



Princípios de genética forense

Autor(es): Corte-Real, Francisco; Vieira, Duarte Nuno

Publicado por: Imprensa da Universidade de Coimbra

URL persistente: URI:<http://hdl.handle.net/10316.2/38492>

DOI: DOI:<http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7>

Accessed : 7-Jun-2021 20:50:30

A navegação consulta e descarregamento dos títulos inseridos nas Bibliotecas Digitais UC Digitalis, UC Pombalina e UC Impactum, pressupõem a aceitação plena e sem reservas dos Termos e Condições de Uso destas Bibliotecas Digitais, disponíveis em <https://digitalis.uc.pt/pt-pt/termos>.

Conforme exposto nos referidos Termos e Condições de Uso, o descarregamento de títulos de acesso restrito requer uma licença válida de autorização devendo o utilizador aceder ao(s) documento(s) a partir de um endereço de IP da instituição detentora da supramencionada licença.

Ao utilizador é apenas permitido o descarregamento para uso pessoal, pelo que o emprego do(s) título(s) descarregado(s) para outro fim, designadamente comercial, carece de autorização do respetivo autor ou editor da obra.

Na medida em que todas as obras da UC Digitalis se encontram protegidas pelo Código do Direito de Autor e Direitos Conexos e demais legislação aplicável, toda a cópia, parcial ou total, deste documento, nos casos em que é legalmente admitida, deverá conter ou fazer-se acompanhar por este aviso.



PRINCÍPIOS DE GENÉTICA FORENSE

FRANCISCO CORTE-REAL
DUARTE NUNO VIEIRA



PRINCÍPIOS

DE GENÉTICA

FORENSE

FRANCISCO CORTE-REAL
DUARTE NUNO VIEIRA

COLEÇÃO SAÚDE

TÍTULO TITLE

Princípios de Genética Forense

COORDENADORES COORDINATORS

Francisco Corte-Real

Duarte Nuno Vieira

PREFÁCIO PREFACE

Guilherme de Oliveira

EDITOR PUBLISHER

Imprensa da Universidade de Coimbra

Coimbra University Press

CONTACTO CONTACT

www.uc.pt/imprensa_uc

imprensa@uc.pt

VENDAS ONLINE ONLINE SALES

<http://livrariadaimprensa.uc.pt>

COORDENAÇÃO EDITORIAL EDITORIAL COORDINATION

Imprensa da Universidade de Coimbra

DIREÇÃO DE IMAGEM DIRECTION OF IMAGE

António Barros

INFOGRAFIA INFOGRAPHICS

Carlos Costa

EXECUÇÃO GRÁFICA GRAPHIC EXECUTION

Norprint - a casa do livro

ISBN

978-989-26-0956-0

ISBN Digital

978-989-26-0957-7

DOI

<http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7>

DEPÓSITO LEGAL LEGAL DEPOSIT

400187/15

© Outubro 2015

IMPRENSA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

COIMBRA UNIVERSITY PRESS

PRINCÍPIOS

DE GENÉTICA

FORENSE

FRANCISCO CORTE-REAL
DUARTE NUNO VIEIRA

(Página deixada propositadamente em branco)

SUMÁRIO

Prólogo	7
Francisco Corte-Real e Duarte Nuno Vieira	
Prefácio	9
Guilherme de Oliveira	
Capítulo 1	19
Colheita e acondicionamento de amostras biológicas para identificação genética	
Maria João Anjos Porto	
Capítulo 2	43
Criminalística biológica	
M. Fátima Pinheiro	
Capítulo 3	75
Identificação genética de desconhecidos	
Rosa Maria Espinheira	
Capítulo 4	95
Investigação biológica de parentesco	
Paulo Dario e Helena de Seabra Geada	
Capítulo 5	125
Alguns conceitos de genética populacional com relevância em genética forense	
Luis Souto	
Capítulo 6	145
Base de dados de perfis de ADN	
Francisco Corte-Real	
Capítulo 7	179
Problemas éticos do uso da genómica individual na investigação criminal	
Bárbara Santa Rosa	

(Página deixada propositadamente em branco)

PRÓLOGO

Imparcialidade, independência, veracidade e prudência são aspectos fundamentais no âmbito da intervenção da perícia forense. Aspectos que têm de estar necessariamente associados a competência e objetividade e a rigorosos princípios de controlo de qualidade. Princípios que só podem ser assegurados se forem seguidas as normas e as metodologias estabelecidas pela comunidade científica internacional e se, na actividade pericial, se utilizar linguagem objectiva, rigorosa e clara.

As ciências forenses têm registado uma assinalável evolução, um substancial alargamento dos seus domínios de intervenção e um notável aprofundamento dos conhecimentos e das matérias que integram os seus diversos ramos, os quais envolvem cada vez mais complexas especificidades. Tais especificidades científicas têm, contudo, de ser perceptíveis por todos aqueles que, não sendo especialistas na área em causa, se podem ver confrontados com a necessidade de compreender e interpretar relatórios periciais. Com efeito, servirá de pouco um relatório pericial que não consiga transmitir aos não especialistas o sentido, alcance e limitações do que foi possível concluir na situação concreta. Uma perícia forense pode ser realizada de forma correcta e completa, seguindo todas as normas científicas consensualmente aceites, mas se não for entendível pelos não especialistas na área, designadamente por magistrados e advogados, não contribuirá certamente para a melhor realização da Justiça. O vocabulário utilizado, as explicações dadas, os argumentos apresentados, deverão ser devidamente adaptados a quem vai ter de os ler e perceber para melhor poder decidir. O perito

deverá assim ser possuidor não apenas de conhecimentos vastos e profundos nas matérias sobre que se pronuncia, mas deverá possuir também a humildade científica suficiente que o habilite a simplificar e a explicar o seu discurso, a ser facilmente inteligível para quem não pertence nem domine a sua área, mas que tem a complexa incumbência de decidir.

A Genética Forense constitui uma das áreas mais apaixonantes das ciências forenses e, seguramente, uma das que mais evoluiu nos últimos anos. Os diferentes tipos de polimorfismos genéticos actualmente disponíveis bem como as técnicas, as metodologias e os equipamentos ao dispor da comunidade científica, permitem uma diversidade e profundidade de resultados que não se imaginavam há alguns anos atrás. Além disso, é uma ciência com características muito particulares, designadamente por permitir quantificar a força dos seus resultados. Estes aspectos fazem com que seja uma área com capacidades extremamente relevantes no apoio à Justiça, desde que devidamente aproveitada, concretizada e compreendida. As múltiplas especificidades que envolve devem, repete-se, ser apreendidas e percebidas por aqueles que vão receber e interpretar os relatórios periciais. A título de exemplo, refira-se a necessidade de se saber que quando se procede à identificação genética de um pretense pai ou de um “alegado criminoso” se realiza sempre uma comparação com a probabilidade do resultado se o pai ou o “criminoso” for um homem ao acaso da população. E é também necessário saber-se que para se “determinar” esse homem ao acaso é importante que seja indicada qual a população de referência

a considerar, pois a constituição genética pode variar muito entre diferentes populações.

