



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**BÁRBARA GOMES DE OLIVEIRA BESSA**

**ANÁLISE DO DNA DE CONTATO OBTIDO DE IMPRESSÕES LABIAIS E  
BEBIDAS: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES VARIÁVEIS NA PERSISTÊNCIA DE  
AMOSTRAS DESAFIADORAS**

VITÓRIA, ES

2023

**BÁRBARA GOMES DE OLIVEIRA BESSA**

**ANÁLISE DO DNA DE CONTATO OBTIDO DE IMPRESSÕES LABIAIS E  
BEBIDAS: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES VARIÁVEIS NA PERSISTÊNCIA DE  
AMOSTRAS DESAFIADORAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Iúri Drumond Louro

Co-orientadora: Prof. Dra. Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos

VITÓRIA, ES

2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

B557a Bessa, Bárbara Gomes de Oliveira, 1994-  
Análise do DNA de contato obtido de impressões labiais e bebidas: influência de diferentes variáveis na persistência de amostras desafiadoras / Bárbara Gomes de Oliveira Bessa. - 2023.  
60 f.

Orientador: Iúri Drumond Louro.  
Coorientadora: Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Genética Forense. 2. Biologia molecular. 3. DNA de contato. 4. Impressões labiais. 5. Touch DNA. 6. Lip-prints. I. Louro, Iúri Drumond. II. Santos, Eldamária de Vargas Wolfgramm dos. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

---



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

Ata da 213ª sessão de Defesa de Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, da discente BÁRBARA GOMES DE OLIVEIRA BESSA, realizada às 13:30h do dia vinte e três de fevereiro do ano dois mil e vinte e três (23/02/2023), na sala de webconferência do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Dissertação intitulada "ANÁLISE DO DNA DE CONTATO OBTIDO DE IMPRESSÕES LABIAIS E BEBIDAS: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES VARIÁVEIS NA PERSISTÊNCIA DE AMOSTRAS DESAFIADORAS". A sessão pública foi realizada em formato virtual, por meio do link <https://meet.jit.si/pgbiotecnologiaufes>. O presidente da Banca, Prof. Dr. Iúri Drumond Louro (orientador), apresentou os demais membros da comissão examinadora constituída pelos Doutores: Profª Drª Flávia de Paula, Universidade Federal do Espírito Santo - examinadora interna; Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho, Universidade Estadual do Rio de Janeiro - examinador externo, e passou a palavra para a aluna que apresentou a sua proposta de dissertação. Terminada a apresentação, a banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar a mestranda APROVADA na defesa de Mestrado. Eu, Iúri Drumond Louro, que presidi a Banca de defesa, assino a presente Ata, juntamente com os demais membros e dou fé. Vitória, 23 de fevereiro de 2023.

Iúri Drumond Louro - orientador  
Universidade Federal do Espírito Santo

Flávia de Paula - examinadora interna  
Universidade Federal do Espírito Santo

Elizeu Fagundes de Carvalho - examinador externo  
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Documento assinado digitalmente  
ELIZEU FAGUNDES DE CARVALHO  
Data: 24/02/2023 11:57:56 -0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>



Campus Universitário Maruípe – Av. Maruípe, 1468 – Maruípe, Vitória – ES | 29047-185 |  
Tel. e Fax: (27) 3335-9501 | <http://www.biotecnologia.ufes.br/> | [pgbiotecnologia@gmail.com](mailto:pgbiotecnologia@gmail.com)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
**FLAVIA DE PAULA - SIAPE 2441743**  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 24/02/2023 às 10:21

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/656783?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por IURI DRUMOND LOURO - SIAPE 1360120  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 24/02/2023 às 09:36

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/658709?tipoArquivo=O>

## **AGRADECIMENTOS**

A UFES e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela oportunidade de desenvolver o presente estudo.

A CAPES e FAPES pelo suporte financeiro que permitiu a execução do trabalho.

Ao orientador Lúri Drumond Louro, pela orientação, apoio e compreensão.

A coorientadora Eldamária de Vargas Wolfgram dos Santos pela orientação, apoio, suporte e ensinamentos que foram fundamentais para o desenvolvimento do projeto e para a minha construção como cientista.

Ao professor Elizeu F. de Carvalho e as professoras Flávia de Paula, Flavia Errera e Débora Drummer por comporem a banca examinadora e contribuírem com valiosas sugestões para o presente estudo.

A Julia Del Piero Pereira pela parceria e apoio durante a execução do trabalho.

A querida amiga de infância Tarsila Marília de Oliveira pelas palavras, ensinamentos e suporte durante os momentos finais dessa jornada.

A todos do Núcleo de Genética Humana e Molecular que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento do estudo.

Aos meus amigos e familiares pelo apoio, suporte e motivação que foram essenciais para a conclusão do trabalho.

*“Ninguém é tão grande que não possa aprender e nem tão pequeno que não possa ensinar”. (Esopo)*

## RESUMO

BESSA, B.G.O. **Análise do DNA de contato obtido de impressões labiais e bebidas: influência de diferentes variáveis na persistência de amostras desafiadoras**. 2023. 60f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Com o avanço das técnicas de biologia molecular, as amostras de DNA de contato passaram a ser mais exploradas e utilizadas na área das ciências forenses. Dentre as amostras de contato existentes, as impressões labiais são fontes de DNA e podem ser utilizadas em contextos investigativos. Esse tipo de amostra desafiadora pode ser encontrado em locais de crime em recipientes de bebidas, como copos, latas e garrafas. Além disso, os líquidos remanescentes dessas bebidas também são considerados potenciais fontes de DNA e podem ser utilizados no âmbito forense. O objetivo desse estudo foi investigar a viabilidade de obter DNA a partir de amostras de contato provenientes de impressões labiais e de bebidas. Além disso, verificou-se se variáveis como temperatura, umidade, exposição a luz solar e tempo influenciam na obtenção desse material genético. Durante o experimento, 4 voluntários foram solicitados a beber água, em um copo de vidro, e refrigerante, em uma lata de alumínio. Amostras do DNA de contato depositadas nas superfícies foram coletadas 24 e 72 horas depois de sua deposição. As coletas foram realizadas utilizando suabe. Os líquidos remanescentes dos recipientes foram coletados com o auxílio de uma pipeta de pasteur. O DNA foi extraído por meio da extração orgânica e quantificado por duas metodologias diferentes (Nanodrop e kit Qubit). De acordo com os resultados, a quantificação utilizando o kit Qubit foi mais eficaz e específica quando comparada com o Nanodrop. Não foi possível detectar correlação entre temperatura/umidade e a quantidade de DNA recuperado. A exposição direta a luz solar demonstrou ter efeitos significativos ( $p < 0,05$ ), principalmente nas amostras depositadas nas superfícies de alumínio. Os resultados relacionados com a variável tempo também indicaram diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) quando analisados juntamente com a exposição a luz solar. Em relação aos líquidos, as variáveis tempo e luz solar não demonstraram influência significativa ( $p > 0,05$ ) no rendimento do

DNA obtido. A partir desses resultados, foi constatado que é possível obter DNA a partir de amostras de contato provenientes de impressões labiais e bebidas com uma metodologia de baixo custo. Além disso, nota-se que o rendimento desse tipo de amostra pode ser significativamente afetado por variáveis do ambiente, principalmente a luz solar.

Palavras-chave: DNA de contato. Impressões labiais. Recipientes de bebidas. Vidro. Alumínio.

## **ANALYSIS OF CONTACT DNA OBTAINED FROM LIP PRINTS AND BEVERAGES: INFLUENCE OF DIFFERENT VARIABLES ON THE PERSISTENCE OF CHALLENGE SAMPLES**

### **ABSTRACT**

BESSA, B.G.O. Analysis of touch DNA obtained from lip-prints and beverages: influence of different variables on the persistence of challenge samples. 2023. 60p. Dissertation (Master's in biotechnology) - Postgraduation Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

With the advancement of molecular biology techniques, contact DNA samples have become more explored and used in the field of forensic sciences. Among the existing contact samples, lip prints are sources of DNA and can be used in investigative contexts. This type of challenging sample can be found at crime scenes in beverage containers such as glasses, cans and bottles. In addition, the remaining liquids of these drinks are also considered potential sources of DNA and can be used in forensics. The aim of this study was to investigate the feasibility of obtaining DNA from contact samples from lip prints and beverages. In addition, it was verified whether variables such as temperature, humidity, exposure to sunlight and time influence the obtaining of this genetic material. During the experiment, 4 volunteers were asked to drink water, in a glass, and soda, in an aluminum can. Contact DNA samples deposited on the surfaces were collected 24 and 72 hours after their deposition. The collections were performed using swab. The remaining liquids in the containers were collected with the aid of a pasteur pipette. DNA was extracted

through organic extraction and quantified by two different methodologies (Nanodrop and Qubit kit). According to the results, the quantification using the Qubit kit was more effective and specific when compared with the Nanodrop. It was not possible to detect correlation between temperature/humidity and the amount of recovered DNA. Direct exposure to sunlight was shown to have significant effects ( $p < 0.05$ ), especially on samples deposited on aluminum surfaces. The results related to the time variable also indicated statistical differences ( $p < 0.05$ ) when analyzed together with exposure to sunlight. Regarding liquids, the variables time and sunlight did not show a significant influence ( $p > 0.05$ ) on the DNA yield obtained. From these results, it was found that it is possible to obtain DNA from contact samples from lip prints and drinks with a low-cost methodology. In addition, it is noted that the yield of this type of sample can be significantly affected by environmental variables, mainly sunlight.

Key words: Touch DNA. Lip-prints. Drink Containers. Glass. Aluminum.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelo esquemático da metodologia empregada.....	33
Figura 2. Quantificador NanoDrop™ One Microvolume UV Spectrophotometer. Fonte: Thermo Fischer Scientific Website. ....	34
Figura 3. Quantificador Qubit 4 Fluorometer. Fonte: Thermo Fischer Scientific Website. ....	35
Figura 4. Comparação de performance dos métodos de quantificação utilizados (Nanodrop e Qubit) para analisar as amostras de DNA de contato de acordo com as variáveis propostas. O teste ANOVA-Two-Way foi escolhido para essa análise. ....	37
Figura 5. Teste de Correlação de Spearman. (A) Análise da correlação entre temperatura e quantidade de DNA obtido e (B) umidade e quantidade de DNA.....	40
Figura 6. Análise da influência da exposição de luz solar direta e indireta nas amostras de contato depositadas nas superfícies de vidro e alumínio (Test T unpaired). ....	41
Figura 7. Análise da influência da exposição de luz solar direta e indireta nas amostras de contato presentes nas matrizes líquidas (Test T unpaired). ....	42
Figura 8. Análise por Test T da influência do tempo nas amostras de contato depositadas nas superfícies de vidro e alumínio. ....	43
Figura 9. Análise por Test T para avaliar a influência do tempo nas amostras de contato presentes nas matrizes líquidas. ....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Amostras de DNA de contato quantificadas por Nanodrop (N) e Qubit (Q) (ng/ $\mu$ L).....39

Tabela 2. Concentrações medias obtidas das superficies/matrizes propostas. ....45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i> )
PCR	Reação em cadeia da Polimerase (do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i> )
RFLP's	Polimorfismos de Comprimento de fragmentos de restrição do DNA (do inglês <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> )
STR	Repetições curtas em tandem (do inglês <i>Short Tandem Repeats</i> )
VNTRs	Repetição em Tandem de Número Variável (do inglês <i>Variable Number of Tandem Repeats</i> )
°C	Graus Celsius
h	Horas
INCAPER	Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural
M <sub>d</sub>	Mediana
μL	Microlitros
mL	Mililitros
min	Minutos
M	Molar
ng	Nanogramas
ng/μL	Nanogramas por microlitro
rpm	Rotações por minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
2.1 LOCAL DE CRIME, VESTÍGIOS E EVIDÊNCIAS .....	19
2.2 O DNA E A SUA ESTRUTURA .....	20
2.3 DNA E IDENTIFICAÇÃO HUMANA .....	21
2.4 DNA DE CONTATO ( <i>TOUCH DNA</i> ).....	20
2.5 IMPRESSÕES LABIAIS ( <i>LIP-PRINTS</i> ) .....	24
2.6 IMPRESSÕES LABIAIS COMO FONTE DE DNA .....	25
2.7 VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM NA DISPONIBILIDADE DE DNA EM IMPRESSÕES LABIAIS .....	26
2.8 LÍQUIDOS/BEBIDAS COMO FONTES DE DNA.....	29
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	31
<b>3.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	31
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	31
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA .....	32
4.2 OBTENÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS DE CONTATO.....	32
4.3 CONTROLE NEGATIVO .....	30
4.4 CONTROLE POSITIVO.....	30
4.5 EXTRAÇÃO DO DNA .....	34
4.6 QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR ESPECTROFOTÔMETRO (NANODROP) .....	34
4.7 QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR QUBIT .....	35
4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	35
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	36
5.1 COLETA E EXTRAÇÃO DO DNA .....	36
5.2 AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO .....	37
5.3 EFEITO DAS VARIÁVEIS AMBIENTAIS .....	39
5.3.1 Temperatura, Umidade e possíveis influências na persistência da amostra de contato.....	39

5.3.2 <i>Lip-prints</i> , líquidos e a influência da exposição a luz solar .....	41
5.3.3 <i>Lip-prints</i> , líquidos e a influência o tempo .....	42
5.4 INFLUÊNCIA DAS SUPERFÍCIES NA OBTENÇÃO DO DNA DE CONTATO....	45
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>47</b>
<b>7 PERSPECTIVAS</b> .....	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	
<b>ANEXO I</b>	
<b>ANEXO II</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Em locais de crime, a busca por evidências que ajudem a descobrir os envolvidos e o ocorrido é uma das etapas mais importantes de uma investigação. A análise da presença de evidências físicas e/ou biológicas nesses locais deve ser cuidadosamente realizada para que a investigação seja bem-sucedida. Vestígios como impressões digitais e labiais, sangue, sêmen e urina são recorrentes nesses locais e frequentemente coletados (GINO; OMEDEI, 2011).

