraído das impressões papilares foi realizada utilizando-se o kit AmpFISTR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> (Applied Biosystems<sup>®</sup>) de acordo com o seguinte protocolo: 5  $\mu$ L de tampão de reação, 2,5  $\mu$ L da mistura de iniciadores e 5  $\mu$ L de DNA extraído. As amostras foram submetidas à seguinte ciclagem: incubação inicial por 11 minutos a 95° C, seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94° C durante 20 segundos e anelamento dos iniciadores a 59 °C por dois minutos. Em seguida, a extensão das novas fitas de DNA foi realizada durante um minuto a 72 °C e a extensão final por 45 minutos a 60 °C. O procedimento foi realizado no termociclador Veriti 96 poços da Applied Biosystems<sup>®</sup>.

As amostras de saliva (amostras de referência) coletadas em suabe foram submetidas à amplificação de DNA utilizando-se o kit AmpFISTR<sup>®</sup> Identifiler<sup>®</sup> (Applied Biosystems<sup>®</sup>) de acordo com o seguinte protocolo: 10,5 $\mu$ L de tampão de reação, 0,5  $\mu$ L de DNA Polimerase

AmpliTaq Gold<sup>®</sup>, 5,5 µL de mistura de iniciadores e 2 µL de DNA extraído. As amostras foram submetidas à seguinte ciclagem: incubação inicial por 11 minutos a 95° C, seguida por 28 ciclos de desnaturação a 94° C durante um minuto e anelamento dos iniciadores a 59 °C por um minuto. Em seguida, a extensão das novas fitas de DNA foi realizada durante um minuto a 72 °C e a extensão final por 60 minutos a 60 °C. O procedimento também foi realizado no termociclador Veriti 96 poços da Applied Biosystems<sup>®</sup>.

O kit de genotipagem utilizado neste estudo contemplou à amplificação de nove locais no genoma humano pré-estabelecidos: D13S317, D7S820, Amelogenina, D2S1338, D21S11, D16S539, D18S51, CSF1PO e FGA. O número total possível de alelos amplificáveis para esse kit em cada amostra é de 18 alelos.

### 3.8 Análise genética das impressões papilares

Os produtos da amplificação do DNA foram processados através de eletroforese capilar no analisador genético ABI Prism<sup>®</sup> 3500 (Applied Biosystems<sup>®</sup>) seguindo-se o protocolo de injeção de amostra: 1 µL de produto de PCR, 0,2 µL de Gene-Scan<sup>™</sup> 500 Liz<sup>®</sup> (padrão de tamanho) e 8,8 µL de formamida, utilizando-se capilar de 36 cm e polímero POP-4 (WESTEN et al., 2009; DE BRUIN et al., 2012). A análise dos perfis genéticos obtidos foi realizada no *software* GeneMapper<sup>®</sup> ID-X versão 1.2 (Applied Biosystems<sup>®</sup>).

### 3.9 Análise estatística

Os dados de quantificação e genotipagem de DNA gerados neste estudo foram analisados estatisticamente no programa Graphpad Prism 5.0 (GraphPad Software<sup>®</sup>). O teste de normalidade D'Agostino & Pearson foi realizado para os dados de quantificação por PCR em tempo real, objetivando-se identificar o quanto esses dados se distanciam de uma distribuição gaussiana (“distribuição normal”) ou se foram obtidos de uma população que segue essa distribuição (hipótese nula). Se  $p > 0,05$  para este teste, então a hipótese nula é verdadeira e os dados seguem uma distribuição gaussiana ou bem próxima a essa. Se  $p < 0,05$ , então a hipótese nula é rejeitada e conclui-se que os dados não são normais.

Em seguida, a esses mesmos dados foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis o qual realiza comparações entre três ou mais grupos não pareados com o objetivo de avaliar se há alguma diferença entre as distribuições apresentadas. Se  $p > 0,05$  para este teste, conclui-se que não há diferença entre os grupos analisados. Se  $p < 0,05$  então, rejeita-se a hipótese de que a diferença encontrada seja aleatória e conclui-se que há uma real diferença entre os grupos. Além disso, também foi aplicado o teste post hoc de Dunn com o intuito de se identificar entre quais grupos estaria a diferença, se esta existisse. Ambos os testes – Kruskal-Wallis e teste de Dunn – foram aplicados também aos dados de genotipagem.

### **3.10 Análise morfológica: Microscopia de contraste de fase**

Para esta análise, três voluntários participaram totalizando ao fim do experimento, seis impressões digitais coletadas em seis lâminas de vidro, sendo duas lâminas de cada voluntário.

As impressões foram coletadas conforme protocolo estabelecido para este trabalho: fricção dos dedos indicadores sobre a face e cabelos, seguida de leve toque sobre a lâmina sem rolamento dos dedos durante 30 segundos. Um grupo de lâminas (três lâminas) foi deixado exposto ao ambiente durante sete dias de modo a mimetizar as condições naturais de uma impressão papilar em um possível local de crime. O outro grupo foi utilizado como um grupo controle e analisado um dia após sua coleta (impressões frescas).

As impressões avaliadas neste caso não foram impregnadas com nenhum dos reveladores datiloscópicos e foram produzidas apenas para este fim. Para a visualização, foi utilizado o microscópico Olympus BX53 equipado com câmera fotográfica DP-72. As imagens geradas foram compiladas na seção de resultados (Figuras 6 e 7).

### **3.11 Análise morfológica: Coloração nuclear com DAPI / Microscopia de fluorescência**

Com o objetivo de identificar com maior precisão a existência de material genético do ponto de vista celular, três lâminas de vidro transparente para microscopia (Cral<sup>®</sup>) foram

preparadas para a aplicação da técnica de coloração nuclear com o intercalante de DNA DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol).

As impressões digitais foram depositadas em cada lâmina de acordo com o protocolo padrão de coleta estabelecido para este trabalho (fricção do dedo indicador pela face e deposição na superfície da lâmina de vidro por 30 segundos). As lâminas foram fixadas com metanol gelado por 5 minutos, seguido por sucessivas lavagens com o tampão PBS 1x (fosfato -salino) (3x vezes durante 5 minutos). Em seguida, foi aplicado o intercalante de DNA DAPI 2mg/L em quantidade suficiente para recobrir toda a extensão da impressão digital coletada. O tempo de duração da reação foi de 15 minutos, seguido logo após por novas lavagens com tampão PBS 1x (3x vezes durante 5 minutos).

Uma lâmina controle para este experimento foi produzida com células epiteliais da mucosa bucal, coletadas com suabe estéril (Absorve<sup>®</sup>) e transferidas para lâmina de vidro transparente para microscopia. A visualização das lâminas foi realizada em microscópio de fluorescência DMi8 (Leica Microsystems<sup>®</sup>). As imagens geradas foram compiladas (Figura 11).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Quantificação absoluta por PCR em tempo real

Os resultados obtidos a partir da quantificação por PCR em tempo real demonstraram uma grande variação na quantidade de DNA obtido em cada amostra, variando na faixa de 0,1 pg/ $\mu$ L a 477 pg/ $\mu$ L, quantidades mínima e máxima detectadas respectivamente. No que diz respeito a maior recuperação de quantidade de DNA obtida considerando-se todos os grupos estudados, impressões papilares coletadas em suporte de vidro e reveladas com pó magnético preto resultaram na maior média observada (148,6 pg/ $\mu$ L), seguida pela segunda maior média (122,8 pg/ $\mu$ L) correspondente ao suporte de papel e impregnação também com pó magnético preto. Ainda, foi observado acentuado desvio padrão para estes grupos (155,1 pg/ $\mu$ L e 151,2 pg/ $\mu$ L respectivamente). As médias 33,25 pg/ $\mu$ L e 18,62 pg/ $\mu$ L foram obtidas para o suporte de vidro e metal, respectivamente, impregnados com pó vulcano preto, com os desvios padrões de 58,43 pg/ $\mu$ L e 28,23 pg/ $\mu$ L, respectivamente (Tabela 3). As quantidades de DNA obtidas apresentaram flutuações entre o mesmo indivíduo e entre os indivíduos nos grupos testados (Tabela 3 e Gráfico 1).

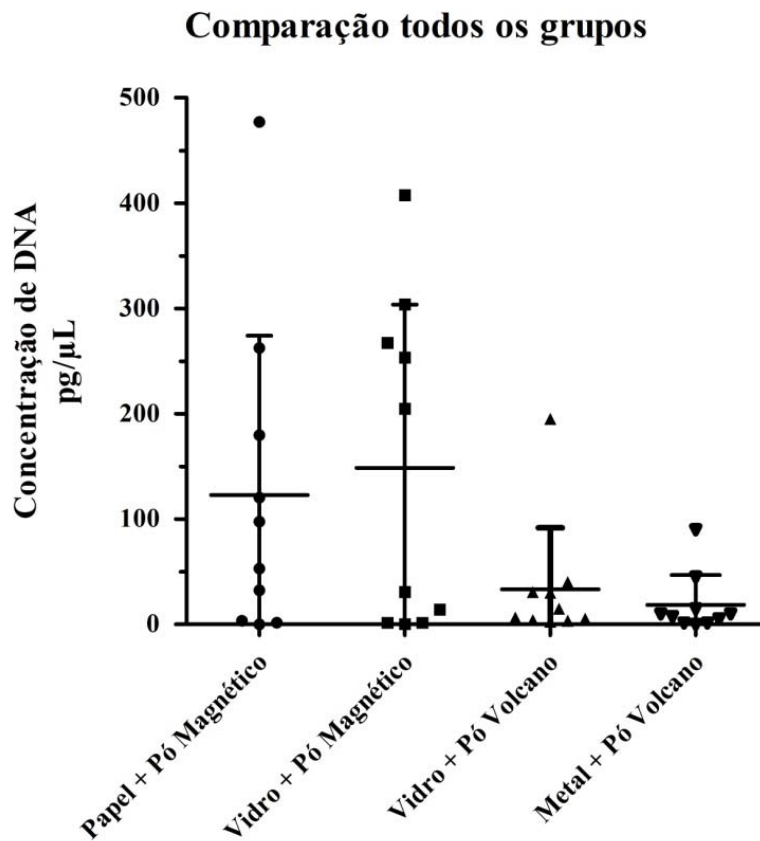
A partir dos resultados da quantificação foram calculados os índices de degradação das amostras de impressões papilares coletadas nos suportes de vidro e metal, impregnadas com pó vulcano e pó magnético e, somente pó vulcano, respectivamente. Considerando-se a quantificação absoluta detectada para o fragmento curto (80 pb – Canal Verde, fluoróforo FAM) e fragmento longo (207 pb – Canal Vermelho, fluoróforo Cy5) foi calculada a razão entre esses valores gerando o ID (Gráfico 2).

Tabela 3 – Concentração, média de concentração e desvio padrão referente a quantidade de DNA obtido de impressões digitais coletadas nos suportes de papel, vidro e metal, reveladas com diferentes reveladores datiloscópicos. N amostral por grupo = 10

<b>Suporte/Revelador</b>	<b>Papel + Pó Magnético</b>	<b>Vidro + Pó Magnético</b>	<b>Vidro + Pó Volcano</b>	<b>Metal + Pó Volcano</b>
<b>Concentração de DNA (pg/μL) / voluntário</b>	52,9	253,5	40,0	7,5
	32,45	303,9	15,0	90,0
	3,4	407,7	30,5	15,0
	97,6	14,2	5,5	1,5
	179,7	1,75	4,0	0,2
	262,5	1,55	3,5	1,5
	477,0	0,55	2,5	5,5
	1,8	31,05	30,0	10,0
	0,1	267,25	195,0	45,0
	120,5	204,9	6,5	10,0
<b>Média (pg/μL)</b>	122,8	148,6	33,25	18,62
<b>Desvio Padrão</b>	151,2	155,1	58,43	28,23

Fonte: A autora, 2019.

Gráfico 1 – Concentração de DNA em pg/μL obtida através de PCR por tempo real. Comparação entre participantes vs. grupo (suporte + revelador) avaliado



Fonte: A autora, 2019.

O teste de normalidade D'Agostino & Pearson foi inicialmente aplicado aos dados da quantificação, gerando um valor de  $p < 0,05$ , indicando que os resultados não assumem uma distribuição gaussiana, fato este também corroborado pelos valores observados nos indicadores de simetria amostral (*skewness*) e de distribuição gaussiana (*kurtosis*). Dados com distribuição simétrica e distribuição gaussiana apresentam os respectivos indicadores iguais a zero ( $skewness = 0$ ;  $kurtosis = 0$ ). Em seguida, procedeu-se com a aplicação de teste adequado aos tipos de dados (não paramétricos), o teste estatístico Kruskal-Wallis, obtendo-se um valor de  $p = 0,2309$ , ou seja, não foi detectada diferença significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

Em seguida o post hoc teste Dunn que realiza múltiplas comparações dois a dois entre os grupos avaliados foi aplicado, resultando em todas as análises comparativas possíveis, valor de  $p > 0,05$ , novamente não sendo detectada diferença significativa entre os grupos, corroborando o resultado inicial ( $p = 0,2309$ ) (Tabelas 4 e 6).

Tabela 4 – Dados resultantes do teste estatístico D'Agostino & Pearson para avaliação de normalidade dos dados

Teste de Normalidade	D'Agostino & Pearson			
	Papel + Pó Magnético	Vidro + Pó Magnético	Vidro + Pó Volcano	Metal + Pó Volcano
<b>Valor de p</b>	0,0148	0,2788	<0,0001	0,0005
<b>Amostra passou no teste?</b>	Não	Sim	Não	Não
<b>Skewness – Simetria amostral</b>	1,644	0,39	2,857	2,227
<b>Kurtosis – Distribuição gaussiana?</b>	2,697 Não gaussiana	-1,568 Não gaussiana	8,542 Não gaussiana	4,862 Não gaussiana

Fonte: A autora, 2019.

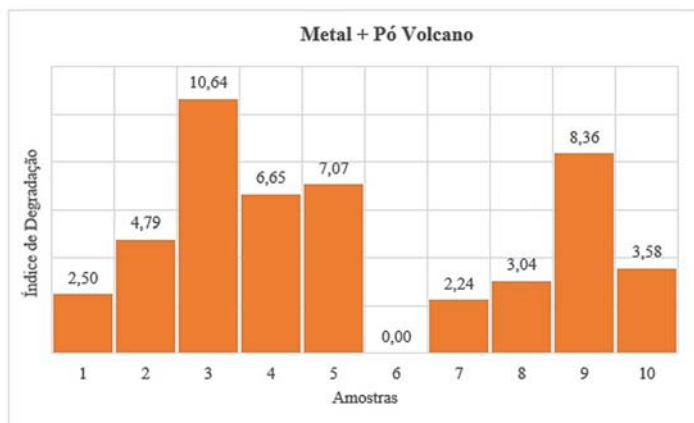
Tabela 5 – Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e post hoc teste Dunn quando aplicado aos resultados da quantificação por PCR em tempo real

Teste Estatístico	Kruskal-Wallis
<b>Valor de p</b>	0,2309
<b>Valor de significância do teste (<math>p &lt; 0,05</math>)</b>	Não significativo
<b>Número de grupos testados</b>	4
<b>Teste post hoc: Comparação Múltipla de Dunn</b>	<b>Valor de significância do teste (<math>p &lt; 0,05</math>)</b>
<b>Papel + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Magnético</b>	Não
<b>Papel + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Volcano</b>	Não
<b>Papel + Pó Magnético vs. Metal + Pó Volcano</b>	Não
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Volcano</b>	Não
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Metal + Pó Volcano</b>	Não
<b>Vidro + Pó Volcano vs. Metal + Pó Volcano</b>	Não

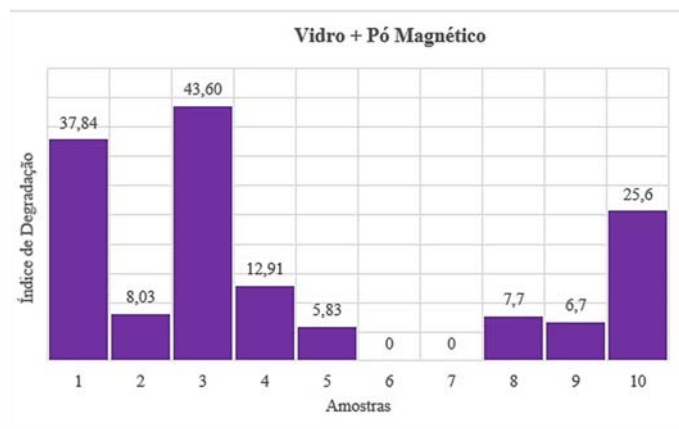
Fonte: A autora, 2019.