A procura da simplificação e da explicitação de conceitos deve ser um objectivo permanente dos peritos forenses, bem como dos docentes responsáveis pela formação de juristas ou futuros juristas, entre outros. Se tal não for conseguido não é seguramente por responsabilidade dos que desejam aprender, mas daqueles que têm o dever de ensinar e de clarificar noções e conceitos.

Neste contexto, este livro pretende ser um contributo para que a Genética Forense seja mais compreendida e que, por essa via, possa melhor auxiliar a realização da Justiça.

Francisco Corte-Real, Duarte Nuno Vieira

PREFÁCIO

Há anos, perguntava-se a deputados de um certo estado norte americano: “Onde estão situados os genes?” Parte significativa das respostas dizia: “na cabeça”. Não pode censurar-se a resposta por ela ser depreciativa; na verdade, o local indicado tem a sua dignidade ou, pelo menos, há pior. Outra parte dos inquiridos respondeu: “no corpo”. Convenhamos em que a resposta, apesar de genérica e muito defensiva, não deixa de estar certa. E, afinal, o corpo é um lugar bastante razoável para guardar os nossos genes...

Interessa-me sublinhar que respostas deste tipo poderiam ser dadas em todo o mundo, até hoje, mostrando uma certa ignorância generalizada relativamente a uma área científica que irrompeu pelos tratados e pelos laboratórios sem pedir licença, com uma taxa de crescimento enorme, e que alterou irreversivelmente a prática clínica.

O efeito-surpresa deste fenómeno arrasador encontrou a humanidade desapetrechada para compreendê-lo e, sobretudo, para medir o alcance das suas implicações. A Genética, ainda hoje é desconhecida e mesmo assustadora para muitos cidadãos, e falar de Genética lembra frequentemente galinhas sem penas e outras coisas bizarras.

Os conhecimentos da Genética foram facilmente transpostos para outros sectores da vida, como o da atividade forense. E este livro é sobre Genética Forense.

Mas o “mundo” dos juristas não tinha nenhuma razão para se manifestar mais tranquilo do que o comum dos cidadãos. A formação académica em letras e humanidades não predispunha os juristas para aceitar facilmente as conquistas científicas. Os meios de prova científica foram recebidos com

alguma desconfiança, que era gerada pela dificuldade de perceber os instrumentos de análise e os procedimentos. Por exemplo, quando a reforma do código civil de 1977 admitiu a prova da data provável da concepção ou, dito de outro modo, a prova do tempo de gestação (art. 1800.º) um respeitado comentador ironizava com o novo regime, escrevendo que, daí em diante, os juízes teriam de pôr-se a adivinhar... E eu compreendo que não era fácil, nessa altura, procurar esclarecimentos sobre os métodos que os neonatologistas já usavam, quando queriam compreender as origens de alguma anomalia do recém-nascido, e que serviam para produzir a prova científica de que falava a norma.

Recordo também que, numa certa época, acelerou-se muito o progresso das provas sanguíneas para identificação, designadamente em ações de parentesco, sobretudo quando se aproveitou a técnica da histocompatibilidade desenvolvida para os transplantes, mesmo antes da generalização das técnicas genéticas. Os resultados negativos chegavam com frequência aos 99,9999%. Porém, os juristas que queriam contrariar a negação da paternidade alegavam facilmente que o resultado não era certo, isto é, 100% certo, e que era importante tomar em consideração a margem de erro de 0,0001%, ignorando que, provavelmente, a margem de erro de todas as outras decisões judiciais é superior...

A verdade é que os juristas nunca receberam as bases de biologia e bioquímica que podiam facilitar a absorção dos conceitos e da prática genética. Assim, de um modo geral, precisam de algum tempo para aderir às aplicações forenses das conquistas científicas.

2. A vida de cada um de nós progride sempre dentro de vários filmes simultâneos que ignoramos por distração. A mim, calhou-me ocupar um posto de observação privilegiado para acompanhar o desenvolvimento dos progressos da biologia e da genética forense, especificamente relacionadas com as ações de parentesco; foi-me dado perceber a dimensão do progresso e as repercussões que ele teve no Direito e na prática dos tribunais.

As ações de parentesco foram sempre, na sua grande maioria, ações de investigação da paternidade. Não se pode negar que era possível usar exames de sangue desde há muitos anos, ao abrigo das normas do código civil e do código de processo civil que autorizavam as provas periciais. Porém, os instrumentos de que os laboratórios dispunham eram imprecisos ou inadequados para muitos casos. Por outro lado, as leis não estimulavam a prova da “verdade biológica” do parentesco. Na verdade, até à reforma de 1977, a busca da “verdade biológica” não era a prioridade do sistema jurídico, que preferia deixar à liberdade do eventual progenitor o reconhecimento da paternidade jurídica; de acordo com o regime tradicional das investigações de paternidade, o suposto filho só podia obter a condenação do pai se este tivesse praticado factos que mostravam a sua convicção de paternidade ou que, de algum modo, o faziam perder uma espécie de imunidade que as leis lhe concediam. Num contexto legal assim, acredito que nem houvesse motivação para tentar desenvolver os meios técnico-laboratoriais.

Em 1977, o regime legal do código civil afirmou a admissibilidade do uso de “exames de sangue e quaisquer outros métodos cientificamente comprovados” (art. 1801.º). É claro que as provas periciais já eram admitidas e, portanto, parece que

esta norma não acrescentou nada de novo. Porém, o conjunto das alterações produzidas nessa época acrescentou muito. Em primeiro lugar, a afirmação mencionada foi a bandeira de todo o novo regime legal que estabeleceu a busca da “verdade biológica” como a prioridade do sistema de ações de filiação. Em segundo lugar, o direito da filiação manifestou-se aberto a todos os progressos científicos consistentes, designadamente originários da medicina da reprodução, que era basicamente proibida de entrar nas discussões dos tribunais.

Neste novo quadro legal, era de esperar que as ações de parentesco se apoiassem sobretudo no resultado das técnicas da Biologia Forense, e assim ficou aberto o caminho para uma utilização ampla dos meios científicos.

3. O enorme progresso dos resultados da Biologia e da Genética Forense mostraram-se em primeiro lugar pela forma mais óbvia, isto é, com mais ações a recorrer aos meios científicos e com mais decisões fundamentadas nesses meios. Os meios periciais antigos podiam ser dispensáveis nas ações em que eram invocados, mas os resultados modernos tornaram-se insubstituíveis. Neste sentido, os avanços da Biologia e da Genética Forense impuseram-se ao Direito.

Mas as consequências foram muito mais amplas; elas traduziram-se em verdadeiras mudanças do regime legal, ou pelo menos em grandes desafios para o Direito. Os apontamentos que se seguem sumarizam questões que o Direito não teria enfrentado se não tivesse sido obrigado a fazê-lo pela Genética Forense.

- a) Um dos temas mais conhecidos da prática das ações de investigação de paternidade

era o da pluralidade dos progenitores possíveis. Sempre que um réu podia alegar que outro homem tinha mantido relações sexuais com a mãe do autor, durante o período em que o filho podia ter sido concebido, invocava a *exceptio plurium concubentium*. Nestes casos, o tribunal não tinha meios para distinguir qual dos homens tinha sido o causador da concepção e, portanto, não podia decidir. A ação acabava aí e não procedia.