A Genética forense tem papel fundamental na elucidação de crimes uma vez que é responsável por identificar os indivíduos envolvidos no delito por meio da análise do DNA. Essa metodologia se tornou popular a partir dos estudos de Jeffreys e colaboradores em que foi utilizada a técnica de DNA *fingerprinting*, tornando possível a identificação humana baseada em repetidas regiões no genoma humano que apresentavam alta diversificação entre os indivíduos (DASH; SHRIVASTAVA; DAS, 2020).

Com o avanço das técnicas de Biologia Molecular, estudos começaram a explorar a possibilidade de se extrair DNA a partir de amostras de impressões digitais e labiais, também chamadas de amostras de contato. Em 1997, Van Oostojic e colaboradores realizaram um estudo constatando a viabilidade de se obter material genético a partir de amostras de contato (VAN OORSCHOT; JONES, 1997).

No caso das impressões labiais, o DNA de contato pode ser obtido a partir de objetos utilizados pelos envolvidos, como recipientes de bebidas. Apesar de ser considerada uma amostra desafiadora por apresentar pouca quantidade de material genético e baixa qualidade, o DNA de contato pode ser a única evidência presente em um determinado local de crime. Devido a isso, sua utilização é de grande valia. Além disso, as bebidas remanescentes nesses recipientes também são potenciais fontes de DNA, mas essa possibilidade foi pouco explorada no âmbito forense (ABAZ et al., 2002; BARBARO; CORMACI; BARBARO, 2009).

Ademais, diversas condições/variáveis, como tempo, temperatura, umidade, luz solar e tipo de superfície podem influenciar na persistência do DNA de contato. Além disso, características individuais das pessoas também influenciam na deposição

desse tipo de amostra. Algumas pessoas tendem a depositar mais componentes celulares nas amostras de contato do que outras, sendo classificadas como “bons” e “maus” doadores. Dessa forma, é importante que estudos abordem mais esse tópico para que seja melhor compreendido como essas variáveis afetam as amostras de contato (SESSA et al., 2019).

A análise dos efeitos dessas variáveis em amostras de contato é mais recorrente em impressões digitais, há poucos estudos que abordam esse tópico utilizando impressões labiais e líquidos/bebidas. Diante disso, é importante que estudos sejam realizados para avaliar a viabilidade de se obter DNA a partir de impressões labiais e líquidos/bebidas e analisar como variáveis ambientais afetam a persistência dessas amostras.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 LOCAL DE CRIME, VESTÍGIOS E EVIDÊNCIAS

Em investigações criminais, a análise do local de crime é uma das etapas mais importantes para que a investigação seja bem-sucedida. A etapa pré-analítica, que inclui a preservação do local, identificação, coleta, embalagem, armazenamento e transporte dos vestígios encontrados, deve ser bem executada a fim evitar perdas de vestígios que podem ser cruciais para a elucidação de delitos (MATEEN; TARIQ, 2019). Dessa forma, vestígios físicos, químicos e biológicos são ferramentas extremamente importantes para que os investigadores façam a reconstituição dos fatos que antecederam o crime e para que consigam chegar a uma conclusão correta do que aconteceu no local (GINO; OMEDEI, 2011).

A partir do momento em que os vestígios são analisados por métodos científicos, podemos chamá-los de evidências (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; GOSCH; COURTS, 2019). Existem evidências físicas que são recorrentes em locais de crimes e podem ser utilizadas para identificar os envolvidos no delito, como é o caso das impressões digitais (do inglês, *fingerprints*) e das impressões labiais (do inglês, *lip-prints*). Apesar de serem confiáveis, essas evidências físicas não fornecem o mesmo grau de confiabilidade proporcionado pelas evidências biológicas (SESSA et al., 2019).

A partir de amostras biológicas, como sangue, sêmen, saliva e urina, é possível obter DNA dos indivíduos envolvidos no delito e, assim, produzir um perfil genético com o intuito de identificar os envolvidos no crime de maneira fidedigna e confiável (GINO; OMEDEI, 2011).

É importante salientar que as condições do local de crime também devem ser bem avaliadas pois elas podem influenciar diretamente na persistência e no rendimento das evidências físicas e biológicas. A exposição a ambientes potencialmente degradantes, como sol, altas temperaturas, baixa umidade e ambientes com grande atividade de microrganismos podem interferir nos resultados das análises das evidências (GOSCH; COURTS, 2019).

## 2.2 O DNA E A SUA ESTRUTURA

Após a publicação do artigo de Watson e Crick, em 1953, que contou com importantes contribuições da pesquisadora Rosalind Franklin, a estrutura da molécula de DNA foi finalmente compreendida, a qual foi uma das contribuições mais importantes para a Biologia (ALBERTS, 2017).

A molécula de DNA (ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*), responsável por armazenar as informações genéticas dos seres vivos, é um polímero de fita dupla com formato helicoidal composta por nucleotídeos unidos covalentemente por uma ligação fosfodiéster. Os nucleotídeos têm em sua composição uma pentose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada. As bases nitrogenadas são derivadas de dois compostos denominados purinas e pirimidinas. Em relação as bases derivadas de pirimidinas, são elas timina (T) e citosina (C) e as bases derivadas de purinas são adenina (A) e guanina (G). A união entre as fitas do DNA é realizada pela ligação de hidrogênio (NELSON, 2019).

O DNA possui segmentos denominados genes que não só contêm informações genéticas dos indivíduos, mas que também são responsáveis por transferi-las para a sua prole de forma hereditária. O DNA possui um nível de organização extremamente elevado de modo que ele se associa a proteínas histonas dando origem aos cromossomos. Os seres humanos possuem 23 pares de cromossomos, sendo 22 pares de cromossomos autossômicos e 1 par de cromossomos sexuais. Os cromossomos contêm genes que estão localizados em locais chamados de *locus* gênicos (NELSON, 2019).

Dentro dos *locus* gênico é possível encontrar os genes alelos, os quais ocorrem em pares em que um é proveniente do pai e o outro da mãe, de acordo com a segunda lei de Mendel – lei da segregação independente. Apesar de se situarem no mesmo *locus* e determinarem uma mesma característica, os genes alelos não são necessariamente os iguais. Dessa forma, podemos classificar os alelos como genes alelos heterozigotos e homozigotos (NELSON, 2019).

É importante compreender a dinâmica dos genes alelos pois eles são frequentemente utilizados na Genética Forense em situações como: na realização

de exames de paternidade, na confirmação ou exclusão de pessoas a cenas de crime, na procura de pessoas desaparecidas e no confronto entre vestígios em cenas de crime com perfis genéticos cadastrados no banco de dados de DNA. Diante das informações supracitadas, a Genética desempenha um papel fundamental, tanto na esfera civil como na esfera criminal, auxiliando na elucidação de diversas investigações policiais (BODNER et al., 2016).

### 2.3 DNA E IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Durante o século vinte, os métodos de identificação humana eram preferencialmente realizados utilizando marcadores biológicos do sistema ABO, antígenos leucocitários humanos, proteínas séricas, análise das impressões digitais e análise da arcada dentária. Com o desenvolvimento de novas tecnologias, os métodos de identificação humana se aprimoraram e tornaram-se mais específicos, sensíveis, eficazes e fidedignos (ROPER; TATUM, 2008).

Com o advento da tecnologia de análise do DNA, Sir Alec Jeffreys revolucionou a ciência. Em meados de 1985, Jeffreys, juntamente com seu grupo de pesquisa, iniciou os estudos sobre a individualidade humana baseado nas análises de polimorfismos de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP's, do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Para a realização dessas análises, era necessária uma quantidade considerável de amostra, aproximadamente 250 ng (JEFFREYS et al., 1985).

Com o avanço das pesquisas, Jeffreys e colaboradores constataram que a maior parte do material genético dos humanos é idêntica entre os indivíduos. Contudo, pequenas regiões denominadas polimorfismos de minissatélites, ou também chamadas de VNTRs (do inglês, *Variable Number of Tandem Repeats*) apresentam variações únicas em suas sequências, sendo possível diferenciar as pessoas por meio dessas regiões (DIAS-FILHO et al., 2018). Devido à tal variação nas sequências de minissatélites, caracterizadas por sua unicidade e imutabilidade, técnicas laboratoriais que utilizam endonucleases de restrição são capazes de reconhecer tais sequências e cortá-las em pontos específicos. Dessa forma, é possível distinguir uma pessoa da outra, dando origem ao termo DNA *fingerprint*.

Assim, a análise do DNA *fingerprint* começou a ser utilizada para identificar pessoas fornecendo um perfil genético indivíduo-específico, sendo possível diferenciar ou correlacionar indivíduos (JEFFREYS et al., 1985; VARSHA, 2006).

Ademais, durante o século XX, o pesquisador Kary Mullis desenvolveu a técnica PCR (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*), a qual permite que fragmentos específicos do DNA sejam amplificados milhares de vezes utilizando uma enzima específica, nucleotídeos isolados e submetendo a amostra de interesse a variações cíclicas de temperatura. A enzima utilizada no processo, denominada DNA polimerase, foi isolada da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*. Tal característica de termoestabilidade é fundamental para que a PCR ocorra devido às variações de temperatura que ocorrem durante o processo (DIAS-FILHO et al., 2018).

Os avanços obtidos com a PCR e com as técnicas de análise do DNA permitiu a otimização dos processos analíticos de diversas áreas que trabalham com Biologia Molecular, incluindo a Genética Forense. Desse modo, com o passar do tempo, outros estudos foram desenvolvidos a fim de ampliar a gama de conhecimento sobre o assunto e aprimorar as técnicas já existentes. Como resultado, outras regiões polimórficas do genoma passaram a ser estudadas e utilizadas (BUTLER, 2012a; ROPER; TATUM, 2008).

Os microssatélites, ou *Short Tandem Repeats* (STRs) são polimorfismos amplamente utilizados atualmente para identificar indivíduos. A diferença entre os VNTRs e os STRs é o tamanho das repetições, os VNTRs possuem entre 10 e 100 nucleotídeos de extensão, já os STRs, possuem entre 2 e 6 nucleotídeos de extensão. Por apresentarem menor extensão, os STRs foram escolhidos como marcadores principais aplicados em análises forenses, pois, para realizar a identificação humana os marcadores genéticos que possuem maior variabilidade genética são preferíveis (BUTLER, 2012b).

As análises genéticas utilizadas no dia a dia forense são, muitas vezes, desafiadoras por envolverem amostras degradadas ou com pouca quantidade de material genético. Felizmente, os avanços técnico-científicos permitem que perfis genéticos satisfatórios sejam obtidos a partir desses tipos de amostras, de modo que possam

auxiliar na elucidação de delitos. Tais avanços são fundamentais para que haja melhoria contínua e padronização das metodologias a fim de proporcionar excelência para processos analíticos que envolvem a Genética Forense (MCKIERNAN; DANIELSON, 2017).

#### 2.4 DNA DE CONTATO (*TOUCH DNA*)

O DNA de contato (*touch DNA*) é um tipo de DNA que pode ser obtido a partir do contato de um indivíduo com alguma superfície por meio do toque. As principais fontes de DNA de contato são as impressões digitais (*fingerprints*) e as impressões labiais (*lip-prints*) (GOSCH; COURTS, 2019).

A obtenção do DNA de contato a partir de superfícies é possível devido a um processo denominado diferenciação terminal epidérmica, em que há a descamação de células da pele. Durante esse processo ocorrem mudanças morfológicas e bioquímicas nas células epiteliais que fazem com que as células migrem da camada basal da epiderme para a camada superficial. Ao passo em que ocorre tal migração, grande parte das células perdem seus núcleos e são transferidas para superfícies por meio do toque. Contudo, algumas dessas células transferidas ainda estão nucleadas, possivelmente originadas da camada granular da epiderme. A partir dessas células nucleadas perdidas é possível obter o DNA de contato (BURRILL; RAMMENO; et al., 2021; OSTOJIC; WURMBACH, 2017).