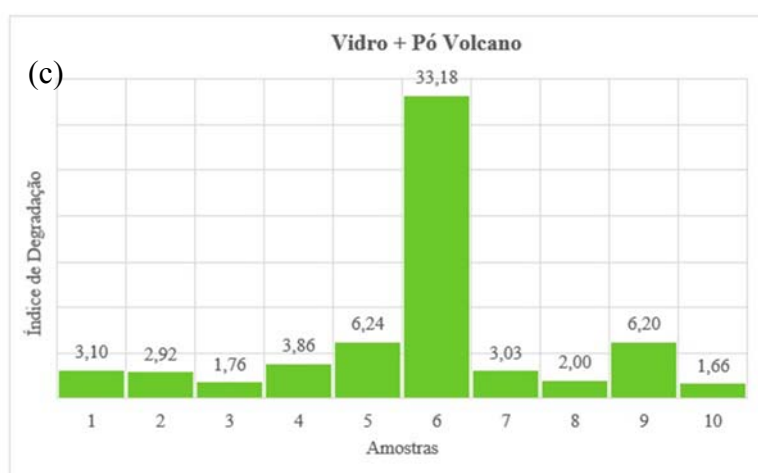
Gráfico 2 – Índice de degradação – kit InnoQuant® (InnoGenomics Technologies, LLC)



(a)



(b)



(c)

Legenda: Em (a) (barras em laranja), está representado o grupo metal + pó volcano, em (b) (barras em roxo) está representado o grupo vidro + pó magnético; em (c) (barras em verde), está representado o grupo vidro + pó volcano.

Nota: O ID é embasado na quantificação absoluta através do kit InnoQuant® (InnoGenomics Technologies, LLC), calculando-se a razão entre a quantificação detectada para o fragmento curto (Canal verde, fluoróforo FAM) e a quantificação detectada para o fragmento longo (Canal vermelho, fluoróforo Cy5). Os valores “0” representados para as amostras 6 (em a) e amostras 6 e 7 (em b) significa que não foi detectada amplificação para o fragmento longo. Desta maneira, não foi possível calcular o ID. O mesmo aplica-se para o grupo papel + pó magnético no qual não foi detectada amplificação para o fragmento longo, consequentemente, não representado no gráfico.

Fonte: A autora, 20019.

## 4.2 Análise de regiões STR

Considerando-se o número total de alelos possíveis de serem obtidos em cada grupo (180 alelos), as impressões digitais coletadas em suporte de vidro resultaram em um total de 130 alelos sendo correspondentes a seis perfis genéticos completos, três perfis parciais e um perfil nulo para o revelador datiloscópico pó vulcano preto, 144 alelos sendo correspondentes a seis perfis completos e quatro perfis parciais para o revelador datiloscópico pó magnético preto e 180 alelos correspondentes a 10 perfis completos para o revelador datiloscópico cianoacrilato.

Em contrapartida, para as impressões digitais coletadas em suporte de metal e reveladas com pó vulcano e cianoacrilato, foram obtidos 180 alelos para ambos os casos (100% de perfis completos em cada grupo avaliado). As impressões digitais coletadas em papel apresentaram a menor taxa de sucesso, sendo detectados apenas 20 alelos da totalidade de amostras avaliadas, sendo correspondentes a 8 perfis nulos e 2 perfis incompletos (Tabela 6 e Gráfico 3).

A porcentagem de sucesso na obtenção de perfil genético foi calculada para cada grupo investigado (Tabela 6) considerando como base de cálculo apenas o número de perfis genéticos completos observados. Sendo assim, para os grupos vidro + pó vulcano e vidro + pó magnético, obteve-se 60% de sucesso, e para o grupo vidro + cianoacrilato, 100% de sucesso. Para os grupos metal + pó vulcano e metal + cianoacrilato obteve-se 100% de sucesso em ambas as condições testadas. Para o grupo papel + pó magnético, a taxa de sucesso foi de 0%.

Considerando-se isoladamente o revelador datiloscópico, o cianoacrilato apresentou os melhores resultados nas situações testadas, seguido pelo pó vulcano preto e por fim, o pó magnético preto, nessa ordem decrescente de desempenho. No que se refere aos suportes testados, o metal demonstrou o melhor desempenho seguido pelo vidro. O papel retornou o resultado mais desfavorável à obtenção de perfis genéticos a partir de impressões digitais.

A esses dados foi aplicado o teste estatístico Kruskal-Wallis, com um intervalo de confiança de 95%, que retornou um valor de  $p < 0,0001$  revelando existir diferença significativa entre as amostras ( $p < 0,05$ ). O teste post hoc de Dunn foi aplicado identificando existir diferença significativa apenas entre o grupo papel + pó magnético e os outros grupos, não existindo diferença considerável entre os suportes de vidro e metal, sejam quaisquer os reveladores utilizados. Também não foi detectada diferença significativa intragrupos (Tabela 7).

Tabela 6 – Resultados referentes à análise de STR com o kit AmpFℓSTR® MiniFiler™

<b>Suporte</b>	<b>Revelador datiloscópico</b>	<b>Número total de amostras</b>	<b>Número total de alelos possíveis*</b>	<b>Número total de alelos obtidos</b>	<b>Número de perfis completos obtidos</b>	<b>Número de perfis parciais</b>	<b>Número de perfis nulos</b>	<b>Porcentagem de sucesso**</b>
Vidro	Pó Volcano	10	18x10 = 180	130	6	3	1	60%
Vidro	Pó Magnético	10	18x10=180	144	6	4	0	60%
Vidro	Cianoacrilato	10	18x10 = 180	180	10	0	0	100%
Metal	Pó Volcano	10	18x10 = 180	180	10	0	0	100%
Metal	Cianoacrilato	10	18x10 = 180	180	10	0	0	100%
Papel	Pó Magnético	10	18x10 = 180	20	0	2	8	0%

\*Kit de genotipagem AmpFℓSTR® MiniFiler™

\*\* Considerando o número de perfis completos obtidos.



Tabela 7 – Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e teste post hoc de Dunn quando aplicados aos resultados da genotipagem STR

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Kruskal-Wallis</b>
<b>Valor de p</b>	<b>&lt; 0,0001</b>
<b>Teste post hoc: Comparação múltipla de Dunn</b>	Valor de Significância do teste ( $p < 0,05$ )
<b>Papel + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Magnético</b>	Significativo
<b>Papel + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Vulcano</b>	Significativo
<b>Papel + Pó Magnético vs. Vidro + Cianocrilato</b>	Significativo
<b>Papel + Pó Magnético vs. Metal + Pó Vulcano</b>	Significativo
<b>Papel + Pó Magnético vs. Metal + Cianocrilato</b>	Significativo
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Vidro + Pó Vulcano</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Vidro + Cianocrilato</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Metal + Pó Vulcano</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Magnético vs. Metal + Cianocrilato</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Vulcano vs. Vidro + Cianocrilato</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Vulcano vs. Metal + Pó Vulcano</b>	Não significativo
<b>Vidro + Pó Vulcano vs. Metal + Cianocrilato</b>	Não significativo
<b>Vidro + Cianocrilato vs. Metal + Pó Vulcano</b>	Não significativo
<b>Vidro + Cianocrilato vs. Metal + Cianocrilato</b>	Não significativo
<b>Metal + Pó Vulcano vs. Metal + Cianocrilato</b>	Não significativo

Fonte: A autora, 2019

Para os perfis genéticos obtidos, foi calculada a taxa de sucesso de amplificação para cada marcador genético estabelecido no kit de genotipagem utilizado (Tabela 8).

Tabela 8 – Marcadores STR do kit AmpF $\ell$ STR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> e a taxa de sucesso na amplificação dos grupos estudados

<b>Marcadores kit AmpF<math>\ell</math>STR<sup>®</sup> Minifiler<sup>™</sup></b>	<b>Tamanho da sequência (pb)</b>	<b>% de amplificação nas amostras de IP reveladas*</b>
<b>D13S317</b>	88-132	94%
<b>D7S820</b>	136-176	94%
<b>Amelogenina</b>	106-112	100%
<b>D2S1338</b>	90-142	98%
<b>D21S11</b>	153-211	94%
<b>D16S539</b>	81-121	98%
<b>D18S51</b>	113-193	98%
<b>CSF1PO</b>	89-129	98%
<b>FGA</b>	125-281	94%

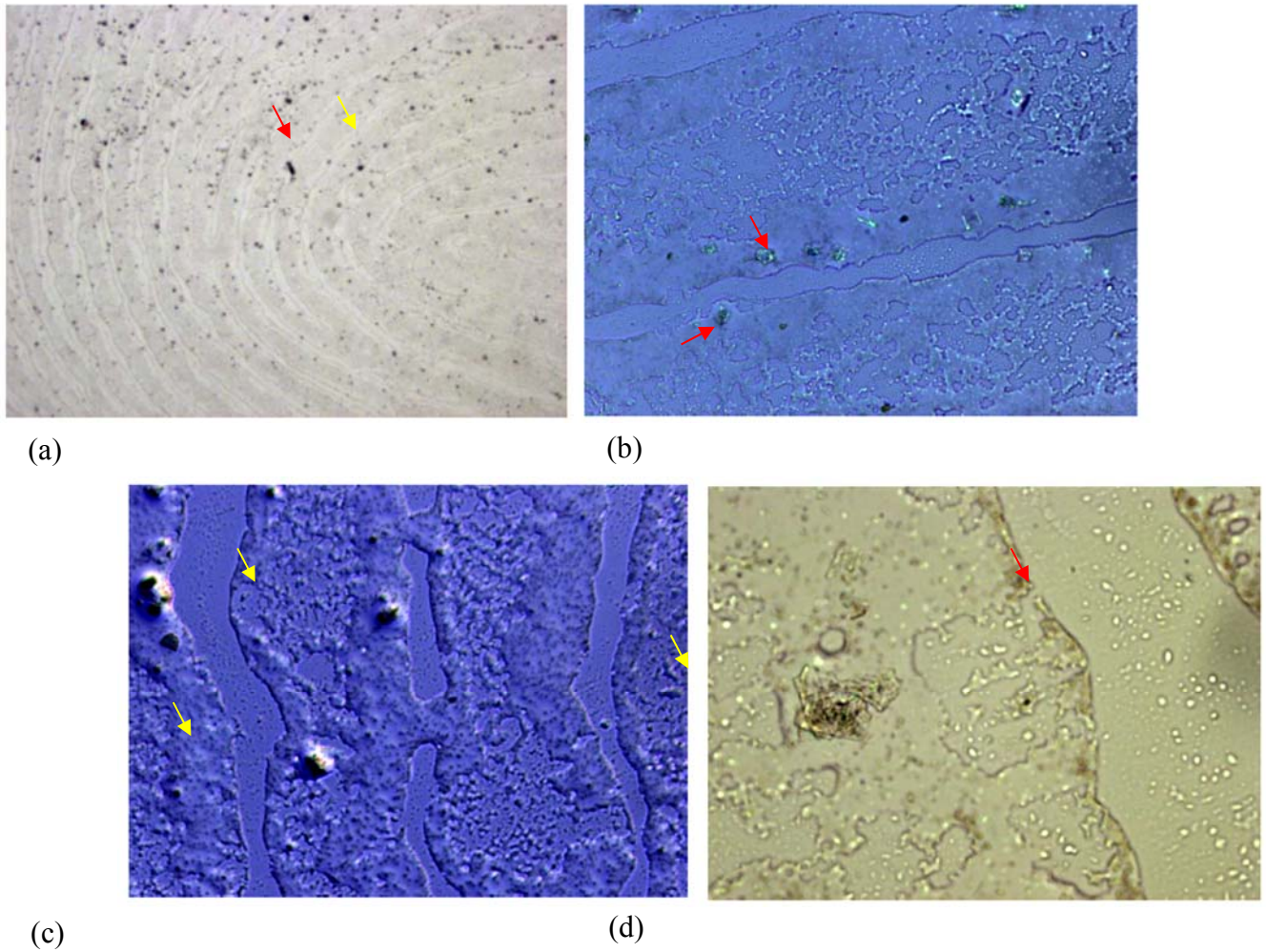
Nota: Para este cálculo as impressões papilares coletadas em papel foram desconsideradas.

Fonte: Adaptado de BUTLER et al., 2010.

#### 4.3 Análise morfológica: Microscopia de contraste de fase

O aspecto morfológico de IPL foi registrado através do exame de Microscopia de Contraste Diferencial de Fase com aumentos entre 1,25x a 400x em duas situações: IPL recentes (coletadas e analisadas no intervalo de um dia) (Figura 9) e IPL não recentes (coletadas e analisadas no intervalo de 1 semana), sendo essas deixadas expostas em um ambiente confinado, com exposição à luz solar, a fim de mimetizar uma impressão papilar em um local de crime próximo a realidade (ambiente fechado) (Figura 10).

Figura 9 – IPL recente em exame de Microscopia de Contraste Diferencial de Fase

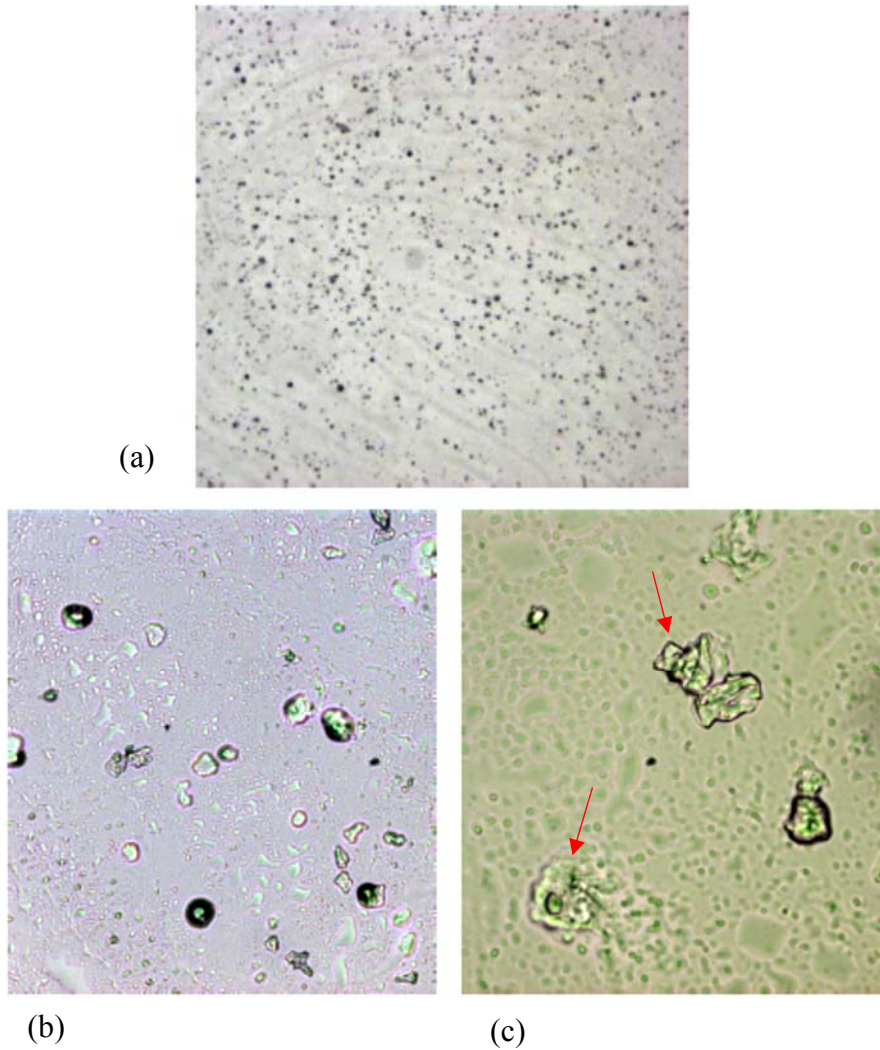


Legenda: (a) – IPL em aumento de 1,25x; (b) – IPL em aumento 10x; (c) – IPL em aumento 100x;  
(d) – IPL em aumento 400x.

Nota: Observar em (a), setas amarelas indicativas das regiões de cristas (relevos dérmicos) e setas vermelhas indicativas de sulcos (depressões). Em (b) e (c), destaque para restos celulares não identificados. Em (d), em destaque aglomerado de possíveis restos de células epiteliais (queratinócitos).