As coisas modificaram-se radicalmente quando os meios de prova conseguiram distinguir entre os vários parceiros sexuais qual é que tinha causado a concepção; a partir deste momento, o juiz podia decidir quem era o pai. Então, já não havia motivo para fazer terminar a ação; ela podia continuar para fazer as provas necessárias e só terminaria quando o juiz pudesse determinar a paternidade.

A defesa baseada na pluralidade de relações sexuais — que foi insuperável durante séculos — deixou de ter um valor decisivo.

- b) Um outro tema — mais moderno e menos conhecido — é apresentado pelas ações de investigação de paternidade em que não se consegue fazer a prova de que houve relações sexuais entre a mãe do autor e o réu, ou não é seguro que elas tenham ocorrido dentro do período legal da concepção; mas obtêm-se resultados periciais indiscutíveis que afirmam a progenitura.

Ora, na tradição técnico-jurídica mais funda, não era concebível declarar a paternidade do réu sem ter conseguido aquela prova das relações

sexuais causantes do nascimento. Claro que isto era assim porque não havia outra maneira de atingir a conclusão da paternidade. Hoje, porém, o vínculo biológico demonstra-se diretamente pelos meios da Genética Forense. E, por esta razão, tornou-se insólito que um tribunal se abstenha de declarar a paternidade, com base na inconsistência da prova sobre as relações sexuais fecundantes, apesar de dispor de uma prova científica suficiente sobre a existência do vínculo biológico entre o filho investigante e o réu.

A quesitação direta da paternidade biológica, cuja resposta depende dos meios científicos, está fazer o seu caminho inexoravelmente. A responsabilidade vai, também aqui, para as potencialidades contemporâneas da Biologia e Genética Forenses.

- c) Pode obrigar-se o réu a fazer exames periciais?

O sentimento, progressivamente generalizado entre os juristas, de que as conclusões da Biologia e da Genética Forenses tinham uma capacidade insuperável para esclarecer as disputas judiciais instalou subrepticamente a expectativa de que todas as ações de filiação fossem instruídas com provas científicas. Compreensivelmente, começou a identificar-se um dever jurídico de comparecer perante as entidades técnicas para a sujeição a perícias.

Este tema não tem sido pacífico entre os civilistas porque, se é relativamente fácil identificar o dever, tudo se complica quando se imagina o seu incumprimento e se propõem tanto os meios compulsórios quanto as sanções. Pode dizer-se que há um dever de colaboração do réu para a

descoberta da verdade (art. 417.º CodProcCiv) mesmo quando a colaboração supõe um gesto de natureza tão pessoal? Pode ser aplicada uma sanção de multa pela falta de comparência? Pode ser usada a força física para obrigar o réu a cooperar? Segundo parece, a solução que vem tomando corpo é a de reconhecer um dever de sujeição aos exames, de aplicar a sanção de multa contra a recusa, de rejeitar a compulsão pela força física e, por fim, de usar a inversão do ónus da prova prevista no art. 344.º, n.º CCiv.

- d) Será possível reabrir uma causa com base em novos resultados periciais que não podiam obter-se na época em que ela decorreu? Novos resultados obtidos com os métodos modernos mais eficazes?

Julgo que os biólogos e geneticistas estranham até que se apresente o problema porque, no seu entender, a solução óbvia é a reabertura dos processos. Porém, os juristas têm a maior dificuldade em ampliar os tipos de casos em que se admite a reabertura de causas terminadas pelo “caso julgado”. Na verdade, todo o sistema jurídico e judiciário tende para a formação do “caso julgado” — o momento em que atinge a *paz jurídica*, depois de se terem aberto as oportunidades de discussão e de recurso. Reabrir processos terminados significa frustração, uma espécie de desprestígio que desacredita o sistema... É certo que a Justiça impõe certos casos de reabertura, muito limitados; mas a Certeza e a Segurança do Direito são valores também essenciais do sistema que se opõem à reapreciação dos direitos que foram previamente definidos.

Admito, porém, que não tardará muito que estes casos de obtenção de novos resultados periciais,

fruto dos progressos da Genética Forense, sejam fundamento para a revisão dos casos julgados.

- e) Os progressos visíveis e sólidos obtidos no laboratório, têm suscitado mesmo a questão de saber até quando será preciso um processo judicial para resolver questões que são, principal ou exclusivamente, resolvidas pelas perícias. Para quê o tribunal, com as suas demoras, rigidez e despesas? Não bastaria o laboratório?

Julgo que a sedução da rapidez, da flexibilidade e da economia de meios não justifica que se abandone a instância típica da solução de litígios. O tribunal é o lugar de onde se pode vigiar a legitimidade das partes, a igualdade das armas de cada uma, a regularidade dos procedimentos usados, a ocorrência de alguma singularidade que escape ao habitual. São conhecidos alguns casos em que os abusos ou os acasos da vida trocam as voltas à normalidade, e é necessário que alguma instância garanta que tudo corre como deve. O recurso ao terceiro imparcial vai continuar adequado, ainda que se possam flexibilizar procedimentos e tornar o processo mais rápido.

4. Apesar de a minha área de estudo não abranger a criminologia e o direito criminal, creio que posso perceber a transposição dos procedimentos de Genética Forense para esses domínios e alcançar o valor dos resultados para o rigor da perseguição criminal e a justiça das decisões judiciais.

A conquista mais recente — a criação da Base de dados de perfis de ADN — foi objeto de controvérsia que acompanhei à distância.

O projeto, para além de ter de cumprir os requisitos gerais da prova em processo penal, o que parecia indiscutível, foi contestado mais por razão da desconfiança relativamente à utilização dos conhecimentos de Genética do que por causa de algum motivo real e consistente. Levantou-se um clamor contra as eventuais utilizações abusivas do sistema. Mas parecia-me surpreendente que os receios viessem dos mesmos cidadãos que já aceitaram a colheita e a conservação de amostras de sangue, na altura dos nascimentos dos filhos, para o teste do pezinho; estas amostras têm sido conservadas na maior tranquilidade, embora, a haver perigos de uso abusivo, estes perigos seriam muito mais amplos relativamente a essas amostras de sangue do que a perfis de ADN.

A Base fará o seu caminho e será um instrumento imprescindível para a boa qualidade da reação criminal.

5. Este livro não é um compêndio de Genética para principiantes; este livro é para quem já possui conhecimentos técnicos e deseja ganhar formação em Genética Forense. Apreciando-o de fora, creio que os textos cobrem todos os temas necessários e são escritos com a simplicidade de quem quer comunicar, servir os colegas que vão iniciar-se na área, e prescinde de toda a inútil ostentação científica. Não é difícil prognosticar que ele vai ser amplamente lido por biólogos, geneticistas e outros técnicos com formação próxima e, assim, cumprirá a sua função.

Mas os juristas também podem tentar lê-lo. Os mais aplicados ficarão com uma visão mais profunda sobre a contribuição da genética populacional, perceberão os vários tipos de casos que se apresentam nos laboratórios e as exigências que eles põem aos peritos, acompanharão melhor

as controvérsias sobre, por exemplo, a Base de dados de perfis de ADN. Os juristas menos aplicados têm aqui a oportunidade para bisbilhotar um pouco dentro dos serviços e ganharão, no mínimo, um grande respeito pelos resultados finais que chegam ao “mundo jurídico”; verão que os resultados finais são fruto de um trabalho cuidadoso e sofisticado, produto de investigação científica profunda feita por técnicos de alto nível.