Além das células nucleadas descamadas, advindas ao processo de diferenciação terminal epidérmica, é possível que o DNA de contato se origine de outros locais, como: células nucleadas transferidas para as mãos/boca de outras partes do corpo, do DNA livre de célula encontrado no suor e até de queratinócitos anucleados lisados (BURRILL; KOMBARA; et al., 2021).

O DNA de contato resultante da transferência secundária e/ou terciária de outras partes do corpo tem sido muito estudado nos últimos anos pois a sua presença aumenta as chances de se obter uma quantidade de DNA suficiente para gerar perfis genéticos completos. Ele pode ter origem do rosto, área pubiana, saliva, epitélio bulbar (região dos olhos) e mucosa nasal (GOSCH; COURTS, 2019).

Outro tipo de DNA que tem sido explorado por estudos recentes é o DNA livre de célula (cfDNA, do inglês *cell free DNA*), também chamado de DNA extracelular. De acordo com Burrell *et al.* (2021), ele é proveniente de fluídos biológicos e está associado principalmente ao suor, em que pode-se obter aproximadamente 11,5 ng/mL de DNA.

Por fim, recentemente os queratinócitos anucleados lisados começaram a ser considerados potenciais fontes de DNA de contato. Eles compõem grande parte do material celular deixado em superfícies após o toque. Um estudo avaliou a possibilidade de obter DNA do envelope cornificado após a lise dessas células. Os resultados constataram que é possível recuperar DNA a partir dessas células, mas que o desenvolvimento de novos estudos é necessário para que otimizar tal recuperação (BURRILL; RAMMENO; *et al.*, 2021).

## 2.5 IMPRESSÕES LABIAIS (*LIP-PRINTS*)

A utilização de impressões labiais como método de identificação de indivíduos é chamada de queilosopia. Na sexta semana de vida intrauterina já é possível identificar o padrão de sulcos labiais do feto. Uma vez formado, o padrão dos sulcos labiais não se modifica, dessa forma, ele possui as características de unicidade e imutabilidade, ideal para ser utilizado como método de identificação (THERMADAM; CHATRA; AHASAN, 2020).

Na borda dos lábios existem glândulas sebáceas e sudoríparas que são responsáveis pela secreção de óleo e umidade, respectivamente. Essas secreções, ao entrarem em contato com o padrão de sulcos labiais, são responsáveis pela geração das impressões labiais latentes – não visíveis – em diversos tipos de superfícies (NEGI; NEGI, 2016).

Inicialmente, as impressões labiais eram utilizadas como uma ferramenta adicional junto as impressões digitais. Contudo, com o avanço das pesquisas, o uso isolado da queilosopia foi aceito como uma metodologia eficaz para a identificação de pessoas, principalmente em casos criminais. Ademais, a identificação de indivíduos a partir das impressões labiais pode ser feito *ante-mortem* e *post-mortem*, porém, no

segundo caso, elas devem ser coletadas no máximo 24 horas após a morte da pessoa (THERMADAM; CHATRA; AHASAN, 2020).

Além de serem importantes evidências físicas para a identificação de indivíduos com base no padrão de sulcos labiais, a literatura reporta que as impressões labiais também podem ser utilizadas para determinar origem geográfica e algumas anomalias congênitas (SHARMA et al., 2016; THERMADAM; CHATRA; AHASAN, 2020).

Em cenas de crime, é possível encontrar impressões labiais em diversos objetos, principalmente em recipiente de bebidas como copos, xícaras, bitucas de cigarro, latas de alumínio e garrafas de vidro. Elas podem estar visíveis – marcadas por cosméticos labiais – ou latentes. Caso estejam latentes, é possível utilizar métodos de revelação dessas impressões, como o pó preto (FONSECA et al., 2019; SHARMA et al., 2016). Além disso, em muitos casos, tais impressões labiais podem estar borradas e/ou manchadas, o que impossibilita a identificação de indivíduos a partir do padrão do desenho labial.

## 2.6 IMPRESSÕES LABIAIS COMO FONTE DE DNA

É sabido que, por meio da queilosopia é possível utilizar as impressões labiais para identificar indivíduos. Contudo, apesar de ser um método eficaz para tal finalidade, a utilização do DNA ainda é um método superior para a identificação de pessoas. Devido a isso, estudos começaram a explorar as impressões labiais como uma fonte de evidência biológica devido a possibilidade de se obter DNA de contato a partir delas (KANOKWONGNUWUT; KIRKBRIDE; LINACRE, 2019; SHARMA et al., 2016).

Ao serem produzidas, as impressões labiais deixam células nucleadas e células anucleadas na superfície tocada. A literatura reporta que a partir desses componentes é possível extrair DNA em uma quantidade suficiente para gerar perfis genéticos completos e satisfatórios (BURRILL; RAMMENO; et al., 2021; BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). Além disso, estudos recentes concluíram que o DNA livre de célula também pode ser obtido a partir das impressões labiais, pois na superfície dos lábios existem glândulas sudoríparas e sebáceas. O óleo e o suor

produzidos por elas são as principais fontes desse tipo de DNA (BURRILL; KOMBARA; et al., 2021).

Em locais de crime, os mais variados tipos de evidências podem ser encontrados, incluindo recipientes para beber. De acordo com um dos princípios de Locard, todo contato deixa uma marca, dessa forma, a partir do momento em que esses recipientes foram utilizados, é possível encontrar impressões labiais visíveis ou latentes, e conseqüentemente, existe a possibilidade de obter DNA para a geração de perfis genéticos (ABAZ et al., 2002; MISTEK et al., 2019).

A literatura reporta diversos estudos em que foi possível a obter perfis genéticos completos e/ou satisfatórios a partir de impressões labiais. Um estudo realizado por Webb e colaboradores (2001), avaliou a possibilidade de extrair DNA e obter perfis genéticos a partir de cosméticos labiais. De acordo com os resultados, foi constatado que os cosméticos labiais são excelentes fontes de DNA. Além disso, 44,8% dos perfis gerados foram completos e 15,8% foram apresentaram misturas. Em 2009, Barbaro e colaboradores desenvolveram um estudo em que o objetivo foi obter perfis de DNA a partir de impressões labiais deixadas na pele de voluntários. Os resultados evidenciaram que foi possível obter perfis completos, parciais e misturas. Sharma *et al.* (2016), avaliou a possibilidade de obter perfis genéticos satisfatórios a partir de impressões labiais latentes depositadas em superfícies porosas e não porosas. Os resultados mostraram que em 58,3% das amostras foi possível obter perfis completos e em 41,6% das amostras os perfis gerados foram satisfatórios. Abaz *et al.* (2002) realizou um estudo em que o objetivo foi extrair DNA e obter perfis genéticos de diferentes recipientes de bebidas. Das 96 amostras analisadas, 73 geraram perfis completos, 10 geraram perfis parciais e 13 não geram perfis.

## 2.7 VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM NA DISPONIBILIDADE DE DNA EM IMPRESSÕES LABIAIS

Por ser um tipo de amostra muito sensível e exígua, o DNA de contato está sujeito a sofrer com algumas variáveis nas fases pré-analítica e analítica que podem prejudicar os resultados ao final das análises. Fatores como o tipo de superfície, características individuais dos doadores, condições ambientais, tempo/pressão de

contato, métodos de coleta e métodos de extração e amplificação devem ser avaliados conjuntamente para garantir o sucesso da análise (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; OSTOJIC; WURMBACH, 2017).

Em relação as superfícies, elas são uma variável extremamente importante pois, de acordo com dados da literatura, algumas superfícies tendem a reter mais os componentes das amostras de contato do que outras. Além disso, essas variáveis influenciam significativamente na transferência e na deposição do conteúdo celular. Existem dois tipos principais de superfícies nesse caso: as superfícies porosas e as superfícies não porosas. No caso das superfícies porosas, elas são relatadas como melhores coletores pois as células descamadas ficam retidas em seus poros (como exemplo temos a madeira e tecidos). No caso das superfícies não porosas metal, alumínio, vidro e porcelana podem ser utilizadas como exemplo (GOSCH; COURTS, 2019; SESSA et al., 2019).

Ademais, a literatura reporta o conceito de bons doadores e maus doadores, ou seja, pessoas que deixam mais ou menos DNA durante o toque (GOSCH; COURTS, 2019; LOWE et al., 2002). Embora não haja uma base biológica concreta, alguns estudos relatam que homens são melhores doadores do que mulheres e que crianças tendem a deixarem mais DNA em superfícies tocadas do que idosos, enquanto que adultos estão em uma categoria intermediária (FONNELØP et al., 2017; POETSCH; BAJANOWSKI; KAMPHAUSEN, 2013). É importante que estudos sejam desenvolvidos para investigar essa questão pois a partir do entendimento dessa variável será possível prever os níveis de deposição de DNA e recuperar mais material genético desse tipo de amostra.

Para utilizar o DNA de contato como uma evidência, é imprescindível avaliar as condições ambientais e sanitárias em que ele foi encontrado, como exposição solar, umidade relativa do ar e atividade microbiológica do local. A exposição a ambientes extremos/degradantes diminui significativamente a persistência desse material genético, prejudicando as análises. Além disso, é importante salientar que o tempo entre a deposição do DNA em superfícies e a coleta dessa evidência também influencia diretamente na sua persistência. Segundo estudos prévios, intervalos de tempos mais longos entre a deposição e a coleta do DNA de contato tendem a

diminuir o rendimento dessa amostra. Dessa forma, tais variáveis devem ser analisadas de forma conjunta (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; OSTOJIC; WURMBACH, 2017; SESSA et al., 2019).

A quantidade de DNA depositada nas superfícies tocadas também possui ligação direta com a pressão e o tempo de contato. De modo geral, quanto maior o tempo e a pressão de contato, maiores quantidades de DNA são deixadas na superfície. É importante mencionar que outras variáveis influenciam nesse dado, como o tipo de superfície e o tipo de doador. Mas estudos relatam que a pressão e o tempo de contato são relevantes quando se trata da quantidade de DNA deixada nas superfícies (MATTE et al., 2012; MEAKIN; JAMIESON, 2013; SESSA et al., 2019).

A fim de maximizar as chances de se obter um perfil genético completo a partir do DNA de contato, a escolha do método de coleta é umas das etapas mais importantes nesse tipo de análise. O método deve ser seletivo e eficiente de modo a coletar a maior quantidade possível de DNA, preservar a integridade da amostra, mitigar possíveis contaminações e a degradação do material genético (COMTE et al., 2019). Existem diversos métodos de coletas, como: corte, raspagem de papel FTA, raspagem com lâmina de bisturi estéreo, fita adesiva, esfregaço simples ou duplo com suabe seco e úmido. No caso do DNA de contato, o esfregaço duplo com suabe e a fita adesiva são os métodos mais utilizados (KIRGIZ; CALLOWAY, 2017). Apesar de serem métodos de coleta bem consolidados, é necessário que estudos sejam desenvolvidos para que haja a padronização dessas metodologias de modo a tornar o procedimento mais confiável.

A escolha dos métodos de extração e quantificação para a análise de amostras de toque é uma etapa crucial para a recuperação de DNA. O alto grau de degradação e a pequena quantidade de material genético dificulta o processo de extração/recuperação, devido a isso, é fundamental que haja a padronização das metodologias e um melhor entendimento acerca do tema. De acordo com estudos anteriores, durante a análise e processamento das amostras de DNA de toque, de 56 a 77% do material genético pode ser perdido, dessa forma, a escolha dos métodos de extração e quantificação mais apropriados é de extrema importância (TANG et al., 2020). Estudos prévios relatam a utilização de métodos como extração

orgânica, (fenol/clorofórmio), Chelex, papel FTA. Esses métodos são eficientes, de baixo custo e eficazes, contudo, a utilização de kits comerciais tem sido o método preferível pelos especialistas (BUTLER, 2012a). Em relação a quantificação, é possível utilizar métodos clássicos, como o Nanodrop. Por outro lado, os kits comerciais disponíveis atualmente apresentam boa performance, acurácia e especificidade, sendo mais indicados para amostras de toque. A maioria dos trabalhos utilizam o kit *Quantifiler Trio DNA Quantification* (Thermo Fisher Scientific) para quantificar amostras forenses, porém, kits como Qubit dsDNA HS (*high sensitivity*) (Thermo Fisher Scientific) tem ganhado espaço no mercado pois apresentam boa performance, praticidade e bom custo-benefício (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2022; SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017).

## 2.8 LÍQUIDOS/BEBIDAS COMO FONTES DE DNA

Em locais de crime, é comum que algumas evidências sejam recipientes de bebidas com líquidos remanescentes. Existem estudos prévios em que perfis genéticos são obtidos a partir das bordas dos recipientes de bebidas utilizando as impressões labiais como fonte de evidência biológica (ABAZ et al., 2002; TURINGAN et al., 2020). Contudo, ainda são escassos estudos que explorem os líquidos como fontes de DNA no âmbito forense.