Fonte: A autora, 2019.

Figura 10 – IPL não recente em exame de Microscopia de Contraste Diferencial de Fase



Legenda: (a) – IPL não recente em aumento de 1,25x; (b) – IPL não recente em aumento 10x; (c) – IPL não recente em aumento 400x;

Nota: Observar em (a), aumento de sujidades (pontos pretos) e diminuição do contraste das regiões de cristas (relevos dérmicos) e sulcos (depressões) em comparação com a figura 6 (a). Em (b), destaque para restos celulares e sujidades não identificados. Em (c), setas indicativas de possíveis células epiteliais.

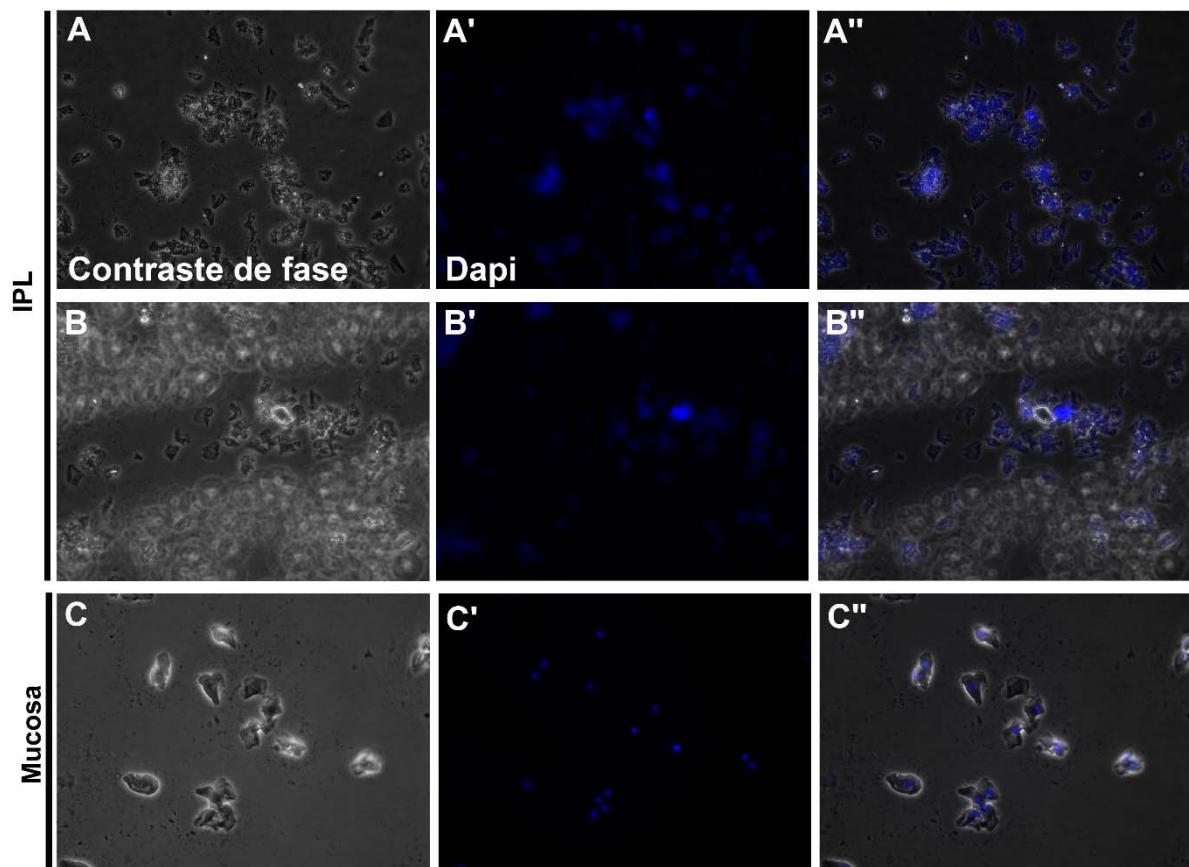
Fonte: A autora, 2019.



#### 4.4 Análise morfológica: Coloração nuclear com DAPI / Microscopia de Fluorescência e Contraste de fase

Na figura a seguir estão compiladas as imagens geradas para as impressões papilares latentes tratadas com o corante nuclear DAPI e visualizadas no microscópio de fluorescência DMi8 (Leica Microsystems<sup>®</sup>).

Figura 11 – IPL após coloração com DAPI em exame de Microscopia de Fluorescência e Contraste de Fase



Legenda: A e B – IPLs frescas em aumento 20x; C – células da mucosa bucal (controle positivo);

Nota: Em A, a lâmina foi tratada com metanol como solução fixante. Em B, a lâmina foi tratada com formol como solução fixante. Em A', B' e C' – visualização de fluorescência emitida pelo corante DAPI intercalado com o DNA. Em A'', B'' e C'' – combinação de ambos os filtros de visualização (contraste de fase e DAPI).

Fonte: A autora, 2019. Colaboração do Laboratório de Biomedicina do Cérebro, Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer (IECPN).

## 5 ANÁLISE DE DADOS E DISCUSSÃO

Os dados da quantificação por PCR em tempo real, assim como os valores calculados para o desvio padrão indicam acentuada variação na quantidade de DNA obtido de cada impressão papilar. Os desvios padrões para as amostras impregnadas com pó vulcano foram menores independente da superfície testada, indicando mais homogeneidade entre as amostras. Do mesmo modo, independente da superfície, as amostras reveladas com pó magnético apresentaram maior desvio padrão, indicando que as quantidades de DNA recuperadas nestas condições apresentaram uma variação mais acentuada. Contudo, no que diz respeito a análise da quantificação por PCR em tempo real, assumindo-se para a comparação os diferentes grupos suporte + revelador, os testes estatísticos não identificaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ), não sendo possível inferir, do ponto de vista da quantificação, que determinada combinação de superfície e revelador apresenta vantagem com relação às outras.

Ainda, considerando-se cada doador individualmente, esta variação pode ser justificada pelo fato de que cada indivíduo tem uma propensão própria no que diz respeito à transferência de células na interação com as superfícies, sendo que a quantidade transferida além de variar entre indivíduos, também pode variar com relação ao mesmo indivíduo ao longo de um mesmo dia, podendo ainda classificar-se os indivíduos em bons doadores e maus doadores de DNA (VAN OORSCHOT et al., 1997; LOWE et al., 2002). Neste estudo não foi possível detectar claramente bons e maus doadores, visto que a quantidade de DNA doada por cada indivíduo nas situações testadas apresentou elevadas flutuações, não sendo identificado indivíduo consistentemente doador de elevadas ou diminutas quantidades de DNA (Tabela 3). Goray et al. (2016) reportam que um número mais amplo de amostras analisadas pode ser necessário para que um padrão de bom doador ou mau doador seja observado.

No tocante à análise de STR, foi obtido um valor de  $p < 0,05$  para o teste de Kruskal-Wallis, ou seja, compreende-se existir uma diferença significativa entre os grupos avaliados. Não obstante, o teste de Kruskal-Wallis, aplicado para análises a partir de três grupos, não indica entre quais grupos foi detectada a diferença. O teste post hoc de Dunn é aplicado para identificar entre quais dos grupos exatamente se encontra a diferença observada. Nas múltiplas comparações realizadas pelo teste, foi identificada diferença estatística apenas entre o suporte de papel com IP reveladas com pó magnético e os outros grupos estudados, tal o

qual fortemente demonstrou ser o cenário menos favorável para o aproveitamento dos vestígios de impressões digitais do ponto de vista genético, (Tabela 6, Gráfico 3).

Muito embora o teste estatístico aplicado não tenha detectado diferença significativa entre os outros grupos testados ( $p > 0,05$ ), exceto pelo grupo papel + pó magnético (Tabela 7), faz-se oportuna a avaliação empírica dos resultados obtidos visto que o teste estatístico não responde exatamente a um dos principais questionamentos: “qual é o revelador datiloscópico mais indicado para a impregnação de impressões papilares quando da intenção de se processar este vestígio geneticamente?”

Observando os perfis genéticos obtidos, o cianoacrilato apresenta-se como o revelador datiloscópico mais indicado (100% de perfis genéticos completos recuperados a partir das IP reveladas) (Tabela 6). Tal dado é corroborado pelos estudos de Stein et al. (1996), Zamir et al. (2000), Grubwieser et al. (2003) e Bille et al. (2009), estes últimos os quais também sugeriram a possibilidade dos vestígios de DNA serem protegidos pela camada de cianoacrilato que é depositada sobre as superfícies durante a revelação das impressões papilares, exercendo este revelador um efeito positivo sobre o DNA – possivelmente protegendo-o de degradações advindas do ambiente – no que diz respeito a obtenção de perfil genético pós tratamento datiloscópico.

No entanto, ainda deve-se ressaltar que alguns fatores como a metodologia de aplicação (BILLE et al., 2009) e o tempo de fumação (PITILERTPANYA et al., 2007) podem influenciar no modo como o cianoacrilato interfere com o DNA. O cianoacrilato pode ser aplicado de diferentes maneiras (através de um bastão, no formato de gel, através de processo automatizado com parâmetros de temperatura e umidade controlados ou em cabine, através de método *in house* – informal, sem controle exato de parâmetros) (THE FINGERPRINT SOURCE BOOK, 2012). Segundo Pitilertpanya et al. (2007), uma exposição prolongada ao cianoacrilato diminui a recuperação de perfil genético, sendo que o tempo médio de 20 a 30 minutos apresenta-se favorável à tal. O tempo médio de fumação utilizado neste estudo foi em torno de 20 minutos, o que também corrobora o sucesso observado na genotipagem das impressões papilares em todas as situações testadas.

Von Wurmb et al. (2001) reportaram uma interferência negativa do cianoacrilato no sucesso da genotipagem ao testarem o químico em outras amostras biológicas como sangue e saliva, e relacionaram isso ao método de extração de DNA utilizado em seus estudos (Chelex<sup>®</sup>) e não necessariamente à presença do químico. Estas observações reforçam a eficiência do método de extração empregado no presente estudo (lize enzimática) e sua aplicabilidade para amostras de impressões papilares.

Com relação aos demais químicos testados neste trabalho, os resultados obtidos demonstraram ser possível o processamento genético de impressões digitais impregnadas com pó vulcano (60% e 100% de perfis completos obtidos nos suportes de vidro e metal, respectivamente) e com pó magnético (60% de perfis completos obtidos no suporte de vidro). Resultados semelhantes foram obtidos por Van Hoofstat et al. (1999), Zamir et al. (2000), Lee et al. (2001), Shulz et al. (2002), Leemans et al. (2006), Thamnurak et al. (2011), Norlin et al. (2013) e Kumar et al. (2015). Farber et al. (2010) que reportaram uma diferença pouco expressiva (0,4%) com relação à eficiência na recuperação de perfis genéticos ao comparar impressões papilares reveladas com pó vulcano e com pó magnético. Do mesmo modo, considerando o suporte de vidro no qual ambos os pó vulcano e magnético foram aplicados – o que permite a comparação direta – também não foi possível detectar diferença significativa.

Muito embora não seja possível avaliar o desempenho de ambos os pó na superfície de metal, avaliando-se apenas o pó vulcano preto, este apresentou maior taxa de sucesso do que o pó magnético (Tabela 6). Três das amostras reveladas com pó vulcano preto reportaram a presença de contaminação nos marcadores CSF1P0, D13S17, D16S539, a qual, excluídas as fontes de contaminação do operador e proveniente dos processos laboratoriais, pode ser associada ao uso dos pincéis necessários para a aplicação de alguns reveladores datiloscópicos em pó (exceto o pó magnético que não utiliza um pincel propriamente dito, não existindo a presença de cerdas), como já foi investigado por alguns grupos (VAN HOOFFSTAT et al., 1999; VAN OORSCHOT et al., 2005 e PROFF et al., 2006)

Ademais, a revelação de impressões digitais através da técnica dos pó é uma das metodologias mais comumente utilizadas na rotina das perícias, eficiente, de resultado imediato e com excelente custo-benefício (SODHI e KAUR, 2001; BANDEY, 2007; SEWELL et al., 2008), o que torna os resultados promissores para a rotina pericial.

O teste post hoc de Dunn aplicado aos resultados da genotipagem – considerando o número de alelos obtidos para cada grupo – indicou não existir diferença significativa entre os grupos vidro + pó vulcano, vidro + pó magnético, vidro + cianoacrilato, metal + pó vulcano e metal + cianoacrilato, tornando possível inferir que na prática, quaisquer dos três reveladores testados podem ser aplicados sem prejuízo na análise genética, assim como reportaram Templeton et al. (2017).

Tratando-se da avaliação genética por STR, considerando o tipo de superfície utilizada (vidro, metal e papel), não foi observada diferença significativa entre vidro e metal e esses apresentaram resultados acentuadamente superiores aos da superfície de papel (Tabela 7, Gráfico 3). Tozzo et al. (2014) associaram a maior taxa de obtenção de perfis genéticos a

partir dos suportes de vidro e metal dado o aspecto liso e regular das superfícies, o que implicaria em uma menor retenção dos pós reveladores, impactando positivamente as análises genéticas. Ainda, a taxa de sucesso reportada por Tozzo et al. (2014) considerando o uso do pó magnético em superfície não porosa – vidro e metal – foi de aproximadamente 60%, como observado nos resultados obtidos neste estudo (Tabela 6).

A baixa taxa de sucesso na obtenção de perfil genético a partir de amostras de IP coletadas em papel pode ter relação com a composição deste suporte. Shalhoub et al. (2008) associaram uma maior recuperação de DNA a partir de superfícies não porosas visto que estas não possuem propriedades absorptivas capazes de reter células epiteliais, assim como o papel (superfície porosa). Balogh et al. (2003) reportaram uma taxa de sucesso relativamente baixa (47%) na obtenção de perfis genéticos a partir de IP em papel, muito embora o revelador utilizado não tenha sido o pó magnético. A teoria de que superfícies como o papel seriam mais propensas a retornarem perfil genético satisfatório do que em comparação com superfícies como plástico ou vidro também não foi corroborada pelos estudos de Raymond et al. (2004). Ainda, a celulose presente na composição do papel pode exercer efeito inibitório sobre os ácidos nucleicos ao ligar-se a esses, e sobre a atividade da enzima DNA polimerase (BEJ et al., 1991; LEE e COOPER, 1995; HEDMAN et al., 2010). Não obstante, o insucesso reportado pode ter relação com o tipo de papel avaliado. Diferentemente de papel de jornal, revistas e papel de filtro, o papel sulfite comum apresentou forte efeito negativo na recuperação de DNA, resultando em perfis genéticos nulos ou incompletos (SEWELL et al., 2008).

Os resultados obtidos para a genotipagem de IP em papel divergem de outros trabalhos, os quais reportaram taxa de sucesso próxima a 100% para a obtenção de perfis genéticos neste cenário (HENSSEGE et al., 1996; FREGEAU et al., 2000; TSAI et al., 2016). Uma das explicações para o insucesso observado neste estudo em particular pode recair sobre o intervalo decorrido entre a extração das amostras e a genotipagem, sendo as amostras mantidas em congelamento (-20 °C) por um período de aproximadamente 12 meses. Da mesma maneira, no que diz respeito à variável do tempo, Kumar et al. (2015) demonstram com base em extensa revisão de literatura, que o sucesso na recuperação de DNA e subsequente obtenção de perfil genético, depende diretamente do intervalo entre a revelação da IP e o processamento inicial (coleta e extração de DNA).

Ainda, no que diz respeito à genotipagem, os perfis incompletos obtidos foram avaliados considerando-se o tamanho das regiões alvos (marcadores) para a amplificação no kit utilizado (AmpFISTR® MiniFiler™ (Applied Biosystems®) (Tabela 8). Marcadores

maiores como o D21S11 e o FGA apresentaram taxas de sucesso menores (94%) quando em comparação com outros marcadores de tamanhos inferiores. A ausência de amplificação ou uma diminuição significativa no sinal detectado na eletroforese capilar foi reportado para marcadores de tamanhos superiores como o FGA também em outros estudos (VON WURMB et al., 2001; TSAI et al., 2016). Estas observações serão discutidas a seguir sob a perspectiva dos índices de degradação calculados para as amostras em questão. Ainda, Thamnurak et al. (2011) argumentam que a variação observada na amplificação dos marcadores STR pode ser associada ao processo de revelação das IP, de modo que a interação das cerdas do pincel com a superfície ocasionaria a retirada de algumas das células transferidas durante a deposição da IP.