6. Os progressos são feitos por pessoas. Parte destas pessoas escreveram os capítulos deste livro; outras são recordadas por todos os que estiveram próximos da evolução da Genética Forense.

Conheci principalmente o grupo de Coimbra, que pode gabar-se do serviço que criou.

Tenho agora esta oportunidade para agradecer a todos, publicamente, a simpatia e a amizade com que me receberam e introduziram nos rudimentos da Biologia Forense. Não estranharão que destaque Fernando Oliveira Sá e Maria da Conceição Vide — o primeiro porque me autorizou amavelmente a frequentar o Instituto que dirigia e a segunda porque tolerou estoicamente a ignorância do jurista. E também Duarte Nuno Vieira e Francisco Corte-Real, pela amizade de muitos anos e pela distinção que me fazem com esta participação.

Este livro, que junta profissionais de vários laboratórios, é um símbolo de serviço público e de cooperação técnica. Honra quem o projetou e quem o escreveu. Pela minha parte, sempre pensei que a competência pega-se; se eu estiver junto dos competentes ficarei um pouco melhor.

Coimbra, 20/09/2014

Guilherme de Oliveira

AFILIAÇÃO DE AUTORES

BÁRBARA SANTA ROSA

Licenciada e Mestre em Medicina pela Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior. Aluna do Doutoramento em Bioética do Instituto de Bioética do Centro Regional do Porto da Universidade Católica Portuguesa. Especialista em Medicina Legal da Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses. Habilitada com o Curso Superior de Medicina Legal e Ciências Forenses e a Pós-Graduação em Avaliação do Dano Corporal Pós-Traumático.

FRANCISCO CORTE-REAL

Licenciado, Mestre e Doutoramento em Medicina (Medicina Legal), pela Universidade de Coimbra, sendo Professor da Faculdade de Medicina. Especialista em Medicina Legal e Presidente do Colégio da Especialidade de Medicina Legal da Ordem dos Médicos. Desempenhou funções de Director da Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal. Foi Presidente da Associação Portuguesa de Avaliação do Dano Corporal, Presidente da Sociedade Portuguesa de Genética Humana, co-Presidente do *21st International Congress da International Society for Forensic Genetics*, e coordenador da Comissão que elaborou o projecto de Lei sobre a Base de Dados de Perfis de ADN. Representou Portugal na EDNAP (*European DNA Profiling Group*) e no *Prum Treaty DNA Technical Working Group*.

HELENA GEADA

Licenciada em Engenharia Química pelo Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa e Doutorada em Bioquímica pela Universidade de Lisboa. Professora Auxiliar de Medicina Legal e Ciências

Forenses da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Desempenhou as funções de Diretora Científica do Serviço de Biologia Forense do Instituto de Medicina Legal de Lisboa e de colaboradora do Serviço de Genética e Biologia Forense da Delegação do Sul do Instituto Nacional de Medicina Legal. Foi membro da *Paternity Testing Commission da International Society for Forensic Genetics*.

M. FÁTIMA PINHEIRO

Licenciada em Farmácia pela Universidade do Porto (UP) e Doutorada em Ciências Biomédicas pelo Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da UP. Docente, coordenadora e regente de disciplinas das áreas de Medicina Legal e Genética Forense em diversos estabelecimentos universitários. Foi Diretora do Serviço de Genética e Biologia Forense do Instituto de Medicina Legal do Porto (aposentada desde junho de 2013). Coordenadora dos livros *CSI Criminal*, *CSI Catástrofes e Genética Forense. Perspectivas da identificação genética*.

MARIA JOÃO ANJOS PORTO

Licenciada em Bioquímica pela Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Diretora do Serviço de Genética e Biologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. (INMLCF), representante de Portugal na EDNAP (European DNA Profiling Group) e do INMLCF na ENFSI (European Network of Forensic Science Institutes).

LUÍS SOUTO

Doutorado em Ciências Biomédicas pela Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (2008), Mestre

em Genética Humana Aplicada pela Universidade do Porto (1997), Licenciatura em Biologia Universidade de Aveiro (1986), pertenceu ao quadro do ex-instituto de Medicina Legal de Coimbra (1993-1999) sendo atualmente professor auxiliar convidado da Universidade de Aveiro. Além de outras disciplinas, assegura a regência de Biologia do Genoma e de Biologia e Genética Forense e coordena os Cursos Livres de Introdução às Ciências Forenses, em sucessivas edições anuais desde 2008. Coordena o projeto europeu EURO4SCIENCE.

PAULO DARIO

Licenciado em Biologia Microbiana e Genética, Mestre em Medicina Legal e Ciências Forenses, encontrando-se a realizar o Doutoramento em Biologia (Genética), pela Universidade de Lisboa. Especialista Superior de Medicina Legal no Serviço de Genética e Biologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P. (Delegação do Sul) onde exerce também as funções de Responsável da Qualidade. Integra a bolsa de avaliadores do IPAC - Instituto Português de Acreditação, I.P. como perito técnico para a área da genética. Colaborou com diversos cursos de pré e pós-graduação nas áreas da biologia molecular e da genética forense de diferentes Instituições públicas e privadas.

ROSA MARIA ESPINHEIRA

Licenciada em Biologia (ramo científico) pela Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Assessora de Medicina Legal na especialidade de Genética Forense. Desempenhou funções de Directora de Serviço de Genética e Biologia Forense da Delegação de Lisboa do Instituto Nacional de Medicina Legal.

(Página deixada propositadamente em branco)

Capítulo 1

COLHEITA E ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS
BIOLÓGICAS PARA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA

Maria João Anjos Porto

Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.

Cencifor – Centro de Ciências Forenses

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_1](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_1)

RESUMO

Os avanços tecnológicos desenvolvidos nas últimas décadas na área forense, nomeadamente em genética forense, têm permitido a identificação genética de uma grande diversidade de amostras biológicas, cujos resultados são avaliados pelo sistema judicial. No entanto, as amostras recolhidas nas cenas de crime ou procedentes de cadáveres ou restos cadavéricos encontram-se muitas vezes degradadas, contêm inibidores ou foram sujeitas a condições ambientais adversas que alteram a estrutura do DNA, diminuindo deste modo a sua qualidade e consequentemente reduzindo as hipóteses de sucesso da análise genética. Assim, a capacidade de recolher apropriadamente, acondicionar, analisar e preservar as amostras biológicas é crucial para a manutenção da sua integridade.

A selecção e recolha das amostras a enviar aos laboratórios forenses deve ser efectuada por pessoal habilitado e com formação específica para o efeito, sendo necessário tomar as necessárias precauções relativamente à identificação de modo a garantir a sua autenticidade. A integridade das amostras deverá ser acautelada através do acondicionamento em embalagens apropriadas, sendo crucial a manutenção de condições adequadas ao seu armazenamento de modo a evitar que se degradem. As evidências sujeitas a exame genético deverão ainda ser acompanhadas de documentação apropriada que deve incluir a respectiva cadeia de custódia.