Além de estarem presentes nas bordas dos recipientes de bebida, as células nucleadas advindas das impressões labiais acabam entrando em contato com os líquidos remanescentes desses recipientes, o que os tornam potenciais fontes para a obtenção de DNA. Ademais, a saliva em contato com os líquidos remanescentes dos recipientes de bebidas também pode ser um fator que os torne potenciais fontes de DNA (RODGERS; MOCK, 2015).

Teoricamente, as células e o DNA presentes nesses líquidos podem ser isolados e utilizados para a obtenção de perfis genéticos. Tal hipótese já foi realizada e se mostrou bem-sucedida em um estudo de Rodgers e Mock (2015) em que eles realizaram tal procedimento com mamíferos – coiotes. Em 2019, outro estudo também utilizou fontes líquidas como forma de se obter DNA e gerar perfis genéticos de mamíferos terrestres. Os resultados obtidos confirmaram tal possibilidade (HARPER et al., 2019).

A utilização do DNA de contato proveniente de impressões labiais para auxiliar na elucidação de crimes vem sendo explorada por diversos grupos de pesquisa. Apesar dos avanços obtidos nos últimos anos, existe uma demanda por mais estudos para viabilizar sua utilização no dia a dia pericial. Uma vez que uma melhor compreensão acerca do DNA de contato é obtida, torna-se mais fácil e possível trabalhar com amostras degradadas e desafiadoras, permitindo que o perito possa explorar todas as alternativas disponíveis ao se deparar com um vestígio relacionado com o DNA de contato. A realização de estudos sob diferentes condições ambientais e variáveis possíveis de serem encontradas em cenas de crime é imprescindível para agregar conhecimento à literatura já existente e para contribuir com a padronização do método científico utilizando esse tipo de amostra.

Além disso, a utilização de líquidos para a obtenção de DNA é uma alternativa promissora e teoricamente viável que ainda não foi explorada no âmbito da genética forense. Estudos realizados com manejo de animais silvestres demonstraram que é possível obter perfis genéticos completos a partir de líquidos remanescentes após sua ingestão. A partir dessa informação, é de grande valia explorar essa possibilidade com seres humanos uma vez que, em uma cena de crime, esse pode ser um dos únicos vestígios presentes após o cometimento de um delito.

Sendo assim, o presente estudo demonstra grande relevância para contribuir, tanto com a literatura científica quanto com a prática pericial, colaborando com novas possibilidades de vestígios.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Investigar a viabilidade de obter DNA a partir de amostras de contato provenientes de impressões labiais e de líquidos/bebidas.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar a possibilidade de extrair DNA a partir de amostras de contato de matrizes sólidas e líquidos/bebidas;
- Estimar, por diferentes métodos, a quantidade média de DNA extraída das amostras de contato de matrizes sólidas e líquidos/bebidas;
- Analisar a influência da exposição solar direta e indireta, da temperatura e da umidade no rendimento das amostras de contato depositadas em superfícies sólidas e líquidos/bebidas;
- Avaliar a influência do tempo no rendimento das amostras de contato depositadas em superfícies sólidas e líquidos/bebidas;
- Avaliar a influência das superfícies na obtenção do DNA de contato.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo e aprovado por meio do parecer consubstanciado no número CAAE: 41628920.9.0000.5060 - Plataforma Brasil (Anexo I). Todos os voluntários doadores das amostras foram informados sobre os objetivos do estudo, protocolo de coleta e da confidencialidade das informações acerca do trabalho. Todas as dúvidas apresentadas pelos participantes foram devidamente esclarecidas e foi solicitado a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo II) antes de sua assinatura e doação das amostras.

### 4.2 OBTENÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS DE CONTATO

Foi solicitado aos doadores das amostras de impressões labiais, 4 pessoas, que ingerissem cerca de 30 mL refrigerante de uma embalagem de lata de alumínio e água de um copo de vidro como ingerem normalmente e sem cronometragem de tempo. Após o procedimento, as superfícies foram submetidas a duas variáveis de armazenamento: tempo decorrido até o momento da coleta (24 e 72 horas) e exposição direta e indireta de luz solar. O processo de obtenção das amostras ocorreu em diferentes dias para minimizar variação na quantidade de células doadas em cada impressão labial/líquido.

Após o tempo decorrido estabelecido, as amostras de material biológico provenientes das impressões labiais foram coletadas por meio da técnica de suabe duplo, em que primeiramente fricciona-se um suabe umedecido com água ultrapura e em seguida um suabe seco – a fim de coletar maior quantidade de conteúdo celular. Os líquidos remanescentes dos recipientes foram coletados por aspiração com o auxílio de uma Pipeta de Pasteur.

Todas as amostras foram acondicionadas individualmente em microtubos de 2,0 mL e armazenadas em freezer até o momento de extração e isolamento de DNA (Figura 1).

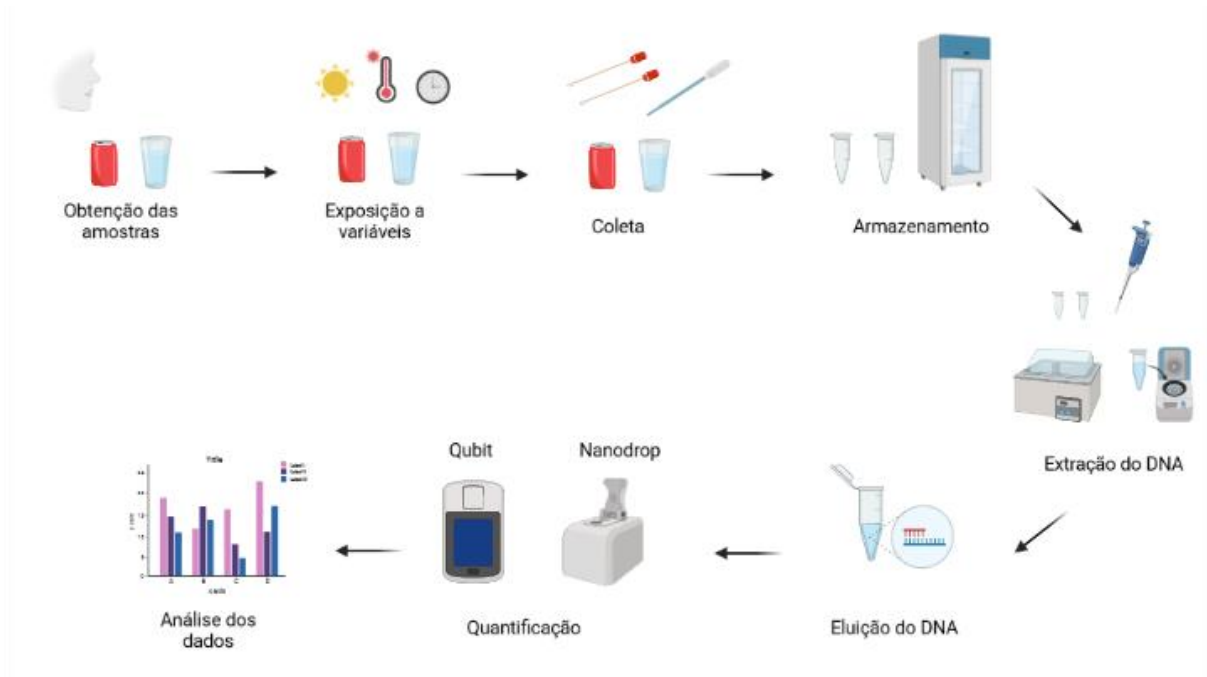


Figura 1: Modelo esquemático da metodologia empregada

#### 4.3 CONTROLE NEGATIVO

As superfícies utilizadas no experimento foram higienizadas previamente com álcool 70% e expostas a luz UV por 20 min. Os controles negativos foram coletados das superfícies sólidas por meio da fricção de um suabe de algodão estéril nos recipientes de alumínio e vidro. No caso das matrizes líquidas, alíquotas dos líquidos (refrigerante e água) foram coletadas com o auxílio de uma Pipeta de Pasteur e armazenadas em tubos de polipropileno estéreis antes da ingestão pelos voluntários. Os dados relativos à temperatura e umidade foram obtidos através do site do INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural)

#### 4.4 CONTROLE POSITIVO

Amostras de controle positivo foram obtidas por meio da fricção de um suabe de algodão na cavidade oral dos voluntários e armazenadas. Posteriormente as amostras de DNA foram extraídas.

#### 4.5 EXTRAÇÃO DO DNA

O método de extração orgânica com fenol-clorofórmio adaptado de Sambrook et al., (1989) foi realizado no presente estudo. A etapa de digestão foi realizada adicionando 405  $\mu\text{L}$  de TE9 (Tris-EDTA pH 9) e 45  $\mu\text{L}$  de SDS-proteinase K nos eppendorffs contendo as amostras. As amostras de lip-prints e de líquidos foram incubadas em banho maria por 2 h a 58 °C. Na etapa de extração foi utilizado 400  $\mu\text{L}$  de fenol-clorofórmio e, em seguida, a etapa de purificação foi realizada utilizando 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 M (acetato de amônio), 1 mL de etanol absoluto e a solução foi centrifugada por 15 min a 14.000 rpm (Microcentrifuga Eppendof™ 5424). Em seguida, o *pellet* de DNA foi lavado com 1 mL de etanol 70%, eluido em 100  $\mu\text{L}$  de LoTE (Low Tris-EDTA), incubado por 10 min a 37°C e armazenado em geladeira a 4°C.

#### 4.6 QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR ESPECTROFOTÔMETRO (NANODROP)

As amostras foram quantificadas com o auxílio do quantificador *NanoDrop™ One Microvolume UV Spectrophotometer* (Thermo Fischer Scientific) de acordo com as instruções do fabricante. O equipamento foi calibrado com água ultrapura e 1  $\mu\text{L}$  das amostras extraídas foram utilizadas nessa etapa de quantificação (Figura 2).



Figura 2. Quantificador NanoDrop™ One Microvolume UV Spectrophotometer. Fonte: Thermo Fischer Scientific Website.

#### 4.7 QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR QUBIT

O kit *Qubit™ 1X dsDNA HS Assay (Thermo Fischer Scientific)* também foi utilizado para quantificar as amostras de DNA de contato extraídas no equipamento *Qubit™ 4 Fluorometer (Thermo Fischer Scientific)* de acordo com as instruções do fabricante. Após a calibração do equipamento, 20 µL das amostras foram adicionadas a um tubo de polipropileno de parede fina juntamente com 180 µL da solução de trabalho. As amostras foram incubadas por 2 min a temperatura ambiente e em seguida, procedeu-se a quantificação pelo equipamento (Figura 3).



Figura 3. Quantificador Qubit 4 Fluorometer. Fonte: Thermo Fischer Scientific Website.

#### 4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software *GraphPad Prism 8.0*. Análises de variância (ANOVA One-Way e ANOVA Two-Way) e o Test-T unpaired foram utilizados para realizar comparações entre os grupos e testes de Correlação de Serman foram realizados para avaliar a correlação das condições ambientais com os resultados obtidos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COLETA E EXTRAÇÃO DO DNA

A técnica de suabe duplo foi escolhida para realizar as coletas do DNA de contato das superfícies de vidro e alumínio. A utilização do suabe duplo assegura que todo o conteúdo depositado na superfície de interesse foi coletado, além disso, essa técnica é reportada pela literatura como ideal para superfícies lisas e não porosas, como é o caso dos materiais utilizados (BHALE et al., 2019; COMTE et al., 2019; SESSA et al., 2019).

O método de extração utilizando fenol/clorofórmio proposto adaptado de Sambrook et al., (1989) demonstrou ser eficaz para extrair amostras de contato. Foi possível obter uma quantidade média de DNA de 5,2 ng/μL ( $M_d= 4,1$ ) e 10,5 ng/μL ( $M_d= 7,99$ ) das impressões labiais coletadas da superfície de vidro e alumínio, respectivamente, e 0,86 ng/μL ( $M_d= 0,34$ ) e 2,4 ng/μL ( $M_d= 2,46$ ) das bebidas, água e refrigerante, respectivamente.