Os índices de degradação (ID) calculados para cada amostra (Gráfico 2) indicam existir algum nível de degradação em todas as amostras avaliadas, sendo que, quanto maior o ID, mais degradada é considerada a amostra. Pineda et al. (2014) estabelecem uma correlação entre o ID obtido e o número de alelos amplificados para cada amostra, sendo que ID maiores seriam indicativos de uma quantidade reduzida de alelos detectados. Índices de degradação elevados significam que foi detectada uma quantidade maior de fragmentos curtos do que de fragmentos longos na reação de amplificação, como por exemplo, no grupo vidro + pó magnético, amostra 3, ID = 43,6, sendo a média de quantificação para o fragmento curto 0,4 ng/ $\mu$ L e para o fragmento longo 0,0093 ng/ $\mu$ L, e esta amostra obteve 88,88% de amplificação de alelos (ausência de amplificação em apenas um marcador, D13S317).

Este resultado pode ser compreendido pois o kit de amplificação para regiões STR utilizado foi o kit AmpFISTR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> (Applied Biosystems<sup>®</sup>), no qual as regiões alvo para amplificação são fragmentos curtos (Tabela 8). Logo, a partir da avaliação dos valores de ID, é possível prever qual seria o kit de genotipagem mais indicado para o processamento das amostras. Este resultado é corroborado por Pineda et al. (2014) que reportaram taxa de amplificação de 82% para amostra com ID = 47, ao utilizar o kit de genotipagem AmpFISTR<sup>®</sup> MiniFiler<sup>™</sup> (Applied Biosystems<sup>®</sup>) e, em comparação, para esta mesma amostra, obtiveram taxa de amplificação de 20% quando do processamento com o kit AmpFISTR<sup>®</sup> Identifier<sup>®</sup> Plus (Applied Biosystems<sup>®</sup>) que possui regiões alvo maiores para a amplificação. Assim sendo, mesmo com um ID elevado, é possível obter um bom resultado na genotipagem de regiões STR.

Os parâmetros avaliados – inibição e degradação – estão em consonância com o trabalho de Tozzo et al. (2014), que observaram que os reveladores datiloscópicos provavelmente exercem efeito de degradação sobre a molécula de DNA, ao invés de causar

inibição da reação de amplificação. Isto posto, pode-se associar a obtenção de perfis genéticos parciais ou nulos em algumas amostras neste estudo a um efeito de degradação causado pela presença dos reveladores datiloscópicos.

No tocante à análise morfológica, através da Microscopia de Contraste Diferencial de Fase observaram-se as estruturas que compõem a impressão papilar – as cristas e os sulcos – não sendo possível a observação dos poros (Figura 9a); além de aglomerados de possíveis células epiteliais (queratinócitos) (Figura 9b e 9c), evidenciados tridimensionalmente na figura 6c, campo de visualização com a aplicação da técnica DIC. As impressões papilares observadas após 1 semana de exposição ao ambiente, apresentaram morfologia semelhante, sendo evidenciada a perda de contraste das cristas e sulcos (Figura 10a), em decorrência da evaporação de água e transformação de elementos que compõem a impressão papilar (DE ALCARAZ-FOSSOUL et al., 2013) e prováveis queratinócitos também foram identificados (Figura 10c). Resultados semelhantes foram encontrados por Allesandrini et al. (2003) ao contabilizarem o número de queratinócitos e núcleos sem citoplasma presentes em impressões papilares depositadas em lâminas de vidro, concluindo que muito embora a quantidade de células doadas varie entre indivíduos – como também observado no presente estudo através da quantificação por PCR em tempo real – não é possível fazer uma correlação direta entre o número de células contabilizadas e a quantidade de DNA recuperado pois grande parte do material genético é perdido nas fases iniciais de processamento genético (coleta e extração).

Muito embora todas as amostras de impressões papilares analisadas geneticamente neste estudo tenham apresentando algum nível de degradação tomando-se como referência os índices de degradação calculados (Gráfico 2), outras impressões papilares foram preparadas objetivando-se a investigação a nível celular (visual) da qualidade das células das quais o material genético presente nas IPL é extraído. Após a coloração com o intercalante de DNA, DAPI (Figura 11), foi possível observar que os conteúdos celulares concentram-se nas regiões dos sulcos das impressões papilares (Figuras 11A" e B") e que a estrutura celular não se apresenta íntegra como nas células controle (Figura 11C, C' e C"). Este espalhamento do material genético observado nas impressões papilares possivelmente pode ser um fator a influenciar nas taxas de sucesso de obtenção de perfis genéticos, visto que, dessa maneira, o conteúdo celular encontra-se mais susceptível ao meio e à superfície na qual está depositada a IPL. Avaliações das IPL com coloração DAPI e visualização no microscópio de fluorescência não foram encontradas em outros trabalhos para a comparação com os resultados e inferências aqui obtidos.

Por fim, a presença dos reveladores datiloscópicos em combinação com a desestruturação celular presente nas IPL pode conjuntamente se traduzir em fatores decisivos na obtenção dos perfis genéticos em exames de DNA de contato.



## CONCLUSÃO

- a) É viável a obtenção de perfis genéticos a partir de impressões papilares reveladas com químicos utilizados na rotina das perícias papiloscópicas, o que torna pertinente o uso destas IPL no âmbito da investigação criminal através da análise do DNA, quando os vestígios não responderem aos critérios mínimos para a identificação pela Papiloscopia;
- b) A metodologia de coleta de impressões papilares utilizando suabe de algodão embebido em solução de coleta de NaCl 0,9% é aplicável para IP reveladas com cianoacrilato, pó vulcano preto e pó magnético preto;
- c) Foi padronizada técnica de extração de DNA de amostras de impressões papilares latentes depositadas nas superfícies de papel, vidro e metal, coletadas após revelação com os reagentes químicos cianoacrilato, pó vulcano preto e pó magnético preto;
- d) Há interferência química dos reveladores empregados na subsequente genotipagem do DNA;
- e) Os reveladores químicos podem causar algum efeito de degradação das amostras, o qual não impede totalmente a obtenção de perfis genéticos;
- f) O uso dos pincéis – como o pincel de fibra de vidro – necessários para a aplicação dos reveladores em pó pode ser responsável pela contaminação das amostras ao carrear células epiteliais em suas cerdas, transferindo material genético entre as impressões papilares reveladas;
- g) O uso de cianoacrilato ou pó vulcano ou pó magnético, nessa ordem, é recomendado quando houver intenção de analisar as impressões digitais pela tecnologia do DNA.

## REFERÊNCIAS

- ADAMOWICZ, M. S. et al. Evaluation of methods to improve the extraction and recovery of DNA from cotton swabs for forensic analysis. *PLoS ONE*, v. 9, n. 12, p. 1–18, 2014.
- ALVES, J.E.D. Qual será a população mundial em 2100. Disponível em: <http://www.ufjf.br/ladem/2011/07/06/qual-sera-a-populacao-mundial-em-2100-artigo-de-jose-eustaquio-diniz-alves/> Acesso em: 20 de dez de 2018.
- ALESSANDRINI, F. et al. Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing. *Journal of Forensic Sciences*, v. 48, n. 3, p.586-592, 2003.
- ARCHER, N.E. et al. Changes in the lipid composition of latent finger mark residue with time after deposition on a surface, *Forensic Science International*, v. 154, p. 224-239, 2005.
- BALDANI, V.L.D. et al. Técnicas microscópicas aplicadas na identificação e localização de bactérias fixadoras de nitrogênio e biomacromoléculas em tecidos vegetais. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. (Embrapa CNPAB. Documentos, 50), p. 27, 1998
- BALOGH, M.K., et al. STR genotyping and mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. *Forensic Science International*, v. 137, n. 2-3, p. 188-195, 2003.
- BANDEY, H. Fingerprint Powder Guidelines. UK: Home Office Scientific Development Branch (2007).
- BEJ, A. K. et al. Polymerase chain reaction-gene probe detection of microorganisms by using filter-concentrated samples. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, n. 12, p. 3529–3534, 1991.
- BERRY, J.; Stoney, D. A. History and Development of Fingerprinting. In *Advances in Fingerprint Technology*, 2nd ed.; Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001.
- BILLE, T. W. et al. Effects of cyanoacrylate fuming, time after recovery, and location of biological material on the recovery and analysis of DNA from post-blast pipe bomb fragments. *Journal of Forensic Sciences*, v. 54, n. 5, p. 1059–1067, 2009.
- BOWMAN, V. Manual of Fingerprint Development Techniques. Sandridge: Home Office Police Scientific Development Branch, 2004.
- BUTLER, J. M. et al. Forensic DNA typing by capillary electrophoresis using the ABI Prism 310 and 3100 genetic analyzers for STR analysis. *Electrophoresis*, v. 25, n. 10-11, p. 1397-412, 2004.
- BUTLER, J. M. Fundamentals of Forensic DNA Typing. United States of America: Elsevier Inc., 2010.
- CABALLERO, S.A.D. Papiloscopia – Certeza ou dúvida? Apologia à Micropapiloscopia. 2ª Edição. Campinas, SP: Editora Millennium, 2012.

DALY, D. J. et al. The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. *Forensic Science International: Genetics*, v. 6, n. 1, p. 41–46, 2012.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, J. et al. Determination of latent fingerprint degradation patterns - A real fieldwork study. *International Journal of Legal Medicine*, v. 127, n. 4, p. 857–870, 2013.

DEMERCIAN, P.H.; MALULY, J.A. Curso de Processo Penal. São Paulo: Editora Atlas. 2001.

DE BRUIN, K. G. et al. Comparison of stubbing and the double swab method for collecting offender epithelial material from a victim's skin. *Forensic Science International: Genetics*, v. 6, n. 2, p. 219–223, 2012.

DOS REIS, L. A. Estudo da interação DNA com o corante fluorescente DAPI utilizando a técnica de Pinça Ótica. 56 f. Tese (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Viçosa, 2017. Disponível em:  
<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/11580/texto%20completo.pdf?sequence=1> Acesso em: 10 março 2019

EDWARDS, A. et al.: DNA-typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics.*, v. 49, p. 746-756, 1991.

EDWARDS, K. et al. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Research.*, v. 19, n. 6, p. 1349, 1991

FÄRBER, D. et al. Recovery of latent fingerprints and DNA on human skin. *Journal of Forensic Sciences*, v. 55, n. 6, p. 1457–1461, 2010.

FAULDS, H. On the Identification of Habitual Criminals by Finger-Prints. *Nature*. v. 50, p. 548, 1894.

FIELDHOUSE, S. et al. The effect of DNA recovery on the subsequent quality of latent fingermarks. *Forensic Science International*, v. 267, p. 78–88, 2016.

FIGUEIREDO, A.C.S. et al. Guia Prático de Biologia Celular. 11ª Edição. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, 2014.

FREGEAU, C.J. et al. Fingerprint enhancement revisited and the effect of blood enhancement chemicals on subsequent profiler plus™ fluorescent short tandem repeat DNA analysis of fresh and aged bloody fingerprints. *Journal of Forensic Science*, v. 42, n. 2, p. 354-380, 2000.

GILL, P.: Application of low copy number DNA profiling. *Croatian Medical Journal*, v. 42, p. 229-232, 2001.

GORAY, M. et al. Shedder status - An analysis of self and non-self DNA in multiple handprints deposited by the same individuals over time. *Forensic Science International: Genetics*, v. 23, p. 190–196, 2016.

GORAY, M. et al. The complexities of DNA transfer during a social setting. *Legal Medicine*, v. 17, n. 2, p. 82–91, 2015.

GRUBWIESER, P. et al. Systematic study on STR profiling on blood and saliva traces after visualization of fingerprint marks. *Journal of Forensic Science*, v. 48, n. 4, p. 733-741, 2003.

HEDMAN, J. et al. Improved forensic DNA analysis through the use of alternative DNA polymerases and statistical modeling of DNA profiles. *BioTechniques*, v. 47, n. 5, p. 951–958, 2009.

HENSSGE, C. et al. DNA typing of fingerprint reagent treated biological stains. *Journal of Forensic Science*, v. 41, n. 6, p. 1012-1017, 1996.

HENLE, E.S.; LINN, S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide, *Journal of Biological Chemistry*, v. 272, p. 19095–19098, 1997.

HOLDER, E.H. et al. The Fingerprint Sourcebook, Createspace Independent, US Department of Justice, *National Institute of Justice*, 2011.

JELLY, R. et al. The detection of latent fingermarks on porous surfaces using amino acid sensitive reagents: A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 652, n. 1–2, p. 128–142, 2009.

KIMPTON, C.P. et al.: Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods Applications*, v.3, p. 13-22, 1996.

KISHORE, R. et al. Optimization of DNA extraction from low-yield and degraded samples using the BioRobot® EZ1 and BioRobot® M48. *Journal of Forensic Sciences*, v. 51, n. 5, p. 1055–1061, 2006.

KUMAR, P. et al. Effects of latent fingerprint development reagents on subsequent forensic DNA typing: A review. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, v. 32, p. 64–69, 2015.

LEE, H.C.; GAENSSLEN, R.E. DNA from latent fingerprints. In: *Advances in fingerprint technology*. [chapter 3]. Boca Ranton, Florida: CRC Press; 2001.

LEE, A.B.; COOPER, T.A. Improved direct PCR screen for bacterial colonies: wooden toothpicks inhibit PCR amplification. *Biotechniques*, v. 18, n. 2, p. 225-226, 1995

LEEMANS, P. et al. Evaluation of methodology for the isolation and analysis of LCN-DNA before and after dactyloscopic enhancement of fingerprints. *International Congress Series*, v. 1288, p. 583–585, 2006.

LOWE, A. et al. The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. *Forensic Science International*, 2002.

Manual Técnico de Datiloscopia IFFP, APPOL, 2002.

MARIEB, E.N.; HOEHN, K. Human Anatomy & Physiology. 7ª Edição. Pearson Education Inc., 2007.

MCLAREN, C. et al. Methylamine pretreatment of dry latent fingerprints on polyethylene for enhanced detection by cyanoacrylate fuming. *Journal of Forensic Identification*, v. 60, n. 2, p. 199–222, 2010.

MIGHELL, A.J. et al. Alu sequences. *Febs Letter*, v. 417, p. 1-5, 1997.

NORLIN, S. et al. Evaluation of the impact of different visualization techniques on DNA in fingerprints. *Journal of Forensic Identification*, v. 63, n. 2, p. 189 - 204, 2013.

OLIVEIRA, T.P. et al. Evaluation of collection and extraction methodologies of latent fingerprints for military application. *Forensic Science International. Genetics Supplement Series (Print)*, v. 5, p. E474-e475, 2015.

OSTOJIC, L. et al. Qualitative and quantitative assessment of single fingerprints in forensic DNA analysis. *Electrophoresis*, v. 35, n. 21–22, p. 3165–3172, 2014.

PANG, B. C. M.; CHEUNG, B. K. K. Double swab technique for collecting touched evidence. *Legal Medicine*, v. 9, n. 4, p. 181–184, 2007.

PHIPPS, M.; PETRICEVIC, S. The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. *Forensic Science International*, v. 168, n. 2–3, p. 162–168, 2007.

PINEDA, G. M. et al. Development and validation of InnoQuant™, a sensitive human DNA quantitation and degradation assessment method for forensic samples using high copy number mobile elements Alu and SVA. *Forensic Science International: Genetics*, v. 13, p. 224–235, 2014.

PITILERTPANYA, S.; PALMBACH, T. Effect of cyanoacrylate on DNA typing of human fingerprints. Proceedings of the 59th Annual Meeting of the American Academy of Forensic Sciences, February 19–24, 2007, San Antonio, TX. Colorado Springs, CO: *American Academy of Forensic Sciences*, 2007.

PROFF, C. et al. Experiments on the DNA contamination risk via latent fingerprint brushes. *International Congress Series*, v. 1288, p. 601–603, 2006.

RABELLO, E. Curso de Criminalística: sugestão de programa para as faculdades de direito. Porto Alegre, Sagra – D.C. Luzzanato, 1996.

RAYMOND, J.J. et al. Effect of common finger mark detection techniques on the DNA typing of finger marks deposited on different surfaces. *Journal of Forensic Identification*, v. 54, p. 22–37, 2004.

RAYMOND, J. J. et al. Trace evidence characteristics of DNA: A preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes. *Forensic Science International: Genetics*, v. 4, n. 1, p. 26–33, 2009.