PALAVRAS-CHAVE

Colheita; acondicionamento; cadeia de custódia; identificação genética.

SUMMARY

Technological progresses in recent decades in the forensic field, particularly in forensic genetics, have allowed the genetic identification of a wide range of biological samples, whose results are evaluated by the judicial system. However, samples collected at crime scenes or originating from cadavers or skeletal remains are often degraded, contain inhibitors or have been subjected to adverse environmental conditions that alter the structure of the DNA, thereby lowering its quality and consequently reducing chances of a successful genetic analysis. Thus, the ability to properly collect, pack, preserve and analyze biological specimens is critical to the maintenance of its integrity.

The selection and collection of samples to be sent to forensic laboratories by qualified and specially trained staff for this purpose should be performed, taking the necessary precautions for the identification to ensure its authenticity. The samples' integrity must be safeguarded through the packaging in suitable containers, being crucial the maintenance of suitable conditions for their storage in order to avoid becoming degraded. Evidence subject to genetic analysis should also be accompanied by appropriate documentation to include its chain of custody.

KEYWORDS

Collection; packaging; chain of custody; genetic identification.

1. INTRODUÇÃO

A introdução de técnicas de biologia molecular (nomeadamente da PCR – Polymerase Chain Reaction) nos laboratórios forenses, tem permitido garantir a identificação genética de um número cada vez maior de amostras biológicas, as quais se encontram muitas vezes degradadas ou contêm quantidades diminutas de DNA. O DNA encontra-se presente em todas as células nucleadas existentes no material biológico a identificar, o qual deve ser cuidadosamente manipulado nas várias fases da investigação de modo a poder ser obtida a correcta identificação das amostras, cujos resultados são muitas vezes um valioso contributo para a decisão judicial.

As amostras colhidas para fins forenses têm várias aplicações, nomeadamente as da investigação biológica da paternidade ou investigações de parentesco, identificação de cadáveres e restos cadavéricos através da comparação com os seus possíveis familiares e ainda a identificação de vestígios biológicos criminais. As evidências recolhidas no local do crime podem associar ou excluir determinada pessoa da prática de um ilícito, nomeadamente quando há transferência directa de material biológico entre distintos indivíduos ou para algum objecto relacionado (por exemplo a arma do crime). Deste modo, a análise de DNA dos vestígios biológicos criminais permite relacionar nomeadamente:

1. O suspeito com a vítima e vice-versa;
2. O suspeito e a vítima com o local do crime;
3. Os objectos utilizados no crime com o local, suspeitos e vítimas.

As amostras biológicas mais comuns num laboratório forense são o sangue ou manchas de sangue, saliva, sémen ou manchas seminais, ossos, dentes, tecidos e órgãos, pêlos e cabelos, unhas e raspados subungueais, entre outras. Apesar de as técnicas actualmente utilizadas na identificação genética serem extremamente sensíveis e permitirem muitas vezes a obtenção de perfis de DNA em amostras que contêm apenas algumas células tais como as impressões digitais, vários factores podem influenciar os resultados obtidos nas evidências.

A quantidade de DNA que se consegue extrair a partir do material recolhido varia de acordo com a respectiva amostra, mas está também muitas vezes dependente das condições ambientais ou contaminação bacteriana a que esteve sujeita. A qualidade das amostras biológicas sujeitas a condições adversas pode diminuir se o DNA se degradar (mesmo que se trate de uma grande mancha de sangue), tornando-as muitas vezes inúteis. Também o grau de pureza das amostras pode condicionar a obtenção de resultados: sujidades, gorduras, determinados corantes utilizados para tingir os tecidos, o ácido húmico e outras substâncias, podem inibir a análise do DNA.

O sucesso ou insucesso da genotipagem pode também ser influenciado pelos processos de recolha, preservação, acondicionamento e envio das amostras ao laboratório. Estes procedimentos deverão garantir a autenticidade e integridade das amostras biológicas, bem como a privacidade e confidencialidade dos resultados nelas obtidos. É ainda fundamental acautelar a cadeia de custódia de cada amostra para que possam ser aceites como prova pelo sistema judicial.

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A recolha de amostras biológicas, quer sejam amostras de referência ou evidências relacionadas com um crime, deve ser efectuada por pessoal habilitado com formação, conhecimentos técnicos e experiência adequada para o desempenho desta função. Esta fase é crucial no processo de investigação e representa muitas vezes um desafio dado que as cenas de crime podem ser complexas e caóticas. O reconhecimento e a identificação das amostras que servem de prova é muitas vezes um trabalho árduo dado que, muitas vezes, existem em grande quantidade, tendem a ser redundantes e podem não permitir o relacionamento entre a vítima e o suspeito.

Antes de os vestígios serem recolhidos deverão ser efectuadas fotografias e/ou vídeos que demonstrem a posição relativa entre eles na cena do crime. Deverão também ser retiradas notas acerca da condição em que cada amostra é encontrada e ainda ser efectuados esquemas ou desenhos que permitam mais tarde relacionar cada uma delas com outros objectos do local.

O método de recolha poderá depender da condição em que o material biológico se encontra. Em geral e sempre que possível, deve ser recolhida uma quantidade significativa de amostra que permita a recuperação de suficiente DNA para a identificação genética, devendo no entanto ter-se o cuidado de evitar a recolha de sujidades, gorduras, fluidos ou outras substâncias que possam ser inibidoras dos métodos de análise. Cada evidência deve ser embalada apropriadamente e enviada o mais rapidamente possível ao laboratório, devendo ser preservadas em ambiente seco e fresco de modo a minimizar a sua deterioração.

Sempre que se manipula material biológico humano deve ter-se em conta que se pode estar na presença de material contaminado com agentes patogénicos e potencialmente transmissores de doenças, pelo que devem ser tomadas precauções que minimizem o risco de infecção do operador. No entanto, tão importante como proteger o operador do material biológico que está a manipular, será proteger as amostras de contaminação externa. A integridade das amostras pode ser afectada de várias maneiras, podendo a deterioração das mesmas ocorrer durante a recolha, embalagem ou envio das amostras ao laboratório. Assim, deve ser evitada:

Contaminação por material biológico humano, que pode ocorrer numa fase posterior à produção do crime e pode contaminar o local, os objectos nele existentes, e ainda o corpo da vítima. Pode ser causada por pessoas estranhas à investigação como familiares ou curiosos, ou por elementos que colaboram na investigação que de forma acidental ou por desconhecimento produzem a contaminação. É frequente durante o processo de recolha ou numa deficiente embalagem das amostras;

Transferência de indícios biológicos da localização original para uma outra, que ocorre normalmente de uma forma acidental e pode provocar contaminação ou a perda de uma prova. Os pêlos e cabelos são os vestígios que mais são afectados com a mudança de localização;

Contaminação microbiológica que ocorre pela proliferação de microorganismos, a qual pode ser favorecida pela humidade ou pelas altas temperaturas. Normalmente acontece quando

a embalagem ou as condições de conservação das amostras não são as apropriadas até à sua chegada ao laboratório;

Contaminação química que se deve à presença de produtos químicos que dificultam a análise genética, nomeadamente a extracção e amplificação do DNA. Acontece quando as amostras são imersas em produtos conservantes como o formol ou quando são realizados estudos prévios com substâncias químicas.