Com o avanço das técnicas de extração, a utilização de kits comerciais passou a ser preferível para diversos tipos de amostras, incluindo o DNA de contato, devido a maior especificidade, praticidade, rapidez e menor chance de contaminação. Dessa forma, métodos *in house*, como o método de extração orgânica passou a ser menos utilizado. Apesar disso, estudos demonstraram que a extração orgânica, em alguns casos, é capaz de extrair maior quantidade de DNA quando comparada a extração por kits comerciais de amostras de contato (EKKA; ARYA; PATEL, 2021). Em um estudo prévio, os autores compararam a performance do método de extração orgânica com a extração feita pelo kit QIAmp DNA mini (QIAGEN GmbH, Qiagen Redwood City, Inc.) em amostras de contato. Os resultados indicaram que as amostras extraídas utilizando o método orgânico apresentaram melhor rendimento (6,17 ng/μL) quando comparadas com as amostras extraídas pelo kit QIAmp DNA mini (1,48 ng/μL) (SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017). Ademais, é possível constatar que pelos resultados do presente estudo, que apesar do método orgânico não ser o método ideal para realizar a extração de amostras de DNA contato, ele demonstra eficiência e pode ser utilizado para essa finalidade em

superfícies sólidas e líquidos/bebidas. Além disso, a extração orgânica é uma metodologia de baixo custo, o que favorece sua utilização por laboratórios que possuem menos recursos.

## 5.2 AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO

Ao avaliar os métodos de quantificação, foi possível constatar que os valores médios obtidos pelas quantificações de DNA realizadas pelo Nanodrop foram estatisticamente maiores do que as mesmas amostras quantificadas pelo Qubit em todas as condições propostas (Figura 4A-D).

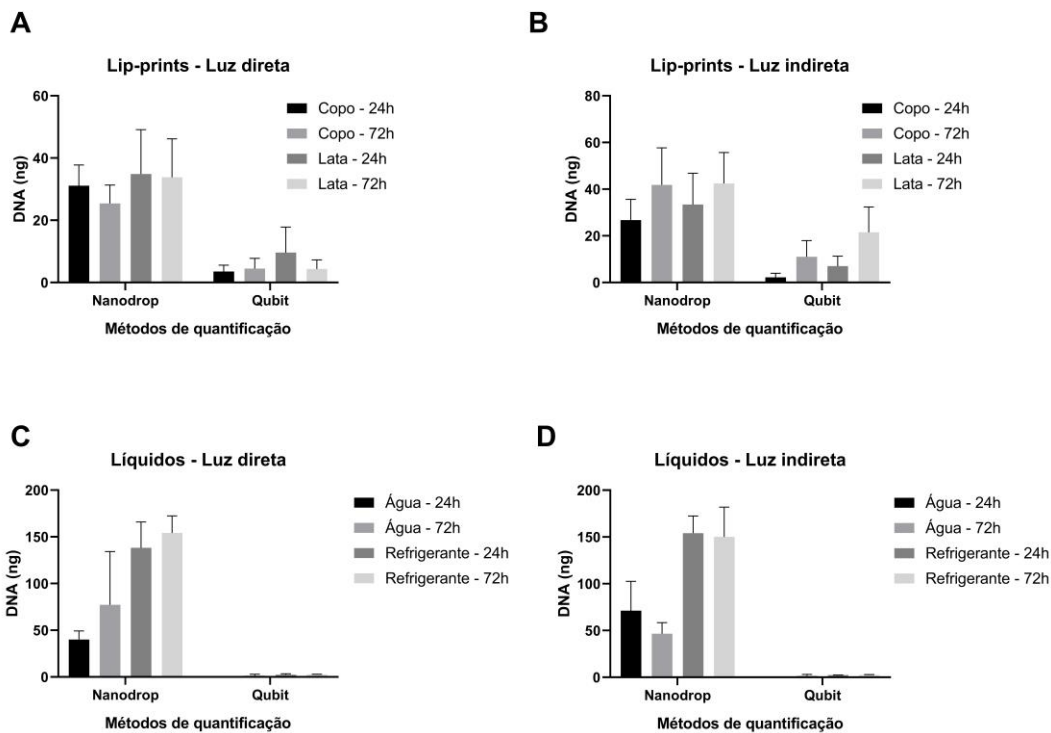


Figura 4. Comparação de performance dos métodos de quantificação utilizados (Nanodrop e Qubit) para analisar as amostras de DNA de contato de acordo com as variáveis propostas. O teste ANOVA-Two-Way foi escolhido para essa análise.

A análise pelo Nanodrop demonstrou superestimar a quantidade de DNA obtida das amostras de DNA de contato das superfícies e dos líquidos escolhidos. Os valores obtidos pela quantificação pelo Nanodrop podem ter sofrido influência de

substâncias provenientes da etapa de extração, como a solução de extração fenol-clorofórmio, considerada fator interferente (GOSCH; COURTS, 2019). Além disso, no presente estudo o Nanodrop apresentou ter um limite de detecção de 1 ng/μL. Um estudo anterior também relatou esse limite de detecção ao quantificar amostras de DNA de contato pelo mesmo método (SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017). A literatura reporta que amostras de contato podem conter quantidades de DNA abaixo de 1 ng/μL, dessa forma esse limite de detecção pode ser considerado alto para esses casos (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). A utilização do Nanodrop pode ser eficaz para amostras de DNA em altas concentrações, mas não é o método ideal para amostras de DNA de contato.

O kit Qubit™ 1X dsDNA HS Assay pode ser considerado mais sensível e específico para a quantificação de amostras de contato pois é composto por um fluoróforo capaz de quantificar baixas concentrações de DNA o qual emite uma fluorescência quando ligado a molécula. O limite de detecção desse kit varia entre 0.5 ng/μL a 1 ng/μL e de 500 ng/μL a 600 ng/μL, e no presente estudo foi possível quantificar amostras com 0,64 ng/μL (Tabela 1), demonstrando a eficácia do kit. Estudos como o de Burrill et al. (2020) exploram a utilização desse kit para quantificar DNA em amostras de contato demonstrando eficácia. Em geral, os estudos existentes que utilizam o método Qubit para quantificar amostras de DNA de contato exploram as impressões digitais; o presente estudo aborda sua aplicação em impressões labiais e em bebidas não alcoólicas sendo inédito nesse quesito. Além disso, o kit Qubit™ 1X dsDNA HS Assay é mais acessível quando comparado com outros kits de quantificação. Sua eficiência analítica aliado ao baixo custo tornam esse kit uma ótima opção para analisar amostras de contato.

Tabela 1. Amostras de DNA de contato quantificadas por Nanodrop (N) e Qubit (Q) (ng/μL).

Contato	Superfície	Luz	Tempo	Voluntário 1		Voluntário 2		Voluntário 3		Voluntário 4	
				N	Q	N	Q	N	Q	N	Q
Suabe bucal	*C+	-	-	34,3	590,00	35,5	192,00	69,2	309,00	18,9	16,00
Lip-print	Vidro	Direta	24h	36,4	1,87	29,9	2,22	36	3,57	22,3	6,39
Lip-print	Vidro	Direta	72h	28,8	2,92	19,8	0,95	32	5,23	21,2	8,70
Lip-print	Vidro	Indireta	24h	34	0,64	23,1	4,74	34	2,08	16	1,41
Lip-print	Vidro	Indireta	72h	27	6,16	30,9	5,41	48	12,30	61,3	20,20
Líquido	Água	Direta	24h	37,3	0,00	37,9	0,00	53,3	0,78	31,9	0,00
Líquido	Água	Direta	72h	83,2	0,69	20,1	2,83	153,6	2,43	51,8	0,00
Líquido	Água	Indireta	24h	86,1	0,00	102,4	0,00	29,5	0,00	66,8	0,73
Líquido	Água	Indireta	72h	60,8	0,00	44	0,99	49,2	3,35	32,6	2,07
Lip-print	Alumínio	Direta	24h	25,6	0,00	26,2	9,09	55,8	20,00	31,9	9,40
Lip-print	Alumínio	Direta	72h	52,3	5,32	28	1,62	28,2	2,33	26,8	8,01
Lip-print	Alumínio	Indireta	24h	21,8	3,78	30,6	13,3	52,7	5,52	28,6	5,30
Lip-print	Alumínio	Indireta	72h	41,1	7,97	42	34,50	27,2	21,20	59,5	20,80
Líquido	Refrigerante	Direta	24h	77,8	3,19	157	2,88	158,5	1,14	144,6	2,55
Líquido	Refrigerante	Direta	72h	133	2,91	171,5	2,70	104,7	2,09	143,7	2,41
Líquido	Refrigerante	Indireta	24h	134,6	2,48	167,1	2,29	142,3	2,43	172,2	2,20
Líquido	Refrigerante	Indireta	72h	146,7	2,73	176,6	2,74	170,4	2,44	106,4	1,65

\*Controle Positivo

### 5.3 EFEITO DAS VARIÁVEIS AMBIENTAIS

#### 5.3.1 Temperatura, Umidade e possíveis influências na persistência da amostra de contato

Para detectar possíveis efeitos exercidos pela temperatura e umidade nas amostras de contato, foi realizada a correlação de Spearman. Após as análises, foi possível notar a ausência de correlação entre os parâmetros analisados. É possível observar na Figura 5A o valor  $R = -0,07$ , o que indica que, nesse caso, não existe correlação entre a temperatura no momento das coletas das amostras de impressões labiais e de líquidos e o rendimento de DNA. Na Figura 5B, o valor encontrado de  $R = 0,026$  é considerado baixo, ou seja, há uma fraca correlação entre a umidade do ambiente no momento das coletas e o rendimento das amostras coletadas.

Do total de 64 amostras analisadas, 11 amostras (entre amostras de lip-prints e líquidos) apresentaram quantidades de DNA acima de 5 ng/μL. Essas amostras foram coletadas em dias que as condições de temperatura e umidade médias eram de 26°C e 75,7%, respectivamente.

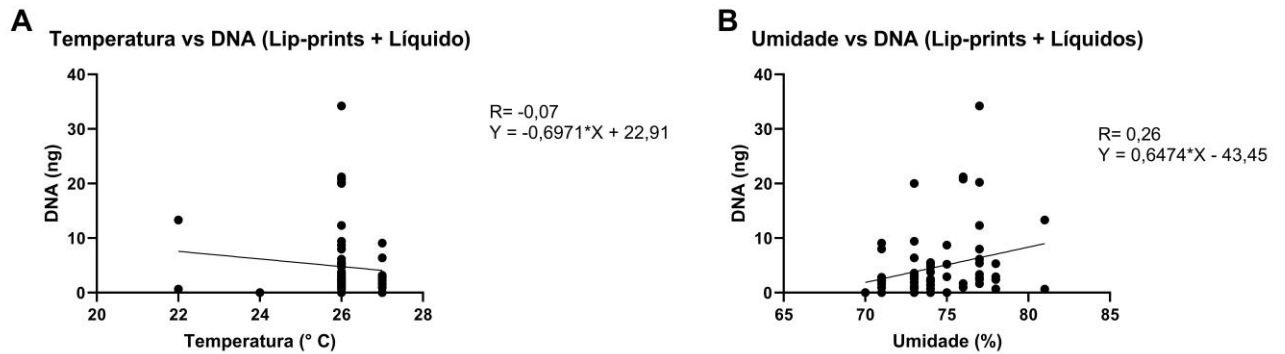


Figura 5. Teste de Correlação de Spearman. (A) Análise da correlação entre temperatura e quantidade de DNA obtido e (B) umidade e quantidade de DNA.

De acordo com estudos prévios, as condições de umidade e temperatura são fatores que influenciam diretamente no rendimento das amostras de contato (DE ALCARAZ-FOSSOUL et al., 2013; SESSA et al., 2019). De acordo com Nimbkar e Bhatt (2022) os fatores umidade e temperatura são diretamente proporcionais a quantidade de DNA que um indivíduo deposita em uma superfície, ou seja, temperatura e umidade elevadas tendem a resultar em maior adesão do DNA em superfícies. Contudo, o presente estudo não detectou correlação dessas condições ambientais com a quantidade de DNA encontrado. Esse achado pode estar associado com o fato de que, em alguns casos, umidades elevadas podem causar a degradação mais rápida da molécula de DNA por clivagem eletrolítica, tendo como alvo a ligação entre o açúcar e a base nitrogenada. Além disso, altas temperaturas tem a capacidade de aumentar a taxa de clivagem da molécula de DNA por meio da clivagem direta de suas fitas (ALKETBI, 2018).

Ademais, outros fatores contribuem para uma transferência maior ou menor de DNA de contato para superfícies. Características individuais como taxa de sudorese, hábitos de higiene, idade, sexo e condições de pele também influenciam na quantidade de células transferidas durante o contato (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). Desse modo, é de grande valia que outros estudos sejam realizados para que haja mais informações sobre como temperatura e umidade influenciam na transferência celular durante o toque.

### 5.3.2 Lip-prints, líquidos e a influência da exposição a luz solar

Ao analisar os efeitos na persistência do DNA extraído das amostras de impressões labiais após exposição solar direta e indireta, não foi possível constatar diferenças significativas na maioria dos grupos. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) apenas na comparação entre as amostras de DNA de contato produzidas na superfície de alumínio no tempo de 72 h (Figura 6D).