SANKHLA, M.S.; KUMAR, R. Identification of Criminal by using Touch DNA: A new Tool for Investigation in Forensic Science. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*. 2017.

SCHULZ, M. M. et al. Ninhydrin-dyed latent fingerprints as a DNA source in a murder case. *Journal of Clinical Forensic Medicine*, v. 11, n. 4, p. 202–204, 2004.

SCHUMANN, G.G. et al. Chapter Three - Unique Functions of Repetitive Transcriptomes, *International Review of Cell and Molecular Biology*, v. 285, p. 115-188, 2010.

SEWELL, J. et al. Recovery of DNA and fingerprints from touched documents. *Forensic Science International: Genetics*, v. 2, n. 4, p. 281-285, 2008.

SHALHOUB, R. et al. The recovery of latent fingermarks and DNA using a silicone-based casting material. *Forensic Science International*, v. 178, n. 2–3, p. 199–203, 2008.

SODHI, G.; KAUR, J. Powder method for detecting latent fingerprints: a review. *Forensic Science International*, v. 120, n. 3, p. 172-176, 2001.

STEIN, C. et al. DNA typing of fingerprint reagent treated biological stains. *Journal of Forensic Science*, v. 41, n. 6, p. 1012-1017, 1996.

TAHTOUH, M. et al. Four novel alkyl 2-cyanoacrylate monomers and their use in latent fingerprint detection by mid-infrared spectral imaging. *Forensic Science International*, v. 207, p. 223-228, 2011.

TEMPLETON, J. E. L. et al. Typing DNA profiles from previously enhanced fingerprints using direct PCR. *Forensic Science International: Genetics*, v. 29, p. 276–282, 2017.

THAMNURAK, C. et al. DNA typing from fluorescent powder dusted latent fingerprints. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, v. 3, n. 1, p. 524–525, 2011.

TOZZO, P. et al. Effect of Dactyloscopic Powders on DNA Profiling From Enhanced Fingerprints. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, v. 35, n. 1, p. 68–72, 2014.

TOCCHETTO, D.; FIGINI, A.R.L. et al. *Datilosopia e Revelação de Impressões Digitais*. São Paulo: Editora Millennium. 2012.

TSAI, L. C. et al. The Influence of Selected Fingerprint Enhancement Techniques on Forensic DNA Typing of Epithelial Cells Deposited on Porous Surfaces. *Journal of Forensic Sciences*, v. 61, n. January, p. 221–225, 2016.

U.S. DEPARTMENT OF JUSTICE. The Fingerprint Source Book. 2ª Edição. *Washington: National Institute of Justice*, 2012.

VAN DAM, A. et al. Techniques that acquire donor profiling information from fingermarks - A review. *Science and Justice*, v. 56, n. 2, p. 143–154, 2016.

VAN OORSCHOT, R.A.H.; et al. Beware of the possibility of fingerprinting techniques transferring DNA. *Journal of Forensic Sciences*, v. 50, n. 6, p. 1-6, 2005.

VAN OORSCHOT, R.A.H.; JONES, M.K.: DNA fingerprints from fingerprints. *Nature*, p. 387:767, 1997.

VAN HOOFFSTAT, D. E. O. et al. DNA typing of fingerprints using capillary electrophoresis: Effect of dactyloscopic powders. *Electrophoresis*, v. 20, n. 14, p. 2870–2876, 1999.

VAN OORSCHOT, R. A. H. et al. Forensic trace DNA: A review. *Investigative Genetics*, v. 1, n. 1, p. 14, 2010.

VELHO, J.A. et al. *Locais de Crime: dos vestígios à dinâmica criminosa*. São Paulo: Editora Millennium. 2013.

VON WURMB, N. et al. Influence of cyanoacrylate on the efficiency of forensic PCRs. *Forensic Science International*, v. 124, n. 1, p. 11–16, 2001.

WESTEN, A. A. et al. Higher capillary electrophoresis injection settings as an efficient approach to increase the sensitivity of STR typing. *Journal of Forensic Sciences*, v. 54, n. 3, p. 591–598, 2009.

WICKENHEISER, R. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. *Journal of Forensic Sciences*, v. 47, p. 442–450, 2002.

ZAMIR, A. et al. Fingerprints and DNA: STR typing of DNA extracted from adhesive tape after processing for fingerprints. *Journal of Forensic Sciences*, v. 45, n. 3, p. 687-688, 2000.

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (continua)



Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

E

Instituto de Biologia do Exército – IBEx



---

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(Elaborado em 11/05/2016)

**Título do projeto de pesquisa: “Padronização de metodologia para identificação de perfil genético de impressões papilares latentes impregnadas com reveladores químicos empregados na Perícia Criminal Militar.”**

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que irá avaliar a recuperação de material genético (DNA) de impressões digitais latentes (não visíveis) após serem reveladas com alguns dos reagentes químicos mais utilizados nas perícias militares e civis em locais onde ocorreram crimes. As pesquisadoras responsáveis, Dr.<sup>a</sup> Dayse Aparecida da Silva, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e a estudante Ludmila Alem, pretendem realizar um estudo com as seguintes características:

Objetivo do estudo: padronizar metodologias para a recuperação de material genético (DNA) a partir de impressões digitais latentes impregnadas com reagentes químicos empregados na Perícia Criminal Militar.

Benefícios aos participantes e para a sociedade: o indivíduo poderá não se beneficiar por participar deste estudo, mas estará ajudando os pesquisadores a obter informação para implantar testes genéticos em digitais, que poderão ser utilizados para auxiliar as Perícias Criminais Militares.

Descrição dos procedimentos para coleta de dados: a coleta das impressões digitais será realizada apoiando-se o dedo em tipos de suportes variados, por equipe capacitada, utilizando material descartável. Não há risco relacionado ao procedimento da coleta da digital dos dedos, por ser um procedimento não invasivo que envolve apenas uma leve pressão dos dedos sobre uma superfície material lisa.



## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (continuação)

Garantia de liberdade: Sua participação é totalmente **voluntária**. Você pode escolher não participar ou desistir a qualquer momento. Além disso, nenhum membro da pesquisa ou mesmo superior hierárquico o constrangerá ou ordenará a participar do estudo, estando a participação subordinada à sua escolha individual.

Direito de confidencialidade e acessibilidade: Cada participante poderá ter acesso, a qualquer momento, ao seu próprio resultado. As informações relacionadas ao estudo são tratadas como confidenciais e servirão para a elaboração de literatura científica. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob a forma codificada, sem aparecer nenhum nome, para que o sigilo seja mantido.

Despesas e compensações: A sua participação no estudo não terá custo algum. As despesas porventura existentes serão de responsabilidade dos pesquisadores. Pela sua participação no estudo, você também não receberá nenhum valor ou compensação financeira.

Garantia de acesso aos pesquisadores: em qualquer fase do estudo você terá pleno acesso aos pesquisadores responsáveis:

Ludmila Alem pelo telefone (21) 3890-2135 ramal 2133; no Instituto de Biologia do Exército, situado à Rua Francisco Manuel, 102, bairro Benfica, Rio de Janeiro, RJ, ou através do e-mail: [ludmila.alem@msn.com](mailto:ludmila.alem@msn.com)

Professora Dayse Aparecida da Silva, D.Sc. Professora Adjunta, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ. Av. São Francisco Xavier, 524 – Prédio Haroldo Lisboa da Cunha – Térreo – Laboratório de Diagnósticos por DNA. Tel: 21-2334-2183, e-mail: [dayse.a.silva@gmail.com.br](mailto:dayse.a.silva@gmail.com.br).

Havendo necessidade, será possível, ainda, entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital Pedro Ernesto (HUPE), Boulevard 28 de setembro, 77, térreo - Vila Isabel Cep 20.551-030 - Rio de Janeiro - RJ, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, ou pelo telefone 2868-8253, de segunda-feira a sexta-feira das 09:00-12:00h e 13:00-17:00h, ou através do e-mail: [cep-hupe@uerj.br](mailto:cep-hupe@uerj.br).

**APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (conclusão)****CONSENTIMENTO**

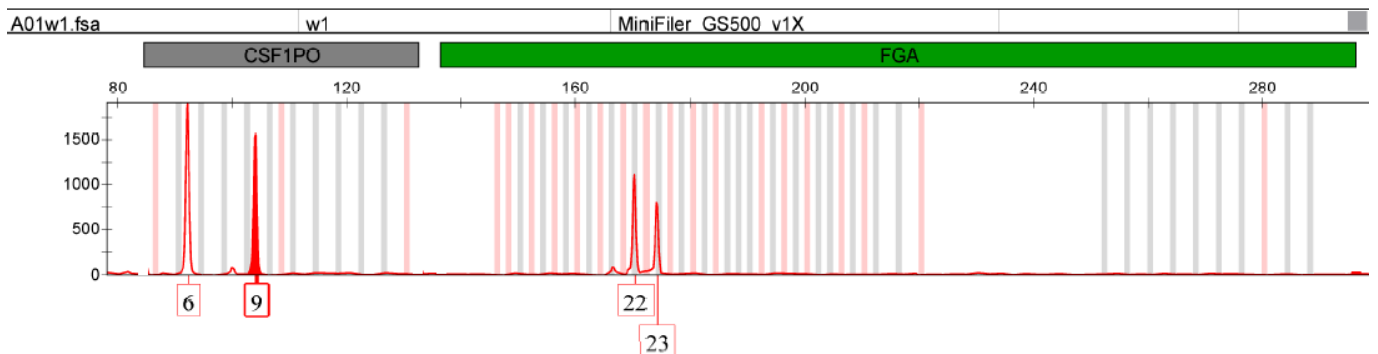
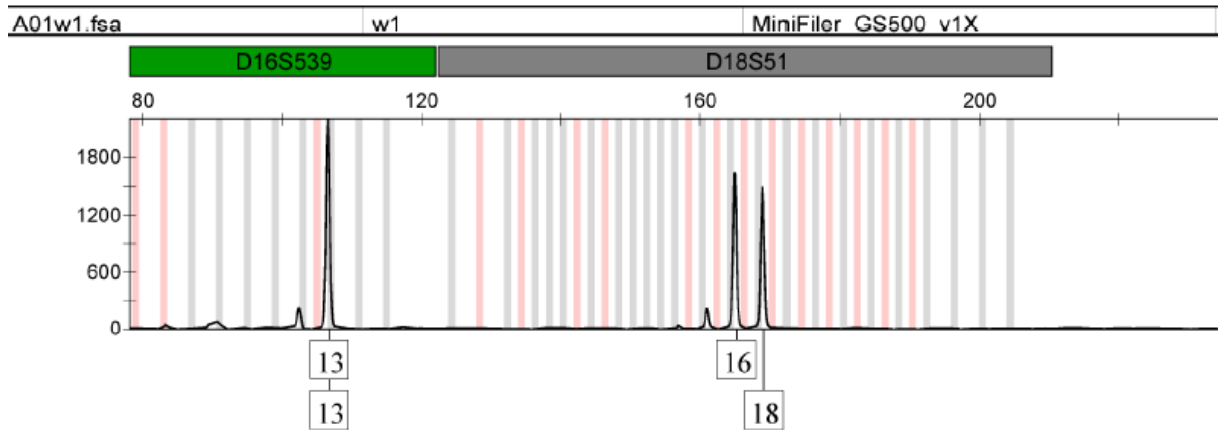
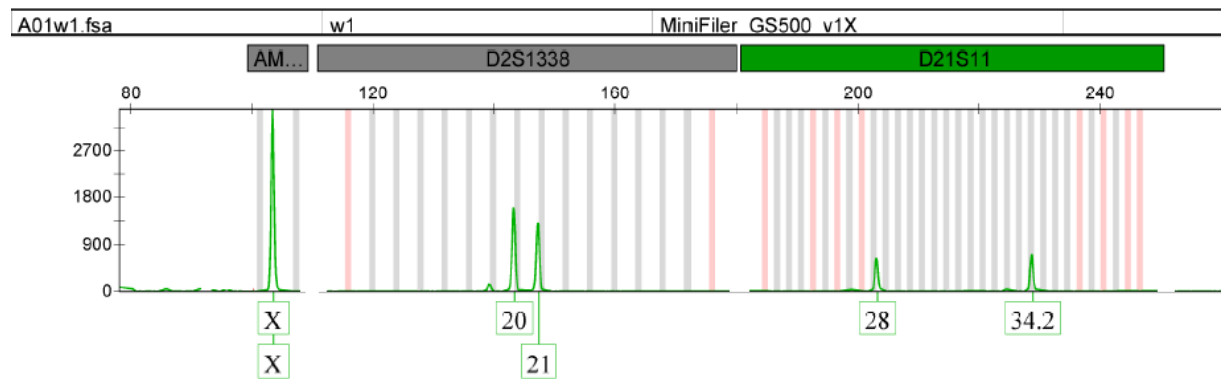
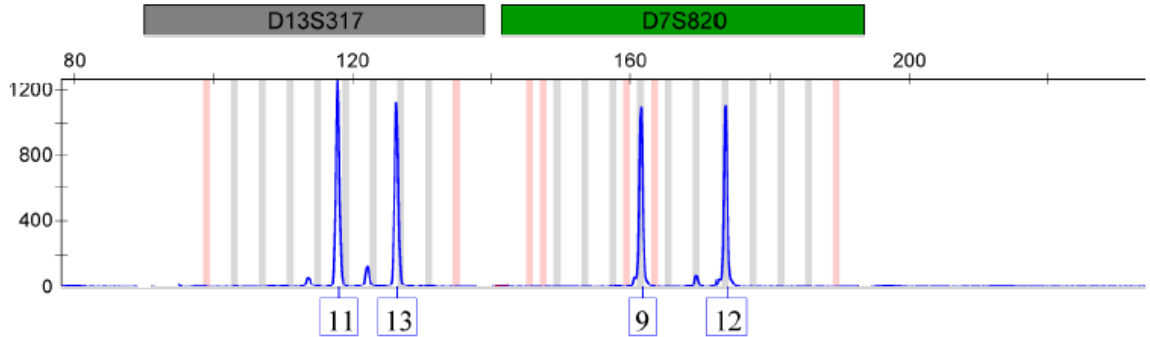
Rio de Janeiro, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_. Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e o objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão, e sei que qualquer problema relacionado será livre de custos para mim. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo e receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa.