Devem ainda ser tomadas as **precauções básicas** de modo a evitar ou minimizar os riscos de contaminação referidos e que incluem:

- Isolar e proteger o mais rapidamente possível a cena do crime e, salvo se alguma circunstância o impeça tal como acontece quando é necessário socorrer vítimas, os vestígios biológicos devem ser os primeiros a ser recolhidos;
- Usar luvas limpas que devem ser trocadas com frequência, nomeadamente quando se manipulam vestígios biológicos que se suspeita poderem ser de distintas origens;
- Evitar falar, tossir ou espirrar sobre as amostras e usar máscara;
- Usar bata ou outro tipo de roupa protectora;
- Utilizar material descartável ou estéril (p.e. pinças, tesouras, etc.) na recolha sempre que possível, ou limpá-lo bem antes de proceder à recolha de cada vestígio (p.e. com uma solução de lixívia a 10% ou álcool);
- Não adicionar conservantes às amostras;
- Deixar as amostras secar à temperatura ambiente (manchas de sangue ou sêmen, entre outras), em local protegido, antes de as embalar, selar e enviar ao laboratório;
- Embalar cada amostra separadamente de modo a evitar a potencial transferência de material biológico ou contaminação entre cada uma delas;
- Sempre que possível, embalar as amostras depois de secas em envelopes de papel ou caixas de cartão. Os sacos de plástico devem ser evitados pois permitem a condensação nomeadamente quando contêm vestígios húmidos (p.e. peças de roupa), o que potencia o aumento da degradação das amostras;
- Uma vez terminada a recolha das amostras biológicas, colocar todo o material descartável utilizado (luvas, pinças, pipetas, etc.) em contentores apropriados, cuja eliminação deve ser efectuada de acordo com as normas de destruição de resíduos biológicos.

3. DOCUMENTAÇÃO

A localização, a condição em que se encontra ou outra informação relevante de qualquer vestígio biológico deve ser bem documentada antes de se proceder à sua recolha. Em qualquer investigação, quer seja de âmbito criminal ou civil, a documentação tem uma grande relevância dado que as amostras são mais tarde sujeitas a apreciação judicial.

De modo a permitir uma abordagem técnica adequada no laboratório forense, as amostras

biológicas devem estar acompanhadas de documentação específica.

3.1. DOCUMENTAÇÃO EM CASOS DE INTERESSE CRIMINAL

3.1.1. Documentação necessária

3.1.1.1. Formulário de envio de amostras

Neste formulário deve constar:

1. A investigação solicitada (p.e. identificação de restos cadavéricos, pesquisa de vestígios hemáticos, pesquisa de manchas de sémen etc.)
2. Antecedentes e dados de interesse sobre o caso:
 - Causa dos factos;
 - Local dos factos;
 - Data dos factos;
 - Instrumento utilizado na agressão;
 - Se houver cadáver: antiguidade, estado de conservação, etc.
3. Dados da(s) vítima(s):
 - Nome e apelido (se identificada);
 - Idade;
 - Sexo;
 - Grupo populacional;
 - Causa da morte (se aplicável) ou existência de lesões;
 - Relação com o suspeito.
4. Dados do(s) suspeito(s):
 - Nome e apelido;
 - Idade;
 - Sexo;
 - Grupo populacional;
 - Existência de lesões, traumatismos, feridas, etc.

3.1.1.2. Identificação das amostras

Todos os formulários devem identificar e descrever brevemente as amostras enviadas:

1. Lista das amostras de referência onde deve constar:
 - Número de referência da amostra;
 - Tipo de amostra (sangue, saliva, pêlos, etc.). Se a amostra enviada é sangue líquido, especificar o tipo de anticoagulante utilizado;
 - Identificação da pessoa que realizou a colheita;
 - Relação com o caso (vítima, suspeito, etc.)
2. Lista dos vestígios biológicos onde deve constar:
 - Número de referência da amostra;
 - Tipo de amostra com uma descrição breve (p.e. zaragatoa vaginal, camisa azul, faca com cabo de madeira, pêlos, etc.);
 - A quem pertencem as amostras (vítima/suspeito) e onde se encontravam (automóvel, garagem, corpo da vítima, etc.);
 - Qual o material biológico que se pretende identificar (sémen, sangue, saliva, etc.).

3.1.1.3. Cadeia de custódia

Todos os formulários devem ter um espaço reservado aos dados da cadeia de custódia onde deve constar:

- Nome e assinatura da pessoa que realizou a colheita;
- Data e hora da colheita;
- Condições de armazenamento até ao seu envio ao laboratório.

3.1.2. Documentação recomendável

1. Informação preliminar da autópsia (se aplicável)
2. Informação clínica (se relevante)
3. Informação ou dados da inspeção ocular (se relevantes)
4. Documentação adicional sobre a localização das amostras ou vestígios biológicos no local dos factos ou no corpo da vítima com esquemas, desenhos, vídeos, etc.
5. Fotografias dos vestígios biológicos, que devem ser tiradas antes de serem recolhidas do local dos factos ou do corpo da vítima.

3.2. DOCUMENTAÇÃO EM CASOS DE INVESTIGAÇÃO BIOLÓGICA DA PATERNIDADE E OUTRAS INVESTIGAÇÕES DE PARENTESCO

As perícias de investigação biológica da paternidade e outras investigações de parentesco devem ser acompanhadas de informação precisa que especifique quer o tipo de perícia solicitada, quer os intervenientes nela envolvidos.

3.2.1. Documentação necessária

3.2.1.1. Formulário de envio das amostras ou com informação recolhida no laboratório que realiza as colheitas

Neste formulário deve constar:

1. Identificação do indivíduo:
 - Nome e apelido;
 - Dados do documento de identificação;
 - Data de nascimento;

- Residência;
 - Grupo populacional.
2. Antecedentes clínicos:
 - Transfusões de sangue recentes;
 - Transplantes recentes;
 - Se conhecidas, doenças que possam influenciar a valorização dos resultados (p.e. trissomias).

3.2.1.2. Identificação das amostras

Todos os formulários devem identificar e descrever brevemente as amostras, onde deve constar:

- Número de referência da amostra;
- Tipo de amostra (sangue, saliva);
- Relação com o caso (mãe, filho, pai pretense pai, etc.);
- Identificação da pessoa que realizou a colheita;

3.2.1.3. Cadeia de custódia

Todos os formulários devem ter um espaço reservado aos dados da cadeia de custódia onde deve constar:

- Nome e assinatura da pessoa que realizou a colheita;
- Data e hora da colheita;
- Condições de armazenamento até ao seu envio ao laboratório.

4. RECOLHA DE AMOSTRAS DE REFERÊNCIA

As perícias realizadas nos laboratórios de genética forense requerem material biológico de

referência das vítimas e dos suspeitos no caso de se pretender a identificação de vestígios biológicos criminais. Amostras de referência de familiares podem ser utilizadas em investigações de paternidade ou investigações de parentesco biológico, na investigação de pessoas desaparecidas e na identificação de vítimas de desastre de massa.