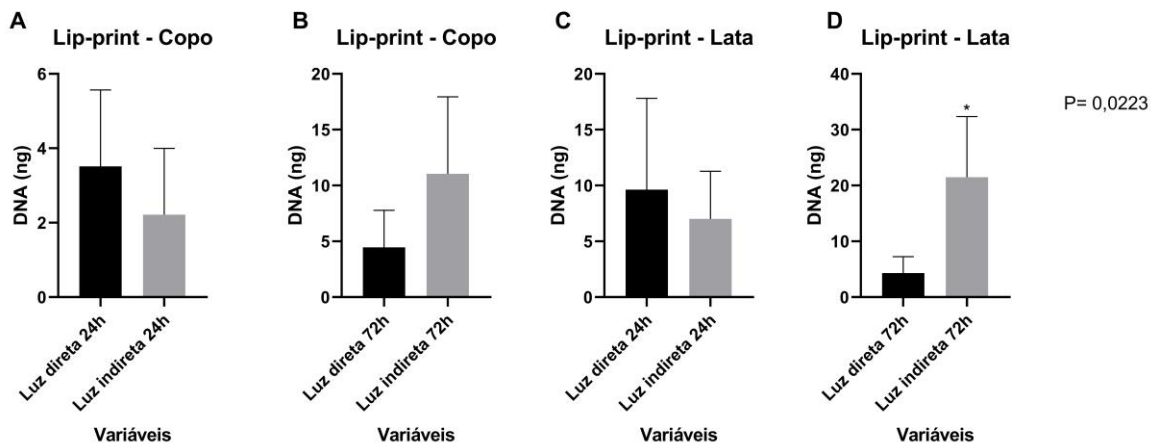


Figura 6. Análise da influência da exposição de luz solar direta e indireta nas amostras de contato depositadas nas superfícies de vidro e alumínio (Test T unpaired).

De acordo com a Figura 6D, houve diferença significativa ao comparar as amostras de impressões labiais expostas a luz solar direta e indireta. As amostras expostas a luz solar indireta apresentaram maior rendimento na superfície de alumínio (lata) no tempo de 72 h. O resultado encontrado corrobora com estudos prévios que relatam a influência da radiação UV proveniente da luz solar em amostras de contato. A radiação UV também promove clivagem hidrolítica da molécula de DNA, além de causar secagem e ligações timina-timina adjacentes na molécula, inviabilizando seu uso para análises (NIMBKAR; BHATT, 2022). Esses efeitos proporcionados pela radiação UV podem ter diminuído o rendimento de DNA nas amostras da superfície de alumínio expostas a luz solar direta.

Após as análises relativas ao rendimento das impressões labiais expostas direta e indiretamente a luz solar no tempo de 24 h (Figura 6A e 6C), não houve significância estatística, mas apesar disso, é possível notar que as amostras expostas diretamente ao sol apresentaram maior rendimento tanto na superfície de vidro

como na superfície de alumínio. Embora tenham sido expostas a luz solar direta, o tempo entre a deposição da amostra na superfície e a coleta foi apenas de 24 h, assim, a probabilidade de se obter um DNA viável com maior concentração é maior.

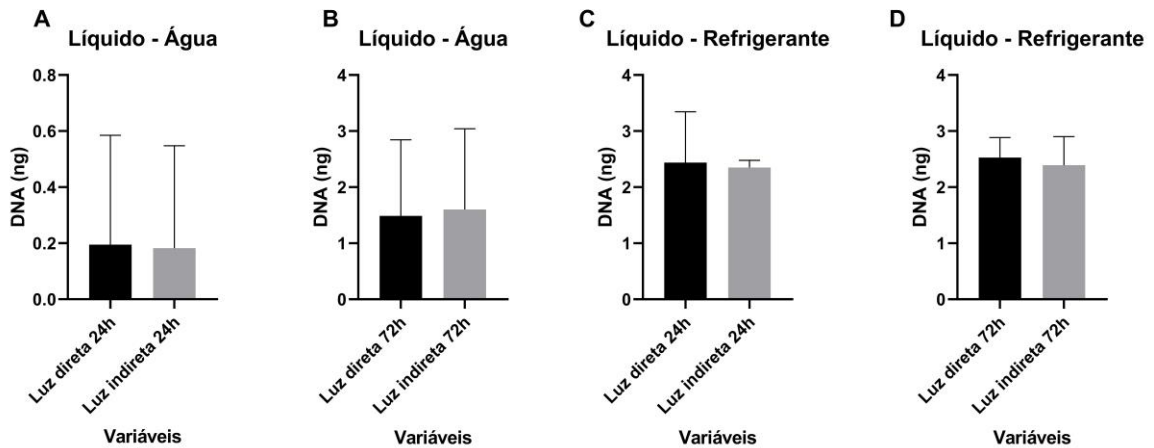


Figura 7. Análise da influência da exposição de luz solar direta e indireta nas amostras de contato presentes nas matrizes líquidas (Test T unpaired).

Em relação as amostras de líquidos, após a realização do Test T os resultados indicaram que não houve diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) ao comparar o efeito da exposição solar nas matrizes líquidas. Devido à escassez de estudos que investigam a influência de exposição solar em bebidas remanescentes, não é possível afirmar que os resultados encontrados corroboram com dados da literatura. Em 2016, um estudo desenvolvido por Kriz (2016) teve o objetivo de avaliar a quantidade de DNA que poderia ser coletado de amostras de líquido remanescente (água) em garrafas. Os resultados encontrados demonstraram que a quantidade de DNA encontrado era inversamente proporcional a quantidade de líquido presente no recipiente, ou seja, quanto menor o volume de líquido, maior a quantidade de DNA. Contudo, os estudo não avaliou a influência da exposição a luz solar. Dessa forma, é necessário que outros estudos realizem esse tipo de análise para contribuir com as informações já existentes.

### 5.3.3 Lip-prints, líquidos e a influência o tempo

Após análises realizadas com o Test T, foi possível comparar as diferenças proporcionadas pela variável tempo. No caso das amostras coletadas na superfície

de vidro, foi possível confirmar significância estatística ( $p < 0,05$ ) ao comparar as amostras de 24 h e 72 h expostas a luz solar indireta (Figura 8B). Os resultados das amostras depositadas na superfície de alumínio também evidenciaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao comparar as amostras de 24 h e 72 h expostas a luz solar indireta (Figura 8D).

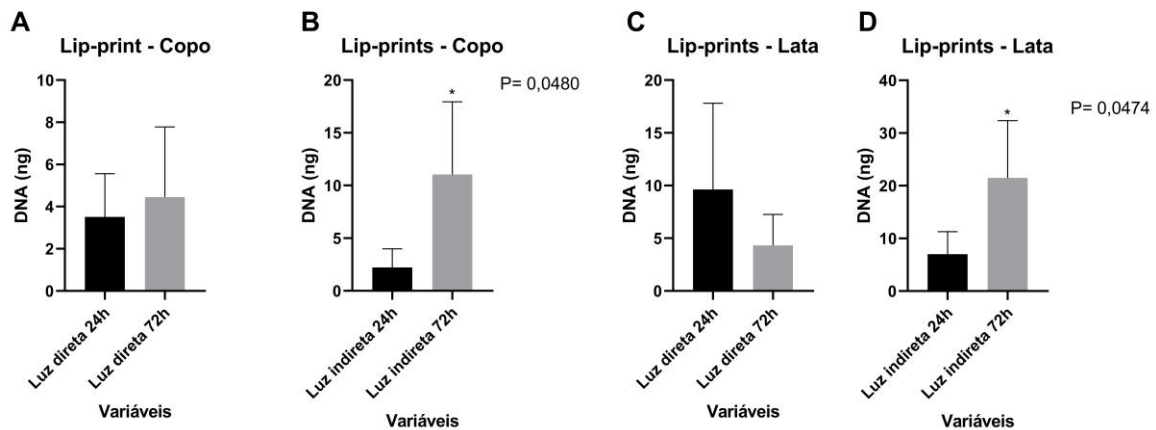


Figura 8. Análise por Test T da influência do tempo nas amostras de contato depositadas nas superfícies de vidro e alumínio.

A literatura reporta que o tempo entre a deposição da amostra de contato e a coleta é crucial para análises que envolvam esse tipo de amostra. Essa variável está intimamente ligada a persistência do DNA, ou seja, quanto maior o tempo entre a deposição e a coleta, menor a quantidade de DNA viável (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; SESSA et al., 2019). Contudo, no presente estudo as amostras coletadas no tempo de 72 h após a deposição apresentaram maior rendimento de DNA. Esse resultado corrobora com um estudo prévio em que amostras de DNA de contato foram coletadas de matrizes de vidro e alumínio (garrafa e lata, respectivamente) e analisadas em um intervalo de 24 h e 48 h. Após as análises foi constatado que as amostras de DNA de contato coletadas de ambas as superfícies no tempo de 48 h apresentaram maior rendimento (ABAZ et al., 2002). Embora a literatura reporte que superfícies porosas retém melhor os componentes das amostras de contato, esses achados podem ter relação com o tipo de superfície, as características das bebidas e de características individuais dos voluntários do presente estudo.

É importante salientar que essas amostras estavam expostas a luz solar indireta, que também contribuiu para o resultado encontrado. Apesar de serem distintas, as variáveis atuam simultaneamente em amostras de toque e precisam ser analisadas de forma conjunta para que haja um melhor entendimento de seus efeitos nas amostras.

No caso dos líquidos, não houve diferenças estatísticas significativas ao analisar a influência do tempo na persistência do DNA de contato (Figura 9A-D).

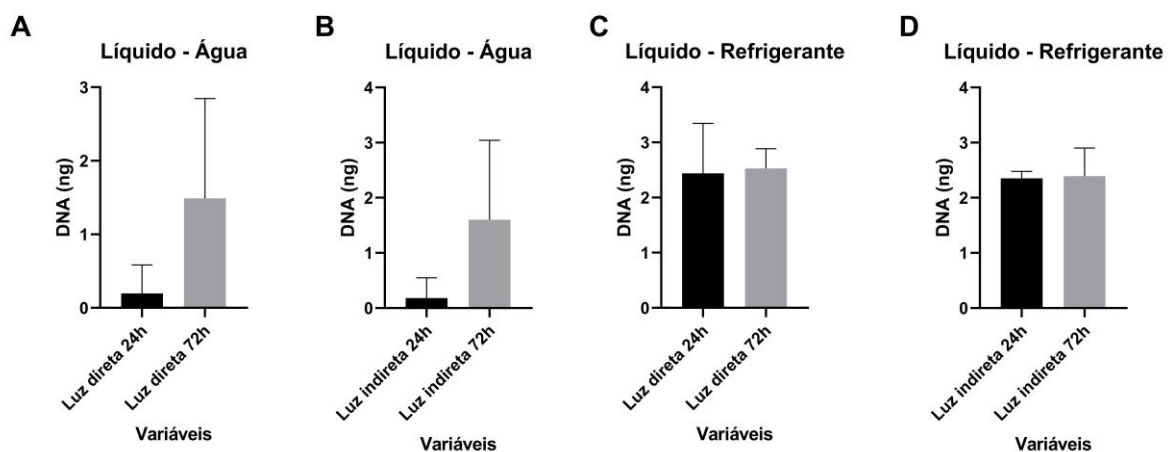


Figura 9. Análise por Test T para avaliar a influência do tempo nas amostras de contato presentes nas matrizes líquidas.

Apesar da ausência de significância estatística, é possível visualizar que as amostras de água coletadas no tempo de 72 h apresentaram maior quantidade de DNA, independente da exposição a luz solar (Figura 9A e 9B). De acordo com estudos prévios, a composição dos líquidos juntamente com a variável tempo podem afetar as interações com as amostras biológicas (ABAZ et al., 2002; GOSCH; COURTS, 2019; SESSA et al., 2019). A escassez de estudos que utilizam amostras de bebidas com a abordagem forense torna a discussão desse achado imprecisa, a grande maioria dos trabalhos que utilizam amostras de bebidas para detecção de DNA possuem abordagens de manejo de animais ou de gestão ambiental (RODGERS; MOCK, 2015). Diante disso, faz-se necessário a reprodução de mais estudos que abordem esse tópico.

No caso das amostras coletadas do refrigerante, é possível notar que elas apresentaram maior quantidade de DNA (2,35 - 2,52 ng/ $\mu$ L) do que as amostras presentes na água (0,18 - 1,6 ng/ $\mu$ L). Apesar dos ingredientes que compõe o refrigerante serem considerados fatores que diminuem a persistência do DNA, como o gás da bebida, essa matriz líquida forneceu maior quantidade de DNA quando comparada com a água (GOSCH; COURTS, 2019).

#### 5.4 INFLUÊNCIA DAS SUPERFÍCIES NA OBTENÇÃO DO DNA DE CONTATO

Ao avaliar as concentrações médias de DNA obtidas de acordo com as superfícies propostas, foi possível observar que a superfície de alumínio apresentou maior concentração de DNA obtido em comparação com a superfície de vidro e o refrigerante apresentou maior concentração de DNA em relação a água por meio das duas metodologias de quantificação aplicadas (Tabela 2).