Assinatura do voluntário \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador \_\_\_\_\_

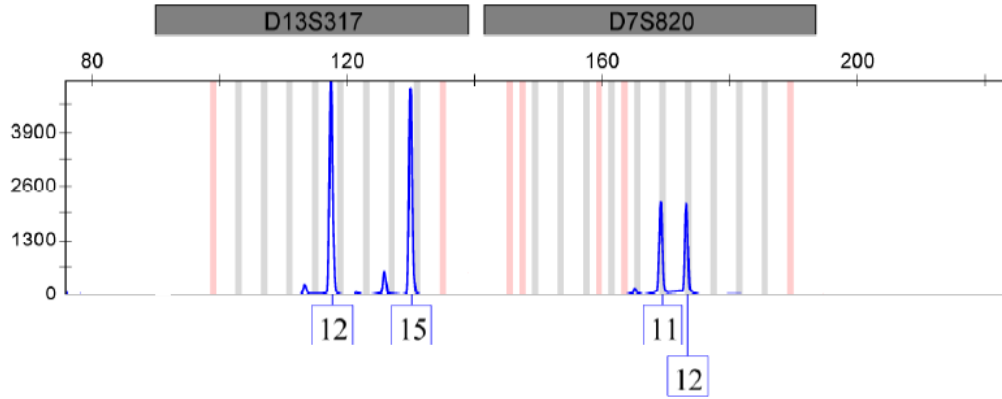
## APÊNDICE B – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Pó Volcano

Sample File	Sample Name	Panel
A01w1.fsa	w1	MiniFiler GS500 v1X

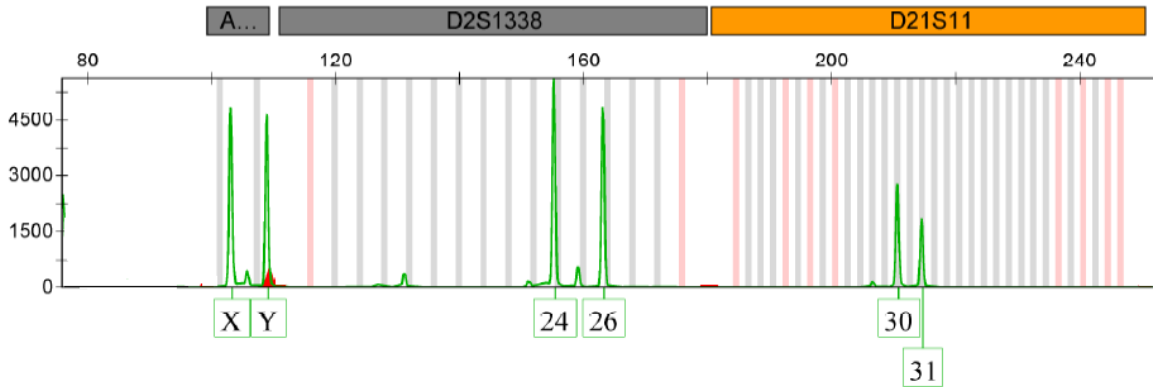


APÊNDICE C – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Pó Magnético

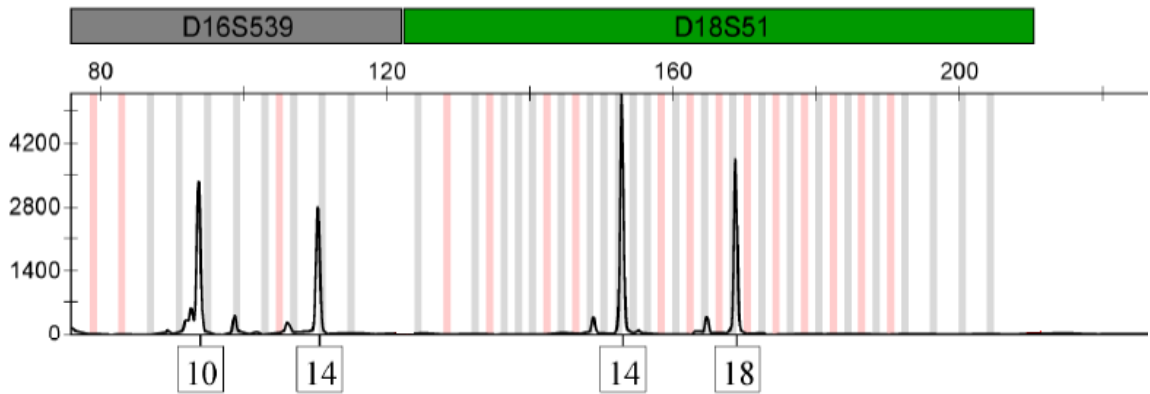
Sample File	Sample Name	Panel
B05MGV10.fsa	MGV10	MiniFiler GS500 v1X



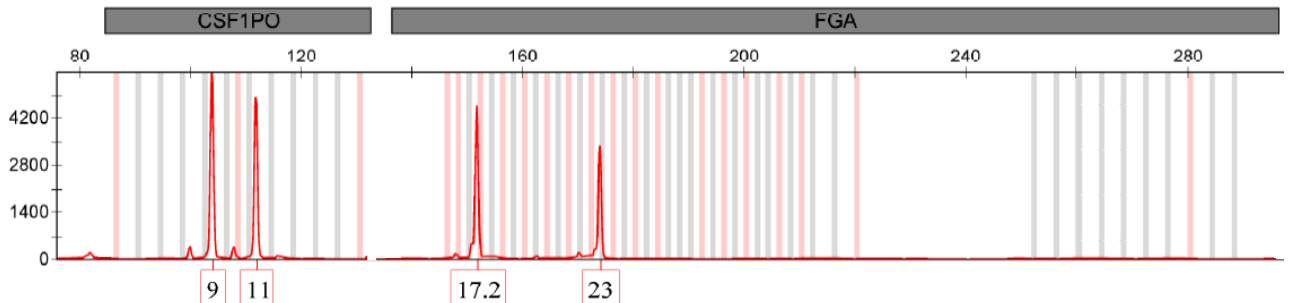
Sample File	Sample Name	Panel
B05MGV10.fsa	MGV10	MiniFiler GS500 v1X



Sample File	Sample Name	Panel
B05MGV10.fsa	MGV10	MiniFiler GS500 v1X

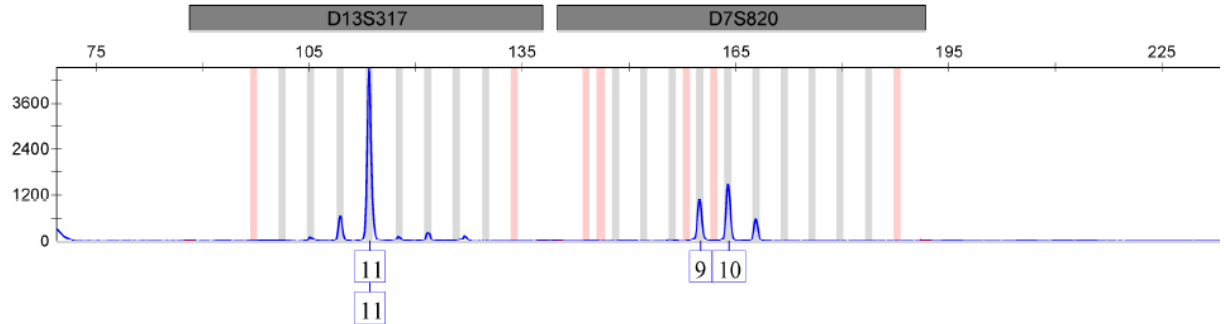


Sample File	Sample Name	Panel
B05MGV10.fsa	MGV10	MiniFiler GS500 v1X

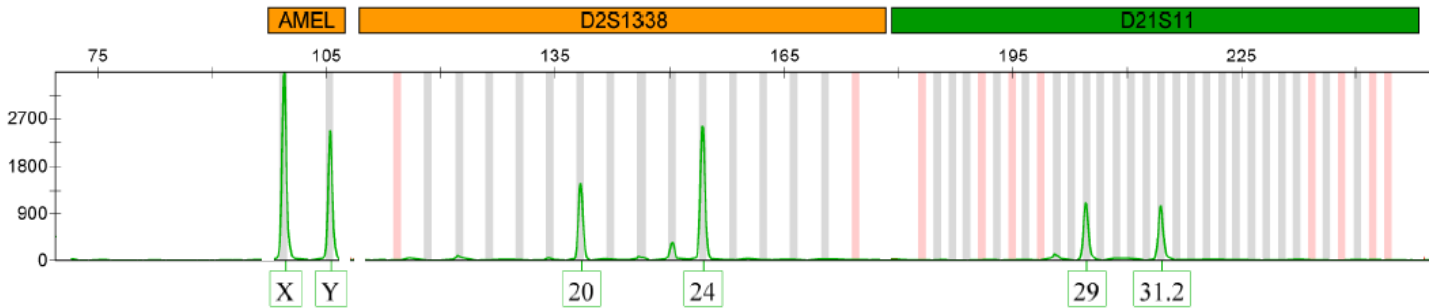


**APÊNDICE D** – Perfil genético obtido de IP; Suporte vidro – Revelador Cianocrilato

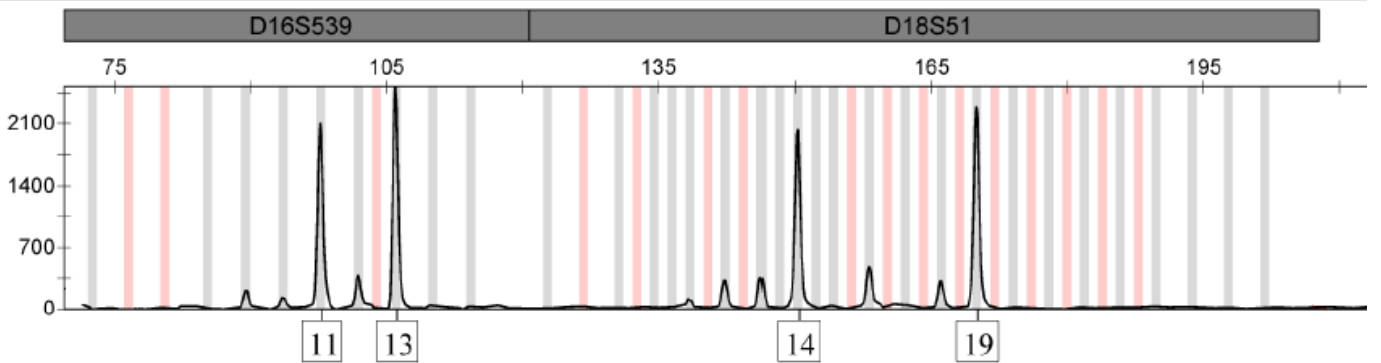
Sample File	Sample Name	Panel
C10_20-09-2018_B05_2016-01-04-11-58-59.hid	C10_20-09-2018	MiniFiler GS500 v1X



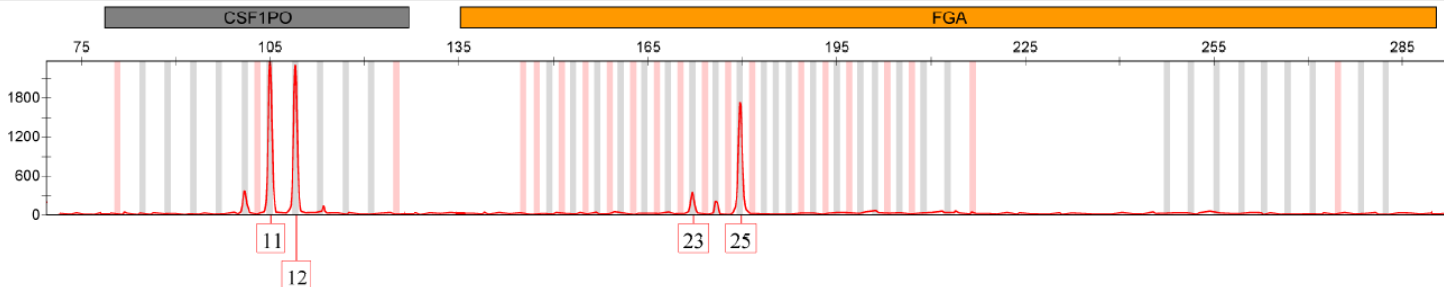
Sample File	Sample Name	Panel
C10_20-09-2018_B05_2016-01-04-11-58-59.hid	C10_20-09-2018	MiniFiler GS500 v1X



Sample File	Sample Name	Panel
C10_20-09-2018_B05_2016-01-04-11-58-59.hid	C10_20-09-2018	MiniFiler GS500 v1X

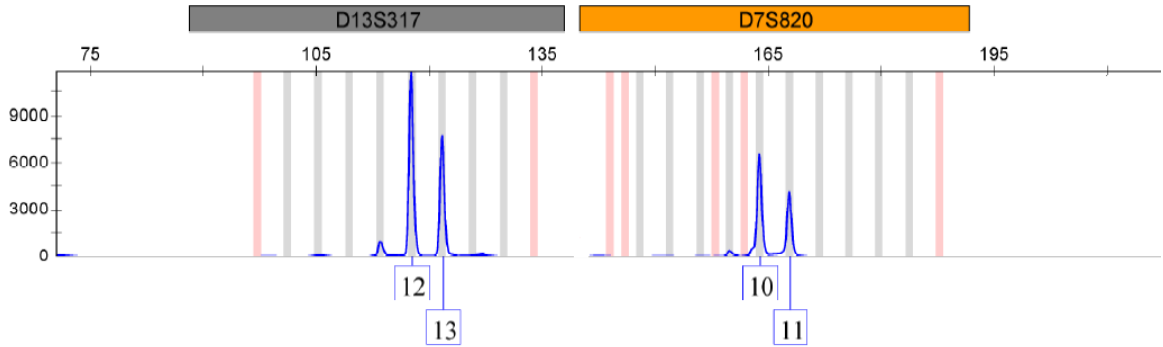


Sample File	Sample Name	Panel
C10_20-09-2018_B05_2016-01-04-11-58-59.hid	C10_20-09-2018	MiniFiler GS500 v1X

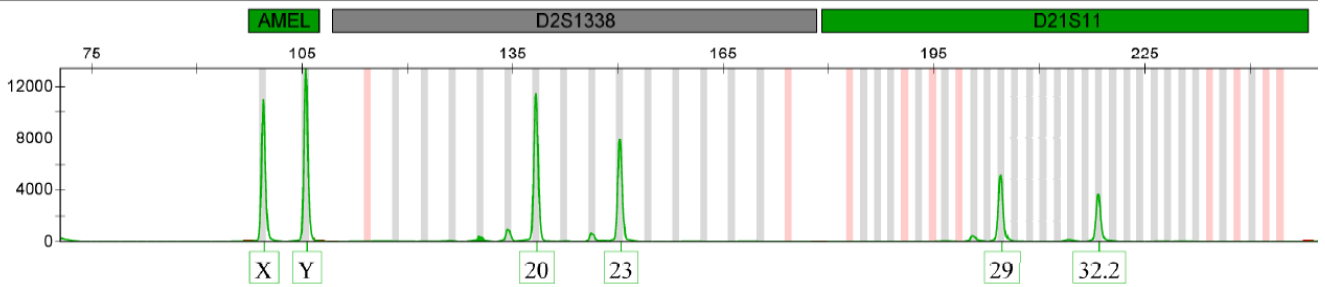


APÊNDICE E – Perfil genético obtido de IP; Suporte metal – Revelador Pó Volcano

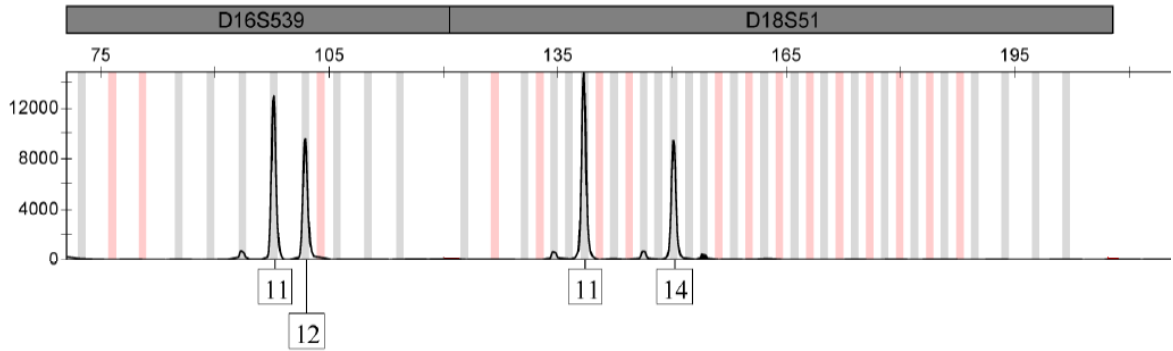
Sample File	Sample Name	Panel
MV5_20-09-2018_E05_2016-01-04-11-58-59.hid	MV5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



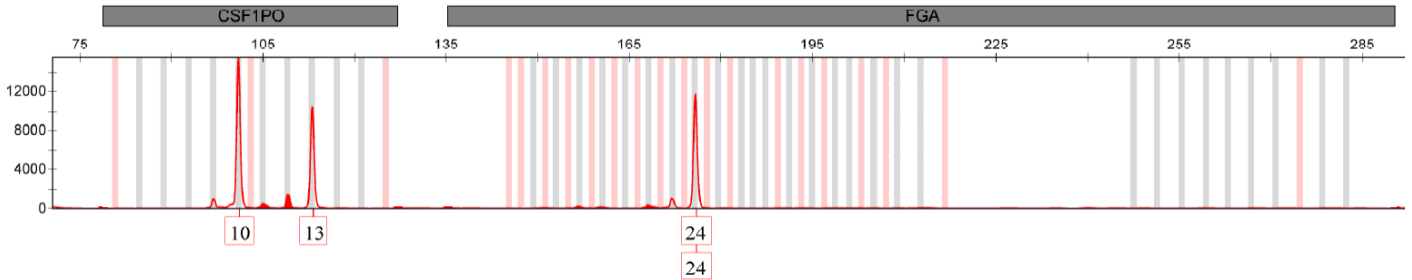
Sample File	Sample Name	Panel
MV5_20-09-2018_E05_2016-01-04-11-58-59.hid	MV5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



Sample File	Sample Name	Panel
MV5_20-09-2018_E05_2016-01-04-11-58-59.hid	MV5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X