A realização da colheita de amostras de referência em pessoas vivas deve ser efectuada com o consentimento livre e informado das mesmas, sendo necessária a assinatura de um documento que autorize expressamente a utilização da amostra recolhida para fins de identificação genética. Os serviços que procedem à recolha das amostras biológicas de referência deverão assegurar a autenticidade da identificação do examinado, nomeadamente mediante apresentação do documento de identificação, do qual é feita cópia a integrar no processo.

4.1. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA EM PESSOAS VIVAS

4.1.1. Células da mucosa bucal (saliva)

É um método rápido, indolor e não invasivo, que consiste na utilização de uma zaragatoa para recolher algumas células da mucosa bucal, vulgarmente denominado por recolha de saliva. Cada um dos lados da zaragatoa deve ser esfregado na parte interna das bochechas (cerca de seis vezes de cada lado). No caso de ser o único material biológico de referência a ser colhido, será preferível recolher duas zaragatoas bucais para que possam ser processadas em duplicado. Durante a recolha devem ser evitados restos alimentares.

Existem zaragatoas específicas para a recolha de saliva, podendo o material biológico ser

armazenado directamente na zaragatoa ou ser transferido para um cartão de papel absorvente específico para o efeito onde será então armazenado. Nestes casos a zaragatoa para além de recolher células da mucosa bucal deverá ainda ser impregnada com a saliva que se encontra depositada na parte inferior da boca, junto aos dentes e debaixo da língua. Devido à falta de coloração da saliva existem também cartões de papel absorvente coloridos que em contacto com este material biológico mudam de cor, o que permite ao operador assegurar que efectuou uma recolha eficaz.

Após a realização da colheita, as zaragatoas ou cartões de papel correctamente identificados, devem ser secos à temperatura ambiente, em local protegido, antes de serem armazenados, uma vez que na saliva existem bactérias que proliferam rapidamente com a humidade degradando o DNA. As zaragatoas podem também ser congeladas.

4.1.2. Sangue

Actualmente a recolha de sangue é efectuada através de punção dactilar, sendo utilizada uma lanceta para efectuar uma pequena picada na face anterior de um dos dedos da mão (preferencialmente onde a pele estiver mais macia). Algumas gotas de sangue são depositadas num cartão de papel absorvente até que fique bem impregnado, o qual depois de correctamente identificado deve ser seco à temperatura ambiente, em local protegido, antes de ser armazenado. Nas crianças de tenra idade a picada pode ser efectuada no pé (dedo polegar ou calcanhar) de modo a que seja mais eficaz, dado que normalmente se obtém um maior fluxo sanguíneo.

4.1.3. Cabelos

É uma amostra que não é realizada por rotina. No entanto, devem ser recolhidos 10-15 cabelos arrancados pela raiz, se houver necessidade de recolher este tipo de material biológico.

4.2. Amostras de referência em pessoas sujeitas a transfusão sanguínea ou transplantes

No caso de ser necessário recolher amostras de referência a pessoas que tenham sido sujeitas a uma transfusão de sangue recente, deve ser efectuada uma zaragatoa bucal ou serem recolhidos cabelos com raiz, para que não haja o risco de se poder detectar no sangue uma mistura com o perfil genético do dador.

O mesmo se passa em relação a transplantes bem sucedidos, nomeadamente os de medula óssea. Deverão ser colhidos distintos materiais biológicos já que pode ser detectado o perfil do dador no sangue do indivíduo sujeito a transplante e um perfil de mistura (dador/receptor) na saliva. Nestes casos deverão ser colhidos cabelos (de acordo com o recomendado em **4.1.3.**) pois este material biológico apresenta apenas o perfil do receptor.

4.3. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA EM CADÁVERES EM BOM ESTADO DE CONSERVAÇÃO

4.3.1. Sangue

Efectuar uma mancha de sangue do cadáver num cartão de papel absorvente que, depois

de correctamente identificado, deverá ser seco à temperatura ambiente, em local protegido, antes de ser armazenado.

4.3.2. Músculo esquelético

Quando não for possível recolher sangue, poderá ser efectuada uma zaragatoa ou um “print” em cartão de papel absorvente a partir do tecido muscular, ou serem recolhidos dois fragmentos de músculo esquelético da zona mais bem conservada (cerca de 10-15 g), que se introduzem num recipiente de plástico com boca larga e tampa de rosca, sem qualquer líquido fixador.

Normalmente recorre-se ao músculo cardíaco, podendo no entanto ser recolhidos outros tecidos como os músculos mais profundos da coxa, a próstata nos homens e o útero nas mulheres que, por se encontrarem mais protegidos, se tornam também mais resistentes à putrefacção.

4.3.3. Dentes e ossos

No caso de existir alguma dúvida relativamente ao estado de conservação do cadáver deverão ser extraídos pelo menos **quatro dentes**, de preferência molares não cariados ou tratados, ou um fragmento ósseo (preferencialmente o **fémur**) limpo de tecidos moles, que deverão ser colocados em sacos ou recipientes apropriados ao seu tamanho. Estas amostras poderão evitar uma possível exumação nos casos em que as amostras anteriormente referidas se encontram tão degradadas que inviabilizam a identificação genética do cadáver.

4.4. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA EM CADÁVERES EM AVANÇADO ESTADO DE PUTREFACTÃO OU ESQUELETIZADOS

4.4.1. Ossos

Os ossos devem estar limpos de tecidos moles e sempre que possível, devem ser seleccionados ossos longos, preferencialmente o **fémur**, que deverão ser colocados em sacos ou recipientes apropriados ao seu tamanho. Se esta amostra não estiver disponível, o laboratório de genética forense deverá ser contactado para que, de acordo com a situação e consoante as amostras disponíveis, possa ajudar a seleccionar as amostras mais adequadas para a identificação genética.

4.4.2. Dentes

Devem ser extraídos pelo menos **quatro dentes**, de preferência molares não cariados ou tratados, que deverão ser colocados em sacos ou recipientes apropriados ao seu tamanho.

4.4.3. Unhas

Devem ser extraídas as unhas das mãos ou pés, que devem ser colocadas em papel absorvente e posteriormente em recipientes apropriados ao seu tamanho.

4.5. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA EM CADÁVERES CARBONIZADOS

Ao contrário do que a aparência externa possa indicar, é muitas vezes possível efectuar a identificação genética de cadáveres carbonizados

dados que o DNA é uma molécula estável a altas temperaturas. Deste modo, quando a carbonização não é total, pode ser possível recolher **sangue** ainda existente nas cavidades cardíacas (devendo ser efectuada uma mancha) ou fragmentos de **músculo esquelético** de zonas profundas (proceder de acordo com o referido em **4.3.2.**).

A recolha de amostras biológicas em cadáveres carbonizados depende do grau de carbonização e, quando as amostras anteriormente referidas já não estão disponíveis, poderão ser retirados se disponíveis, **fragmentos ósseos** (fémur de preferência), **dentes** ou **unhas** (as menos afectadas), de acordo com o referido em **4.4.**).

O laboratório de genética forense deverá ser contactado para que, de acordo com a situação e consoante as amostras disponíveis, possa ajudar a seleccionar as amostras mais adequadas para a identificação genética.