Tabela 2. Quantidades médias obtidas das superfícies/matrizes propostas (ng/ $\mu$ L).

<i>Superfícies</i>	<i>Nanodrop</i>	<i>Qubit</i>
Vidro (copo)	31,2	5,2
Alumínio (lata)	36,1	10,5
Água	58,7	0,86
Refrigerante	144,1	2,4

De acordo com dados da literatura, o tipo de recipiente de bebida afeta de forma significativa no rendimento do DNA de contato, e de acordo com um estudo anterior, as latas de alumínio tendem a reter maior quantidade de DNA em relação a superfícies de vidro, como o copo, corroborando com os achados do presente estudo (ABAZ et al., 2002). Apesar de não ser uma superfície porosa, a lata de alumínio possui um design com ranhuras e depressões no local em que há o contato com a boca, o que pode favorecer para que as células provenientes das impressões labiais fiquem retidas nesses locais e proporcionem maior quantidade de material genético.

Em relação as bebidas, era de se esperar que fosse possível obter maiores concentrações de DNA das amostras de água, por não conter outros ingredientes e/ou substâncias em sua composição. Contudo, os resultados indicaram que o refrigerante apresentou maiores concentrações de DNA. Esse achado pode estar relacionado com o fato de que a composição do refrigerante pode ter a capacidade de anular a ação de DNAases. Em geral, as DNAases são enzimas que degradam o DNA e que estão presentes em diversos locais, superfícies e matrizes. É possível que sua ação seja prejudicada devido a influência de algum dos componentes do refrigerante. Dessa forma, as DNAases não degradaram o DNA presente no líquido proposto pelo presente estudo. Devido à escassez de estudos que abordem esse tópico, não é possível afirmar com precisão os fatores que expliquem esses achados. Dessa forma, a realização de mais estudos que avaliem esses parâmetros é de grande importância.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pode-se constatar que é possível obter DNA a partir das amostras de contato de superfícies sólidas e de líquidos remanescentes de bebidas com uma metodologia de baixo custo. Ambos os métodos de quantificação foram capazes de quantificar o material genético extraído das amostras de contato nas superfícies sólidas e nos líquidos, porém, o método Qubit foi mais eficaz e demonstrou maior confiabilidade. As condições de umidade e temperatura não demonstraram ser significantes, do ponto de vista estatístico, durante a transferência das amostras de contato para as superfícies e líquidos. A exposição solar direta proporcionou influência significativa nas amostras de contato, principalmente na superfície de alumínio, diminuindo a persistência do DNA. Em relação à variável tempo, houve diferenças estatísticas significativas em ambas as superfícies, contudo, a exposição indireta da luz solar nessas amostras também influenciou os resultados. Ademais, as variáveis tempo e exposição a luz solar não proporcionaram influências significativas nas amostras de líquidos.

Os resultados do presente estudo evidenciaram o desafio de se trabalhar com amostras de contato e a importância de entender como essas amostras são afetadas por diferentes variáveis. Os dados obtidos podem contribuir com estudos futuros que investiguem mais profundamente a influência das variáveis abordadas, principalmente no caso das amostras de líquidos. Dessa forma é de grande valia que mais estudos sejam realizados com essa vertente para contribuir com a construção de novos protocolos de análise para amostras de contato.

## **7 PERSPECTIVAS**

Os resultados obtidos a partir do presente estudo abordaram principalmente a influência de importantes variáveis na persistência do DNA de contato e na sua viabilidade como evidência para contextos forenses. Pôde-se notar que as amostras de contato obtidas de impressões labiais e bebidas são alternativas úteis para auxiliar na resolução de casos forenses.

Para validar ainda mais os achados do presente estudo é interessante que pesquisas futuras realizem as análises dessas amostras com outras metodologias de coleta, extração e quantificação sob as variáveis exploradas (tempo, temperatura, umidade, exposição a luz solar). Além disso, é de suma importância que essas amostras sejam amplificadas e sequenciadas por meio de diferentes metodologias para obter uma análise mais profunda se realmente é possível obter perfis genéticos completos e/ou satisfatórios a partir do DNA de contato proveniente de impressões labiais e bebidas. Dessa forma, as amostras de DNA de toque poderão ser mais utilizadas em contextos forenses.

## REFERÊNCIAS

- ABAZ, J. et al. Comparison of the variables affecting the recovery of DNA from common drinking containers. **Forensic Science International**, v. 126, n. 3, p. 233–240, 2002.
- ALBERTS, B. et al. (Orgs.). **Biologia Molecular da Célula** - 6° Ed. 2017, Ed. Artes Médicas, Porto Alegre.
- ALKETBI, S. K. The Affecting Factors of Touch DNA. **Journal of Forensic Research**, v. 09, n. 03, 2018.
- BARBARO, A.; CORMACI, P.; BARBARO, A. DNA typing from lipstick prints left on the skin. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 2, n. 1, p. 125–126, 2009.
- BHALE, N. et al. Salivary DNA Analysis: A Proof of Evidence. **J Forensic Res**, v. 10, n. 1, p. 433, 2019. Disponível em:  
<<https://www.researchgate.net/publication/340088849>>.
- BODNER, M. et al. Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on quality control of autosomal Short Tandem Repeat allele frequency databasing (STRidER). **Forensic Science International: Genetics**, v. 24, p. 97–102, 2016. Disponível em:  
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.06.008>>.
- BURRILL, J.; RAMMENOU, E.; et al. Corneocyte lysis and fragmented DNA considerations for the cellular component of forensic touch DNA. **Forensic Science International: Genetics**, v. 51, n. November 2020, p. 102428, 2021. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102428>>.
- BURRILL, J.; KOMBARA, A.; et al. Exploration of cell-free DNA (cfDNA) recovery for touch deposits. **Forensic Science International: Genetics**, v. 51, n. November 2020, p. 102431, 2021. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102431>>.
- BURRILL, J.; DANIEL, B.; FRASCIONE, N. A review of trace “Touch DNA” deposits: Variability factors and an exploration of cellular composition. **Forensic Science International: Genetics**, v. 39, n. May 2018, p. 8–18, 2019. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.11.019>>.
- BURRILL, J.; DANIEL, B.; FRASCIONE, N. Technical Note: Lysis and purification methods for increased recovery of degraded DNA from touch deposit swabs. **Forensic Science International**, v. 330, p. 111102, 2022. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111102>>.
- BUTLER, J. M. DNA Extraction Methods. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing**, p. 29–47, 2012a.
- BUTLER, J. M. PCR Amplification. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing**, p. 69–97, 2012b.
- COMTE, Jennifer et al. Touch DNA collection – Performance of four different swabs. **Forensic Science International: Genetics**, v. 43, n. May, p. 102113, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.014>>.

DASH, HIRAK RANJAN; SHRIVASTAVA, PANKAJ; DAS, SURAJIT. **Principles and Practices of DNA Analysis: A Laboratory Manual for Forensic DNA Typing**. [S.l.: s.n.], 2020.

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.

DIAS FILHO, C. R.; FRANCEZ, P. A. C. **Introdução à Biologia Forense**. 2. ed. Campinas, SP: Millennium, 2018.

EKKA, M. M.; ARYA, L.; PATEL, B. C. A systematic evaluation of 'Bidi – a hand-rolled cigarette' as a forensic DNA evidence. **Forensic Science International**, v. 324, p. 110821, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.110821>>.

FONNELØP, A. E. et al. The implications of shedder status and background DNA on direct and secondary transfer in an attack scenario. **Forensic Science International: Genetics**, v. 29, p. 48–60, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.03.019>>.

FONSECA, G. M. et al. Lip print identification: Current perspectives. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 65, n. April, p. 32–38, 2019.

GINO, S.; OMEDEI, M. Effects of the most common methods for the enhancement of latent fingerprints on DNA extraction from forensic samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 3, n. 1, p. e273–e274, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.08.133>>.

GOSCH, A.; COURTS, C. On DNA transfer: The lack and difficulty of systematic research and how to do it better. **Forensic Science International: Genetics**, v. 40, n. January, p. 24–36, 2019.

HARPER, L. R. et al. Environmental DNA (eDNA) metabarcoding of pond water as a tool to survey conservation and management priority mammals. **Biological Conservation**, v. 238, n. August, 2019.

JEFFREYS, A. J. et al. Fingerprints of DNA. **Letters to Nature**, p. 6–9, 1985.

KANOKWONGNUWUT, P.; KIRKBRIDE, K. P.; LINACRE, A. Detection of cellular material in lip-prints. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, v. 15, n. 3, p. 362–368, 2019.

KIRGIZ, I. A.; CALLOWAY, C. Increased recovery of touch DNA evidence using FTA paper compared to conventional collection methods. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 47, p. 9–15, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2017.01.007>>.

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**, v. 129, n. 1, p. 25–34, 2002.

MATEEN, R. M.; TARIQ, A. Crime scene investigation in Pakistan: A perspective. **Forensic Science International: Synergy**, v. 1, p. 285–287, 2019.

MATTE, M. et al. Prevalence and persistence of foreign DNA beneath fingernails. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 2, p. 236–243, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.05.008>>.

MCKIERNAN, H. E.; DANIELSON, P. B. **Molecular Diagnostic Applications in Forensic Science**. [S.l.]: Elsevier Ltd, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802971-8.00021-3>>.

MEAKIN, G.; JAMIESON, A. DNA transfer: Review and implications for casework. **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, n. 4, p. 434–443, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.03.013>>.

MISTEK, E. et al. Toward Locard's Exchange Principle: Recent Developments in Forensic Trace Evidence Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 637–654, 2019.

NEGI, A.; NEGI, A. The connecting link! Lip prints and fingerprints. **Journal of Forensic Dental Sciences**, v. 8, n. 3, p. 177, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 7 Porto Alegre: Artmed, 2019.

NIMBKAR, P. H.; BHATT, V. A review on touch DNA collection, extraction, amplification, analysis and determination of phenotype. **Forensic Science International**, v. 336, p. 111352, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111352>>.

OSTOJIC, L.; WURMBACH, E. Analysis of fingerprint samples, testing various conditions, for forensic DNA identification. **Science and Justice**, v. 57, n. 1, p. 35–40, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2016.08.009>>.

POETSCH, M.; BAJANOWSKI, T.; KAMPHAUSEN, T. Influence of an individual's age on the amount and interpretability of DNA left on touched items. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 6, p. 1093–1096, 2013.

RODGERS, T. W.; MOCK, K. E. Drinking water as a source of environmental DNA for the detection of terrestrial wildlife species. **Conservation Genetics Resources**, v. 7, n. 3, p. 693–696, 2015.

ROPER, S. M.; TATUM, O. L. Forensic aspects of DNA-based human identity testing. **Journal of forensic nursing**, v. 4, n. 4, p. 150–156, 2008.

SAISOPHONA, C.; BENCHAWATTANANONB, R. Quantitative Analysis of Nucleic Acids in. v. 2017, n. 3, p. 657–661, 2017.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. R.; MANIATIS, T. (1989). **Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd ed.)**. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

SESSA, F. et al. Touch DNA: Impact of handling time on touch deposit and evaluation of different recovery techniques: An experimental study. **Scientific**

**Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

SHARMA, P. et al. Can lip prints provide biologic evidence? **Journal of Forensic Dental Sciences**, v. 8, n. 3, p. 175, 2016.

TAMAKI, K.; JEFFREYS, A. J. Human tandem repeat sequences in forensic DNA typing. **Legal Medicine**, v. 7, n. 4, p. 244–250, 2005.

TANG, C. et al. Application of magnetic nanoparticles in nucleic acid detection. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1–19, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12951-020-00613-6>>.

THERMADAM, T. P.; CHATRA, L.; AHASAN, A. Cheiloscopy in gender determination: A study on 2112 individuals Tim. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 9, n. 3, p. 1386–1390, 2020. Disponível em: <<http://www.jfmprc.com/article.asp?issn=2249-4863;year=2017;volume=6;issue=1;spage=169;epage=170;aui=Faizi>>.

TURINGAN, R. S. et al. Developmental Validation of the ANDE 6C System for Rapid DNA Analysis of Forensic Casework and DVI Samples. **Journal of Forensic Sciences**, v. 65, n. 4, p. 1056–1071, 2020.

VAN OORSCHOT, R. A. H.; JONES, M. K. DNA fingerprints from fingerprints. **Nature**, v. 387, n. 6635, p. 767, 1997.

VARSHA. DNA fingerprinting in the criminal justice system: An overview. **DNA and Cell Biology**, v. 25, n. 3, p. 181–188, 2006.