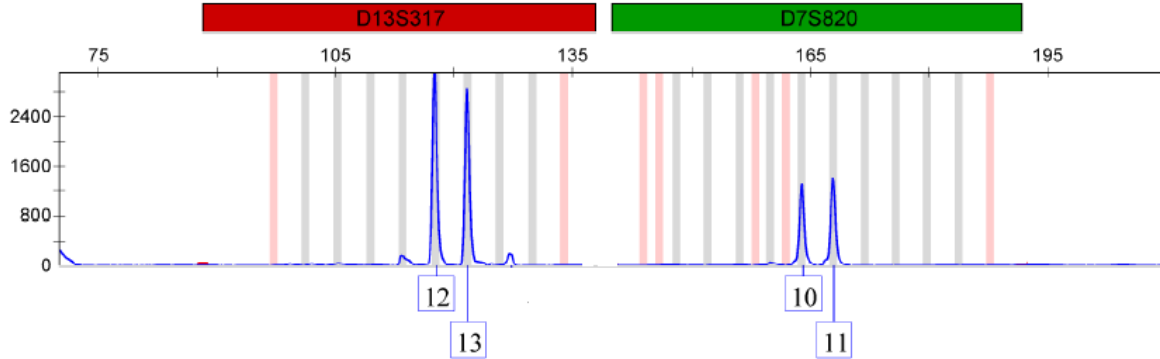


Sample File	Sample Name	Panel
MV5_20-09-2018_E05_2016-01-04-11-58-59.hid	MV5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X

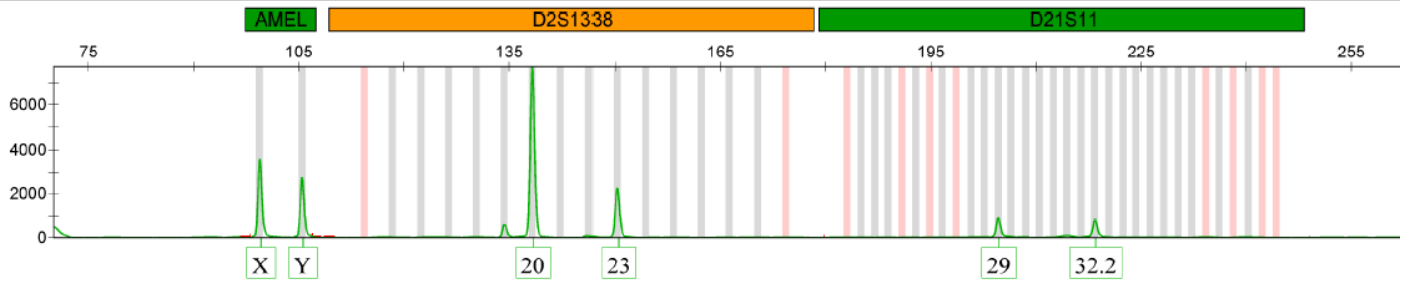


## APÊNDICE F – Perfil genético obtido de IP; Suporte metal – Revelador Cianocrilato

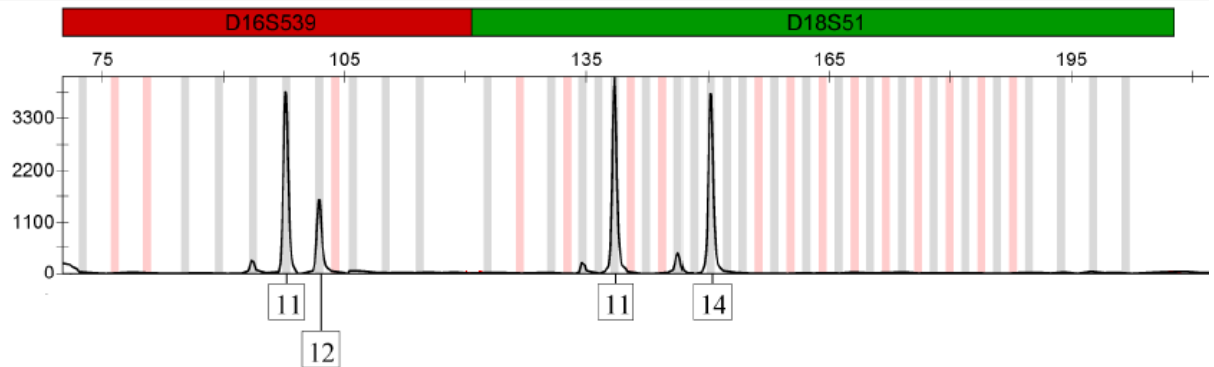
Sample File	Sample Name	Panel
C5_20-09-2018_F04_2016-01-04-11-58-59.hid	C5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



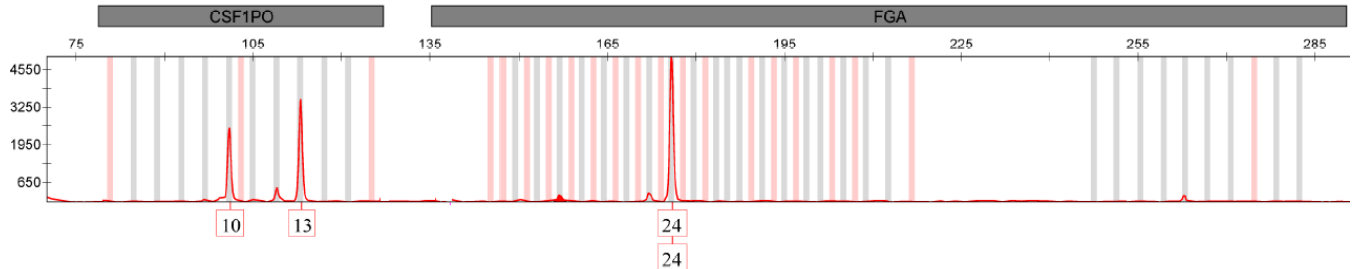
Sample File	Sample Name	Panel
C5_20-09-2018_F04_2016-01-04-11-58-59.hid	C5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



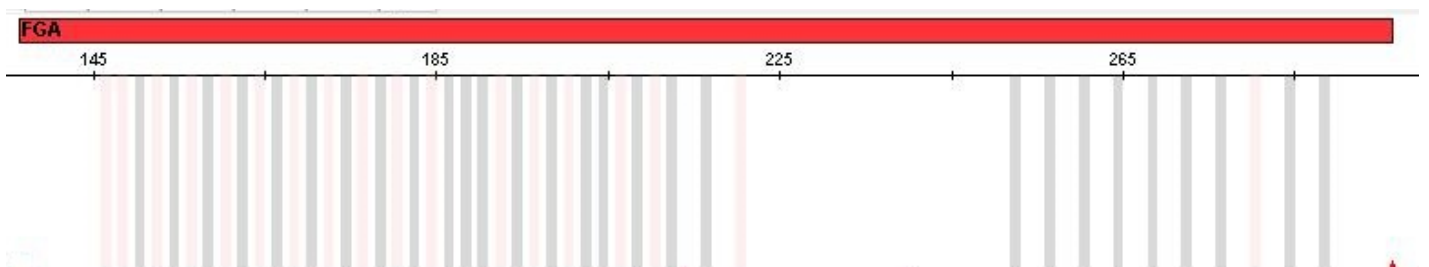
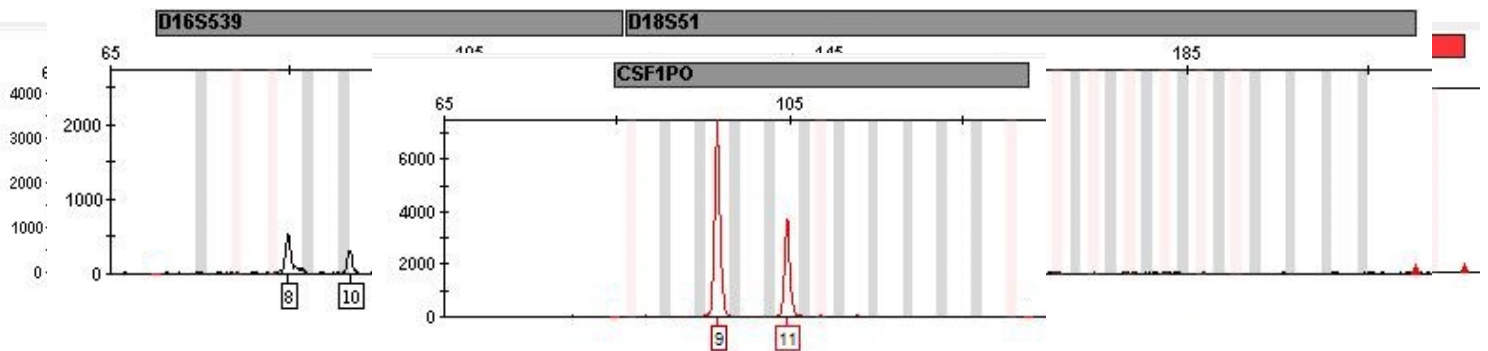
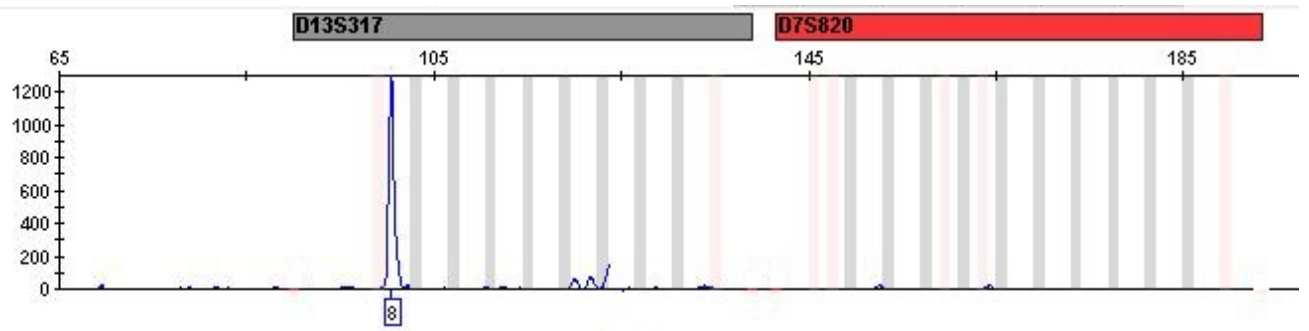
Sample File	Sample Name	Panel
C5_20-09-2018_F04_2016-01-04-11-58-59.hid	C5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



Sample File	Sample Name	Panel
C5_20-09-2018_F04_2016-01-04-11-58-59.hid	C5_20-09-2018	MiniFiler_GS500_v1X



## APÊNDICE G – Perfil genético obtido de IP; Suporte papel – Revelador Magnético





## APÊNDICE H – Produção Científica

Os resultados da padronização de metodologia para a recuperação de perfil genético a partir de impressões digitais reveladas, desenvolvidos neste trabalho, foram apresentados na forma de pôster e apresentação oral, na conferência internacional de Ciências Forenses: *Interforensics*, em maio de 2017, na cidade de Brasília, com o título “*Genetic Profiling of Enhanced Fingerprints Deposited on Military Firearms*”.

Em setembro de 2017, resultados parciais obtidos até então foram divulgados no congresso internacional 27<sup>th</sup> *Congress of the International Society for Forensic Genetics*, ocorrido na cidade de Seoul, na Coreia do Sul, e publicados na revista *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, com o título “*Efficiency of DNA recovery from fingerprints enhanced with black and magnetic powders*” (ANEXO D).

Em outubro do mesmo ano, algumas análises por PCR em tempo real relativas às metodologias desenvolvidas neste trabalho foram discutidas no congresso internacional 28<sup>th</sup> *International Symposium on Human Identification (ISHI)*, ocorrido em Seattle – Washington, nos EUA, com o título “*qPCR analysis of enhanced fingerprints deposited on Brazilian military firearms*”.

Em 26 de dezembro de 2018, como resultado de uma parceria estabelecida entre as instituições Universidade do Estado do Rio de Janeiro e Instituto de Biologia do Exército com a Universidade Federal de Goiás (UFG), foi depositada uma patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), sob o número de registro BR102018077061, intitulada “Fósforos Luminescentes a Base de Titânio com Substituintes para Revelação de Impressões Digitais Latentes”, na qual a metodologia desenvolvida neste trabalho foi aplicada para avaliar a possibilidade de recuperação de perfil de DNA de impressões papilares impregnadas com um novo revelador datiloscópico desenvolvido na UFG no Laboratório de Óxidos Funcionais Nanoestruturados (LOFN).

Em maio de 2019, as conclusões acerca da temática apresentada obtidas com a realização deste trabalho serão divulgadas na forma de pôster na conferência internacional de Ciências Forenses: *Interforensics*, que ocorrerá em São Paulo, SP.

## ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (Emenda) (continua)



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Metodologia para Identificação de Perfil Genético em Impressões Papilares Latentes como Proposta de Emprego na Perícia Criminal Militar.

**Pesquisador:** Thais Patrício de Oliveira

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 2

**CAAE:** 48026615.6.0000.5259

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CULTURA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA DO EXERCITO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.790.600

**Apresentação do Projeto:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Objetivo da Pesquisa:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Justificativa da Emenda:

A perspectiva da pesquisa inicial foi estendida sendo que, as amostras biológicas coletadas e todo o procedimento inerente a coleta de tais permanecem o mesmo. A emenda é requerida para informar ao Comitê de Ética em Pesquisa que as amostras depois de coletadas serão tratadas com reveladores químicos (específicos para as impressões digitais) comumente utilizados nas perícias

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

## ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (Emenda) (continuação)



Continuação do Parecer: 1.790.600

criminais militares, sem que isso, de modo algum, afete os voluntários envolvidos. O propósito da pesquisa continua a ser a recuperação de DNA e geração de perfil genético destas amostras, de modo a melhorar a qualidade das perícias e a resolução de casos relacionados. Ainda, informar a inclusão da pesquisadora Ludmila Alem que participará no desenvolvimento desta nova etapa.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os Termos de apresentação obrigatória estão de acordo com a legislação pertinente e devidamente assinados pelos responsáveis.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A emenda apresenta todas informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_794673 E1.pdf	28/09/2016 11:19:39		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Detalhado Thais.docx	23/07/2015 08:49:45		Aceito
Outros	TCUD_final_julho.pdf	23/07/2015 08:27:49		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_julho_final.pdf	22/07/2015 11:52:14		Aceito

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

## ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (Emenda) (conclusão)



Continuação do Parecer: 1.790.600

Outros	Carta de Anuência_final_julho.pdf	02/07/2015 10:47:13		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração de Instituição Coparticipante_final.pdf	02/07/2015 10:45:52		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE final.doc	02/07/2015 09:12:06		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 18 de Outubro de 2016

---

**Assinado por:**  
**MARIO FRITSCH TOROS NEVES**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

## ANEXO B – Justificativa da Emenda (continua)



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP  
**PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS**

Projeto de Pesquisa: Metodologia para Identificação de Perfil Genético em Impressões Papilares Latentes como Proposta de Emprego na Perícia Criminal Militar.

**Informações Preliminares**

**Responsável Principal**

CPF/Documento: 084.765.167-38	Nome: Thais Patrício de Oliveira
Telefone: (21) 8079-7667	E-mail: thais.ibex@hotmail.com

**Instituição Proponente**

CNPJ: 33.540.014/0017-14	Nome da Instituição: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ
--------------------------	--

**Essa submissão de emenda é exclusiva do seu Centro Coordenador?**

A emenda não é exclusiva de seu Centro Coordenador, então quando a emenda for aprovada, esta SERÁ replicada nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes.

É um estudo internacional? Não

■ **Assistentes**

CPF/Documento	Nome
416.562.348-23	LUDMILA ALEM

■ **Equipe de Pesquisa**

CPF/Documento	Nome
002.484.217-60	DAYSE APARECIDA DA SILVA
416.562.348-23	LUDMILA ALEM

**Área de Estudo**

**Área Temática Especial**

Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.)

**Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)**

- Grande Área 2. Ciências Biológicas

**Título Público da Pesquisa:** Metodologia para Identificação de Perfil Genético em Impressões Papilares Latentes como Proposta de Emprego na Perícia Criminal Militar.

**Contato Público**

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
084.765.167-38	Thais Patrício de Oliveira	(21) 8079-7667	thais.ibex@hotmail.com

**Contato** Thais Patrício de Oliveira

## ANEXO B – Justificativa da Emenda (conclusão)

**Upload de Documentos**

---

**Arquivo Anexos:**

Tipo	Arquivo
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE final.doc
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração de Instituição Coparticipante_final.pdf
Outros	Carta de Anuência_final_julho.pdf
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_julho_final.pdf
Outros	TCUD_final_julho.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Detalhado Thais.docx

**Finalizar**

Manter sigilo da integra do projeto de pesquisa: Não

**Justificativa da Emenda:**

A perspectiva da pesquisa inicial foi estendida sendo que, as amostras biológicas coletadas e todo o procedimento inerente a coleta de tais permanecem o mesmo. A emenda é requerida para informar ao Comitê de Ética em Pesquisa que as amostras depois de coletadas serão tratadas com reveladores químicos (específicos para as impressões digitais) comumente utilizados nas perícias criminais militares, sem que isso, de modo algum, afete os voluntários envolvidos. O propósito da pesquisa continua a ser a recuperação de DNA e geração de perfil genético destas amostras, de modo a melhorar a qualidade das perícias e a resolução de casos relacionados. Ainda, informar a inclusão da pesquisadora Ludmila Alem que participará no desenvolvimento desta nova etapa.

**ANEXO C – Comprovação de submissão do artigo científico (continua)**

Elsevier Editorial System(tm) for Forensic  
Science International  
Manuscript Draft

Manuscript Number: FSI-D-18-00901

Title: Sodium chloride as a swabbing solution for DNA collection from latent fingerprints for military application.

Article Type: Original Research Article

Keywords: crime scene; military; latent fingerprints; forensic biology; forensic DNA typing; swabbing solution; touch DNA.

Corresponding Author: Miss Ludmila Alem, Bachelor

Corresponding Author's Institution: Rio de Janeiro State University

First Author: Ludmila Alem, Bachelor

Order of Authors: Ludmila Alem, Bachelor; Thais P de Oliveira; Elizabeth V de Souza Braz; Olivia Cristina L dos Santos; Tatiana Lucia S Nogueira; Elizeu F de Carvalho; Dayse A da Silva

Abstract: Latent fingerprints are a commonly used investigative tool used not only by police forces, but also by military forensic experts. One of the most routinely forensic investigation conducted within the Brazilian Army is due crimes against the patrimony where fingerprint analysis is an efficient way of identifying perpetrators. DNA analysis of smudged or incomplete prints can be a complementary methodology making full use of the evidence. Considering the context of crime scene analysis within the Brazilian Army, we assessed the use of Sodium Chloride 0.9% (NaCl) as a swabbing solution for DNA collection from fingerprints deposited on glass and metal surfaces combined with Lysis solution methodology for DNA extraction. A commercially available kit (QIAamp® Investigator Kit by Qiagen) was also tested in a pre-experimental phase. Also, we compared the results obtained from using Sodium Dodecyl Sulfate 2% (SDS), a common choice of swabbing solution. The data found in this study showed no statistically significant difference regarding the recovery of DNA from latent fingerprints between the two tested solutions. However, the use of NaCl 0.9% as a collection solution combined with lysis solution as an extraction method has the advantage of less time-consuming and lower costs overall.

## ANEXO C – Comprovação de submissão do artigo científico (conclusão)

\*Manuscript (without author details)

[Click here to view linked References](#)

1 **Sodium chloride as a swabbing solution for DNA collection from latent fingerprints for**  
2 **military application.**

3

### 4 **Abstract**

5 Latent fingerprints are a commonly used investigative tool used not only by police forces, but  
6 also by military forensic experts. One of the most routinely forensic investigation conducted  
7 within the Brazilian Army is due crimes against the patrimony where fingerprint analysis is an  
8 efficient way of identifying perpetrators. DNA analysis of smudged or incomplete prints can be  
9 a complementary methodology making full use of the evidence. Considering the context of  
10 crime scene analysis within the Brazilian Army, we assessed the use of Sodium Chloride 0.9%  
11 (NaCl) as a swabbing solution for DNA collection from fingerprints deposited on glass and  
12 metal surfaces combined with Lysis solution methodology for DNA extraction. A commercially  
13 available kit (QIAamp<sup>®</sup> Investigator Kit by Qiagen) was also tested in a pre-experimental phase.  
14 Also, we compared the results obtained from using Sodium Dodecyl Sulfate 2% (SDS), a  
15 common choice of swabbing solution. The data found in this study showed no statistically  
16 significant difference regarding the recovery of DNA from latent fingerprints between the two  
17 tested solutions. However, the use of NaCl 0.9% as a collection solution combined with lysis  
18 solution as an extraction method has the advantage of less time-consuming and lower costs  
19 overall.

20 *Keywords:* Crime Scene, Military, Latent Fingerprints, Forensic biology, Forensic DNA typing,  
21 Swabbing solution, Touch DNA.

22

### 23 **1. Introduction**

24 Fingerprint analysis is one of the oldest human identification techniques used in forensic  
25 caseworks [1]. Fingerprint features are valuable evidence that can link an individual to crime  
26 through dactyloscopic analysis and serve as a source for DNA that was transferred by contact  
27 [1] [2]. In a non-controlled environment, such as a crime scene, latent fingerprint may be  
28 smudged resulting in the loss of friction ridge detail leading to insufficient data not suitable for  
29 comparison with a questioned sample. In this context, an attempt to generate a genetic profile  
30 from the fingerprint is a valuable approach to make full use of the evidence [2].

31 Improvement of DNA recovery and genetic analysis methodologies for latent fingerprints may  
32 be achieved with better understanding regarding its origins and nature [3]. Skin surface DNA  
33 transferring mechanisms are complex and remain a subject of study. Some authors claim that  
34 skin cells are nucleated and naturally release DNA during the desquamation process [4] [5] [6]  
35 while others postulate that during the skin cellular differentiation (keratinization) cells undergo  
36 gradual nucleus shrinkage and chromatin condensation becoming DNA free as they migrate  
37 through skin layers. Therefore, they could not donate DNA to surfaces. It has also been  
38 postulated that nucleated skin cells in latent fingerprints are transferred from other body areas  
39 [7]. Also, some studies advocate that there is a residual quantity of DNA in keratinocytes due to  
40 incomplete DNA degradation during the differentiation process [8] [9] [10] [11].

41 Nevertheless, the deposition of DNA on objects at a crime scene is intimately related with the  
42 skin proliferation rate, which varies between individuals [12]. Based on their propensity to shed  
43 skin cells through contact individuals can be characterized as good and bad shedders, with the



## ANEXO D – Artigo científico publicado na revista *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* (continua)

Forensic Science International: Genetics Supplement Series 6 (2017) e490–e491



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fsigss](http://www.elsevier.com/locate/fsigss)



### Efficiency of DNA recovery from fingerprints enhanced with black and magnetic powders

L. Alem<sup>a,b,\*</sup>, E.S.B. Valentin<sup>a,b</sup>, M.A. Cunha<sup>c</sup>, O.C.L. Santos<sup>b</sup>, T.L.S. Nogueira<sup>a,b</sup>, E.F. Carvalho<sup>a</sup>, D.A. Silva<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Diagnósticos por DNA, DECOL, IBRAG, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup> Instituto de Biologia do Exército, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>c</sup> Universidade do Grande Rio, Rio de Janeiro, Brazil



#### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Crime scene  
Latent fingerprints  
Forensic DNA typing  
Black powder  
Magnetic powder

#### ABSTRACT

Given the fragility of fingerprints, even after development with suitable dactyloscopy techniques, failure in identifying its authorship may occur. In these cases, studying the DNA transferred during fingerprints deposition may represent a timely approach. We aimed to determine the feasibility of obtaining a genetic profile after fingerprint enhancement with black and magnetic powders commonly used by forensic experts on glass surfaces. Samples were processed with NaCl 0.9% as a collection solution, lysis solution methodology for DNA extraction followed by purification and concentration with Amicon<sup>®</sup> 100 column pretreated with 2.0 ng Poly An RNA. A set of fingerprints was initially profiled using CS7 PowerPlex<sup>®</sup> Kit (Promega). Preliminary results indicate that for glass surfaces, black powder is a better technique of choice whenever dactyloscopy features do not provide a successful identification, and genetic analysis is required for this type of evidence.

#### 1. Introduction

Regarding dactyloscopy analysis, whenever a fingerprint does not return a successful identification, current molecular biology techniques can be applied in order to recover a DNA profile from these vestiges. Considering the potentiality of this type of evidence, we studied the efficiency of profiling fingerprints enhanced with Black and Magnetic Powder, commonly used by forensic experts.

#### 2. Material and methods

##### 2.1. Substrate preparation

Microscopy glass slides were selected to mimic glass surfaces. All slides were decontaminated with sodium hypochlorite 10%, followed by ethanol 70% and UV sterilization 20 min prior to fingerprints deposition.

##### 2.2. Fingerprint transfer, enhancement, and collection

Volunteers were asked to rub their index finger across their faces and hair as this process would maximize DNA yield as more cells would be transferred from those body areas to the fingertips [1] After this

procedure, volunteers pressed the microscopy glass slides during the 30 s [2] and the fingerprints were enhanced with Black Fingerprint Powder or Magnetic Latent Print Powder (Sirchie<sup>®</sup>) according to the manufacturer's instructions. A total amount of forty slides were processed for this study. Half of the slides were processed with black powder as fingerprint enhancement technique and the other half were processed with magnetic black powder.

The double swab technique [3,4] was used to maximize cell collection: the fingerprints were first collected with a sterile swab moistened with sodium chloride 0.9% as a swabbing solution [5] followed by a sterile dry swab. The swabs generated for each fingerprint were individually processed for DNA extraction and the contents were mixed for the further proceedings.

##### 2.3. DNA extraction

Cotton from both swabs were cut with a scalpel blade, added to the individual microcentrifuge tubes and submitted to DNA isolation by Lysis Solution (SDS 0.05% + Proteinase K 20 mg/mL) according to the protocol 56 °C for 30 min at 1400 RPM, 100 °C for 10 min (no agitation), 4 °C for 5 min [6,7]. The concentration of the extract (final volume obtained is approximately 100 µl) and removal of the SDS was accomplished through centrifugation in Microcon<sup>®</sup> Centrifugal Filters

\* Corresponding author at: Brazilian Army Institute of Biology, Francisco Manuel Street, 102, Benfica, Rio de Janeiro, 20911-270, Brazil.

E-mail address: [ludmila.alem@msn.com](mailto:ludmila.alem@msn.com) (L. Alem).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.186>

Received 2 September 2017; Accepted 24 September 2017

Available online 25 September 2017

1875-1768/ © 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## ANEXO D – Artigo científico publicado na revista *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* (conclusão)

L. Alem et al.

*Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 6 (2017) e490–e491

**Table 1**

Quantification data assay obtained from fingerprints deposited in a glass surface and enhanced with different dactyloscopic powders. Sample space = 20.

Surface	Enhancement Powder	DNA concentration range (pg/ $\mu$ L)	DNA concentration (pg/ $\mu$ L) <sup>a</sup>	Standard deviation
Glass	Black Fingerprint Powder	7.0–923.8	126.9	225.6
Glass	Magnetic Latent Print Powder	6.0–2,223.4	190.9	486.5

<sup>a</sup> DNA concentration mean for all samples analyzed.

0.5 ml 100 K (Merck Millipore) for 10 min [8] pretreated with 2.0 ng of Poly A RNA generating 19  $\mu$ l as a final volume.

### 2.4. Quantification and STR analysis

Quantification assay was carried out using Investigator<sup>®</sup> Quantiplex (Qiagen<sup>®</sup>) and StepOnePlus<sup>™</sup> Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Extraction products were amplified using CS7 PowerPlex<sup>®</sup> Kit (Promega) and Veriti<sup>®</sup> 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) according to the manufacturer's instructions.

### 3. Results

The results obtained from the quantification assay (Table 1) indicate a higher DNA mean for the fingerprints enhanced with magnetic powder. However, high standard deviation values were obtained for both groups of samples examined corroborating previous studies on cell donor variation [9].

Hence, the effectiveness of DNA recovery regarding the samples studied is based on STR analysis. Considering fourteen alleles, the total number of alleles possible to be recovered for each volunteer within each group assessed (surface + dactyloscopy powder), 66% of alleles were recovered for the group glass + Black Powder and 35% for the group glass + Magnetic Powder. Electropherogram for the samples shows allele drop-out or complete absence of amplification in the largest loci (data not-shown).

### 4. Discussion

As observed in the quantitative assay, a higher DNA yield was obtained for the fingerprints enhanced with Magnetic Powder. However, the STR analysis of such samples was less efficient (35% of the allele recovered) than the genotyping of the samples enhanced with Black Powder (66% of allele recovered). The absence of amplification or the drop-out of allele is an expected behavior in the processing of contaminated or degraded samples, and yet, in low copy number samples such as fingerprints [10]. Even after the purification and concentration process conducted with Microcon<sup>®</sup> filters, it is possible to observe that the Magnetic Powder has a more interfering effect on the genotyping of the fingerprints. According to Daly et al., the type of surface is a strong variable that interferes with nucleic acids recovery [11]. Also, it is known that the composition of the fingerprint is complex and multifaceted [12] due to the influence of numerous factors intrinsic to each person and environmental conditions [13]. Hence, beyond the presence of specific dactyloscopy powders, the number of variables that can

affect the success of genotyping of fingerprints must be considered.

### 5. Conclusion

Preliminary results indicate that for glass surfaces, Black Powder could be a better technique of choice whenever dactyloscopy features do not provide a successful identification, and genetic analysis is required for this type of evidence.

The continuity of such study with the expansion of sample space will allow the production of statistically robust data and the effective development of guidelines for the improvement of criminal investigations.

### Role of funding

CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) Edital Pro-defesa No. 031/2013.

### Conflict of interest

None declared.

### Acknowledgments

The authors would like to thank the Brazilian Army volunteers that donate their fingerprints for this study.

### References

- [1] S.J. Fieldhouse, N. Kalantzis, A.W.G. Platt, Determination of the sequence of latent fingerprints and writing or printing on white office paper, *Forensic Sci. Int.* 206 (1–3) (2011) 155–160 (Elsevier Ireland Ltd).
- [2] R.K. Farnen, R. Jagho, P. Cortez, E.S. Froyland, Assessment of individual shedder status and implication for secondary DNA transfer, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.* 1 (1) (2008) 415–417.
- [3] B.C.M. Pang, B.K.K. Cheung, Double swab technique for collecting touched evidence, *Leg. Med.* 9 (4) (2007) 181–184.
- [4] T.J. Verdon, R.J. Mitchell, R.A.H. van Oorschot, Swabs as DNA collection devices for sampling different biological materials from different substrates, *J. Forensic Sci.* 59 (4) (2014) 1080–1089.
- [5] T.P. Oliveira, T.L.S. Nogueira, E.S.B. Valentin, O.C.L. Santos, E.F. Carvalho, D.A. Silva, Evaluation of collection and extraction methodologies of latent fingerprints for military application, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.* 5 (2015) 474–475.
- [6] J.A. Nicklas, E. Buel, Development of an Alu-based, real-time PCR method for quantification of human DNA in forensic samples, *J. Forensic Sci.* 48 (5) (2003) 1–9.
- [7] R. Kishore, W.R. Hardy, V.J. Anderson, N.A. Sanchez, M.R. Buoncristiani, Optimization of DNA extraction from low-yield and degraded samples using the BioRobot<sup>®</sup> EZ1 and BioRobot<sup>®</sup> M48, *J. Forensic Sci.* 51 (5) (2006) 1055–1061.
- [8] J. Sewell, I. Quinones, C. Ames, B. Multaney, S. Curtis, H. Seeboroth, et al., Recovery of DNA and fingerprints from touched documents, *Forensic Sci. Int. Genet.* 2 (4) (2008) 281–285.
- [9] R.A. Wickenheiser, Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact, *J. Forensic Sci.* 47 (May (3)) (2002) 442–450.
- [10] I. Soltyzowski, M. Szeremeta, M. Skawrońska, A. Niemcunowicz-Janica, W. Pepiński, Typeability of DNA in touch traces deposited on paper and optical data discs, *Adv. Clin. Exp. Med.* 24 (2015) 437–440.
- [11] D.J. Daly, C. Murphy, S.D. McDermott, The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood, *Forensic Sci. Int. Genet.* 6 (1) (2012) 41–46 (Elsevier Ireland Ltd).
- [12] R.S. Croxton, M.G. Baron, D. Butler, T. Kent, V.G. Sears, Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 199 (1–3) (2010) 93–102 (Elsevier Ireland Ltd).
- [13] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingerprint residue: a qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (1–3) (2012) 10–24.