## ANEXO I

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense

**Pesquisador:** JULIA DEL PIERO PEREIRA

**Área Temática:** Genética Humana:

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

**Versão:** 3

**CAAE:** 41628920.9.0000.5060

**Instituição Proponente:** Centro de Ciências da Saúde

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.718.879

#### Apresentação do Projeto:

O projeto trata-se de um estudo com propósito de viabilizar e entender as variáveis que influem na obtenção de perfil genético completo por meio de análise de marcadores STR e mini-STRs em amostras de DNA de contato para identificação humana com diversas aplicabilidades no âmbito forense. Para o desenvolvimento do mesmo o pesquisador propõe o seguinte método: "seis voluntários ensaiarão amostras de fingerprints e lip-prints sobre diferentes materiais (vidro, plástico, madeira, entre outros) além de remanescentes do consumo de bebidas (água, refrigerante, vodka entre outras), as quais serão submetidas a diferentes intempéries, períodos, tipo de coleta e extração. Posteriormente as amostras serão quantificadas, amplificadas para análise de STR e mini-STR autossômicos. Após eletroforese capilar e análises estatísticas dos resultados serão divulgados no meio científico a contribuir com os meios de individualização humana nas aplicabilidades forenses."

#### Objetivo da Pesquisa:

Segundo o pesquisador responsável os objetivos do trabalho são:

---

Continuação do Parecer: 4.718.879

"Objetivo Primário:

Investigar a viabilidade de obter perfis genéticos satisfatórios a partir de DNA de contato.

Objetivo Secundário:

- Verificar a possibilidade de obter perfis genéticos completos a partir de DNA de contato de matrizes sólidas e líquidas por meio de análise de mini-STR e STR convencional;
- Estimar a quantidade média de DNA esperada em amostras de DNA de contato;
- Verificar a viabilidade de extração de DNA presente em volume remanescente de bebidas alcoólicas e não alcoólicas após consumo;
- Analisar a possibilidade de variação na qualidade dos perfis obtidos entre as matrizes testadas;
- Analisar se diferentes condições do ambiente influenciam na preservação e amplificação do DNA de contato;
- Avaliar a durabilidade do DNA obtido a partir das amostras de contato; • Examinar eventual interferência de agente revelador de impressão digital na obtenção de perfil genético de qualidade;
- Avaliar o desempenho na recuperação de DNA de diferentes técnicas de coleta e extração, a fim de estabelecer os mais eficazes"

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com JULIA DEL PIERO PEREIRA, os riscos e benefícios do projeto Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense são:

" Riscos:

Esta pesquisa oferece riscos mínimos aos participantes e pesquisadores. A coleta de material biológico dos voluntários será realizada de maneira minimamente invasiva por meio de swab na mucosa oral e vestígios de contato deixados em objetos. Não haverá coleta de qualquer tipo de dado além do necessário para preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme modelo do Anexo A. Os riscos deste

projeto aos pesquisadores se resumem ao contato com materiais perfurocortantes, reagentes químicos e amostras biológicas. A fim de minimizar eventuais danos, todas as etapas seguirão os protocolos de biossegurança, assegurando todos os envolvidos no estudo. Todo o material biológico coletado e o seu subsequente DNA extraído serão descartados como material biológico em recipiente próprio para descarte de material biológico, sem qualquer tipo de identificação da amostra após a finalização da pesquisa.

**TUDO O MATERIAL BIOLÓGICO COLETADO E O SEU SUBSEQUENTE DNA EXTRAÍDO SERÃO UTILIZADOS UNICAMENTE PARA A REALIZAÇÃO DESSA PESQUISA, CONFORME PREVISTO NO SEU**

---

Continuação do Parecer: 4.718.879

PROTOCOLO METODOLÓGICO DESCRITO ABAIXO. DESSA FORMA, ELES FICARÃO ARMAZENADOS EM FREEZER A -8°C NO NÚCLEO DE GENÉTICA HUMANA E MOLECULAR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO APENAS DURANTE O TEMPO MÁXIMO DE EXECUÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA, QUE CONSISTE NO TEMPO DE

3 ANOS, NÃO HAVENDO ANÁLISES ADICIONAIS FUTURAS DIFERENTES DAS PREVISTAS NO PROTOCOLO DE PESQUISA DESTE PROJETO. APÓS A FINALIZAÇÃO DA PESQUISA, TODO O MATERIAL BIOLÓGICO E O SEU SUBSEQUENTE DNA EXTRAÍDO SERÃO DESCARTADOS EM RECIPIENTE PRÓPRIO PARA DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO, SEM QUALQUER TIPO DE IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA. INFORMAMOS AINDA QUE O MATERIAL BIOLÓGICO PERTENCE AO PARTICIPANTE DA PESQUISA PODERÁ, A QUALQUER TEMPO, SER RETIRADO DA PESQUISA SE O PARTICIPANTE ASSIM QUISE, SEM PREJUÍZO OU MULTA E SEM A NECESSIDADE DE DAR EXPLICAÇÕES. NESTE CASO, AS INFORMAÇÕES E A AMOSTRA DO PARTICIPANTE SERÃO EXCLUÍDAS DO ESTUDO E DESCARTADAS, SEM QUALQUER IDENTIFICAÇÃO, EM RECIPIENTE PRÓPRIO PARA DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO.

**Benefícios:**

Não há benefícios diretos ou imediatos aos voluntários, entretanto, a participação dos mesmos auxiliará para a realização do estudo com potencial contribuição para perícia criminal e proveito da comunidade como um todo."

Os riscos e benefícios estão de acordo com a Res. CNS N° 466/12.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

-

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

No projeto Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense do pesquisador JULIA DEL PIERO PEREIRA constam os seguintes documentos:

Folha de rosto: apresentada

Projeto detalhado: apresentado

TCLE: apresentado

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 4.718.879

Cronograma: apresentado

Orçamento: apresentado

**Recomendações:**

-

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

Não há pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1678824.pdf	11/05/2021 19:29:40		Aceito
Outros	CartaResposta_v3_11mai21.doc	11/05/2021 19:28:04	JULIA DEL PIERO PEREIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v3_11mai21.docx	11/05/2021 19:27:39	JULIA DEL PIERO PEREIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhado_v3_11mai21.docx	11/05/2021 19:27:21	JULIA DEL PIERO PEREIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	15/12/2020 19:14:08	JULIA DEL PIERO PEREIRA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

VITORIA, 18 de Maio de 2021

Assinado por:

Maria Helena Monteiro de Barros Miotto  
(Coordenador(a))

## ANEXO II

ANEXO A - Projeto de pesquisa: Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Código da amostra

O(A) Sr.(a) \_\_\_\_\_ foi convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “**Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense**”, sob a responsabilidade de Julia Del Piero Pereira.

Você tem todo o tempo necessário para ler este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A pessoa que agora lhe apresenta este projeto, também se coloca à disposição para responder todas as suas perguntas e prestar todos os esclarecimentos necessários.

#### JUSTIFICATIVA

##### Viabilidade do uso de DNA de contato na genética forense

A genética forense identifica pessoas a partir do material genético (DNA) para testes de paternidade, identificação de cadáveres e análise de vestígios de cenas de crime. Porém, amostras de sangue, fios de cabelo e outros vestígios biológicos convencionais nem sempre são encontrados no local. Nesses casos, uma fonte potencial de material para identificação de indivíduos é por meio de traços de DNA deixados pelo toque/contato das mãos ou boca (impressões digitais e labiais) em superfícies como copos, maçanetas, armas, facas entre outros, até mesmo em resíduos de bebida deixados após o consumo. Nesse sentido, de maneira a contribuir nas investigações forense, é necessário que estudos como este viabilizem e busquem otimizar o processo de recuperação de DNA de vestígios de toque.

#### OBJETIVO(S) DE PESQUISA

Este estudo investiga a viabilidade da coleta e realização de testes para identificação humana a partir de DNA de contato deixado em impressões digitais, labiais e resíduos de bebidas.

#### PROCEDIMENTOS

Caso concorde em participar dessa pesquisa, precisaremos realizar a coleta de células da sua mucosa oral (boca) usando um *swab* (cotonete) de algodão.

Logo após, agendaremos outros momentos conforme sua disponibilidade e conveniência para coleta de suas impressões digitais nas seguintes superfícies: vidro, plástico, alumínio, madeira, papel e cerâmica; e também impressões labiais (marca dos lábios) nos seguintes recipientes: copo de vidro, lata de alumínio e canudo de plástico deixadas após o consumo de pequenas doses (máximo 30mL) de bebidas (alcoólicas e não alcoólicas) sendo elas: café, água, refrigerante, cerveja e vodka. A obtenção das impressões digitais será realizada a partir da impressão do polegar pressionado por 10 segundos em cada matriz individualmente, enquanto para obter as impressões labiais orientamos que você faça a ingestão de até 30 mL das bebidas alcoólicas e não alcoólicas mencionadas acima, da maneira como ingere normalmente e sem cronometragem de tempo. Os resíduos dessas

ANEXO A - Projeto de pesquisa: Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense



bebidas, deixados nos recipientes após consumo, também serão recolhidos para a pesquisa.

Por questões de segurança, os voluntários que irão ingerir bebidas alcoólicas não deverão dirigir após o procedimento.

#### **DURAÇÃO E LOCAL DE PESQUISA**

Todas as amostras biológicas serão coletadas no Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ficarão armazenadas neste respectivo local em freezer a  $-8^{\circ}\text{C}$  por 36 meses até o término da pesquisa. Finalizada a pesquisa, todo o material biológico e genético será descartado sem qualquer tipo de identificação.

#### **DESCONFORTOS E RISCOS**

Os riscos para participação nesta pesquisa são mínimos. A coleta não oferece desconforto algum, uma vez que são procedimentos não invasivos e livres de materiais perfurocortantes. Além disso, os pesquisadores adotaram medidas que garantam a segurança do procedimento. Todos os materiais envolvidos na coleta (swab de algodão, superfícies, objetos e recipientes) são estéreis ou previamente higienizados. As bebidas utilizadas permanecerão com lacre original e conservadas conforme indicação do fabricante até o momento da coleta.

#### **BENEFÍCIOS**

Este projeto de pesquisa não oferece benefícios diretos a você. O benefício principal de sua participação é a oportunidade de ajudar a aprimorar os conhecimentos na área dos exames forenses, ao contribuir em uma pesquisa que visa o melhor aproveitamento das fontes de DNA disponíveis para identificação de pessoas envolvidas em delitos.

#### **ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA**

Após a doação das amostras não haverá ações posteriores ou acompanhamentos. De toda forma, a qualquer momento durante o andamento da pesquisa, você poderá ter livre acesso aos resultados de todos os testes/exames feitos com seu material genético bem como outros esclarecimentos relativos à pesquisa.

#### **GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO**

Você poderá desistir de sua participação a qualquer momento sem prejuízo ou multa e sem a necessidade de dar explicações. Neste caso, suas informações e sua amostra serão excluídas deste estudo e descartadas sem qualquer identificação. Da mesma forma, você possui plena liberdade de negar-se a responder perguntas.

#### **GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE**

Como medidas de proteção aos dados individuais, todos os documentos referentes a você (o presente documento e os resultados genéticos) serão acessíveis somente aos pesquisadores diretamente envolvidos, sendo proibido o acesso a terceiros.



#### GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO E INDENIZAÇÃO

O presente estudo tem finalidade científica sem fins lucrativos. Não haverá, portanto, qualquer ressarcimento ou indenização aos participantes, nem em relação a custo de deslocamento. Se você concordar com o uso de sua amostra biológica, como descrito acima, esclarecemos que não haverá cobrança de qualquer tipo de pagamento ou taxa como condição para sua participação. Sua inclusão neste projeto é voluntária e você não sofrerá penalidade caso não autorize a utilização de sua amostra biológica.

#### ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) pode contatar a pesquisadora Julia Del Piero Pereira no telefone (27) 4009-2324, no endereço Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Departamento de Ciências Biológicas, Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM), Prédio Lydia Behar - bloco A, sala 101, térreo, Av. Fernando Ferrari, 514, CEP: 29075-910, Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo.

Você ainda tem a liberdade de consultar outros pesquisadores envolvidos neste projeto:

Pesquisador (a)	Função	Instituição	Telefone	Email
Iúri Drumond Louro	Doutor em Bioquímica e Genética Molecular e Professor	UFES (Vitória)	(27)99969-4211	iurilouro@yahoo.com
Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos	Doutora em Biotecnologia e Professora	UFES (Vitória)	(27)99966-0233	eldamariaww@yahoo.com.br
Bárbara Gomes de Oliveira Bessa	Biomédica e mestranda	UFES (Vitória)	(27)99517-8684	bgobessa@gmail.com
Julia Del Piero Pereira	Bióloga e mestranda	UFES (Vitória)	(27)99742-4881	juliadelpieropereira@gmail.com

O(A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail [cep.ufes@hotmail.com](mailto:cep.ufes@hotmail.com) ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, das 8h às 17h.

Declaro que fui verbalmente informado(a) e esclarecido(a) sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinado pelo(a) pesquisador(a) principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

ANEXO A - Projeto de pesquisa: Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense



Participante / Responsável legal

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa **“Vestígios biológicos: abordagens metodológicas de amostras desafiadoras na análise forense”**, eu, Julia Del Piero Pereira, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3, da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

---

Pesquisador responsável pela obtenção do consentimento