4.6. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA EM CADÁVERES EMBALSAMADOS

Os cadáveres embalsamados são conservados artificialmente através da utilização de conservantes como o formol, fazendo com que o DNA se degrade o que torna muito difícil a sua análise. Nestes casos deverá o laboratório de genética forense ser contactado para que, de acordo com a situação (técnica de embalsamamento, antiguidade, etc.), possa ajudar a seleccionar as amostras mais adequadas para a identificação genética.

4.7. OUTRAS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA DE PESSOAS FALECIDAS

Nos casos em que não é possível recorrer à exumação do cadáver para recolher amostras de referência ou quando é necessário identificar um cadáver e não existem familiares vivos disponíveis para a realização da perícia, pode recorrer-se a:

4.7.1. Análise de material biológico do cadáver existente em centros hospitalares

Se existentes, a identificação genética do falecido pode ser efectuada através de amostras biológicas que tenham sido colhidas para fins clínicos, nomeadamente amostras de sangue, biopsias em parafina, preparações histológicas, etc. As amostras conservadas em formol não deverão ser utilizadas dado que este produto degrada o DNA, dificultando ou inviabilizando a obtenção de resultados.

4.7.2. Análise de material biológico do cadáver existente em ambiente familiar

A identificação genética do cadáver pode ser efectuada através dos vestígios biológicos existentes nos objectos pessoais, tais como escovas de cabelo, pentes, escovas de dentes, máquinas de barbear, envelopes, selos, etc. No entanto este tipo de amostras na maioria das vezes, não permite obter uma quantidade suficientemente grande de DNA para permitir a identificação.

Há no entanto que ter algum cuidado quando se utiliza este tipo de amostras. Por um lado poderão ter sido também utilizadas pelos seus familiares e, por outro lado, são objectos

normalmente cedidos pela família que, em muitas situações, é também parte interessada no processo judicial. Deste modo, é conveniente autenticar estas amostras através do estudo comparativo com familiares.

5. RECOLHA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS NA CENA DE CRIME

5.1. MANCHAS SECAS EM AMOSTRAS DE REDUZIDA DIMENSÃO E DE FÁCIL TRANSPORTE

Em geral, estas amostras deverão ser recolhidas e introduzidas separadamente, em sacos de papel ou caixas de cartão, utilizando pinças limpas. Algumas das amostras que com mais frequência são recebidas num laboratório forense são as seguintes:

- Beatas;
- Bilhetes, papéis, pequenos cartões, etc.;
- Chaves, moedas, luvas, etc.;
- Envelopes e selos;
- Pedras, ramos, folhas, etc.;
- Armas brancas, etc.

Relativamente às **armas brancas** deve existir um especial cuidado na recolha dos vestígios biológicos existentes para que não se afectem as impressões digitais, no caso de não terem sido ainda objecto de estudo. As caixas de cartão devem ter um tamanho apropriado e o objecto deverá estar bem acondicionado para que, durante o transporte, não haja perda do material biológico que eventualmente a ele possa estar aderente. Na ausência deste tipo de embalagem, poderão as

armas brancas ser acondicionadas em envelopes de papel desde que a lâmina esteja bem protegida.

Existem no entanto amostras nas quais a experiência e bom senso do perito que efectua a recolha determinam que se utilizem recipientes de plástico, como é o caso das pastilhas elásticas, entre outras.

5.2. MANCHAS SECAS EM AMOSTRAS DE GRANDE DIMENSÃO E NÃO TRANSPORTÁVEIS

A recolha destas amostras depende do suporte em que as mesmas estejam depositadas:

Suportes não absorventes (vidros, portas, paredes, chão, móveis, etc.). A recolha pode ser efectuada recorrendo a:

- Zaragatoa estéril, ligeiramente humedecida em água destilada;
- Bisturi para raspar a mancha, que deve ser colocada em pequenos envelopes ou sacos de papel.

Suportes absorventes (tapetes, alcatifas, sofás, estofos de automóvel, etc.):

A mancha deve ser recortada com uma tesoura ou bisturi e introduzida em envelopes ou sacos de papel.

5.3. VESTÍGIOS HÚMIDOS

Roupas ou outros objectos com vestígios húmidos:

As peças de vestuário são os objectos que mais frequentemente podem conter vestígios

húmidos, nomeadamente manchas de sangue, podendo no entanto existir noutro tipo de objectos tais como roupas de cama, toalhas, cortinas, etc. Nestes casos, os objectos ou as manchas que vão ser estudadas devem ser transferidos do local do crime para as instalações dos peritos que procedem à recolha, onde os deverão deixar secar em local protegido, sobre uma superfície limpa. Uma vez secas, as amostras deverão ser acondicionadas em separado, em sacos de papel.

5.4. VESTÍGIOS LÍQUIDOS

5.4.1. Sangue

Sangue em grande quantidade:

Recolher com uma pipeta de plástico, descartável, e efectuar uma mancha em cartão de papel absorvente. Poderá também ser introduzido num tubo com anticoagulante (p.e. EDTA).

Sangue em escassa quantidade:

Efectuar a recolha com uma zaragatoa estéril.

Sangue coagulado:

Recolher com uma colher de plástico ou outro objecto, e introduzir em tubo ou frasco de plástico.

5.4.2. Sémen

Preservativos com sémen líquido:

Devem ser manipulados com particular cuidado já que podem permitir a identificação da vítima no material biológico depositado no lado externo, o qual pode ser facilmente contaminado

com o eventual sémen do agressor depositado no lado interno. Deste modo, depois de colhidos, atar para que não derramem o seu conteúdo e introduzir em frasco de plástico.

Sémen em escassa quantidade:

Efectuar a recolha com uma zaragatoa estéril.

5.4.3. Líquido amniótico

Recolher uma amostra com aproximadamente 10 ml, que se coloca em tubo ou frasco.

5.4.4. Urina ou outros fluidos biológicos

Recolher com uma pipeta de plástico, descartável, e introduzir em tubo ou frasco.

5.5. PÊLOS E CABELOS

Recolher com pinças limpas, colocando cada pêlo ou grupo de pêlos em pequenos envelopes ou sacos de papel.

5.6. RESTOS CADAVERÍCOS

A recolha estará condicionada ao tipo de restos cadavéricos que forem encontrados:

5.6.1. Restos cadavéricos em bom estado de conservação

Deverão ser seguidas as indicações referidas em **4.3**. No entanto, se houver a suspeita da existência de restos cadavéricos pertencentes a mais de um indivíduo, as várias amostras deverão ser enviadas em separado.

5.6.2. Restos cadavéricos em avançado estado de putrefacção ou esqueletizados

Deverão ser seguidas as indicações referidas em **4.4**. No entanto, se houver a suspeita da existência de restos cadavéricos pertencentes a mais de um indivíduo, as várias amostras deverão ser enviadas em separado.

5.6.3. Restos cadavéricos carbonizados

Deverão ser seguidas as indicações referidas em **4.5**. No entanto, se houver a suspeita da existência de restos cadavéricos pertencentes a mais de um indivíduo, as várias amostras deverão ser enviadas em separado.

5.7. RESTOS FETAIS E PLACENTÁRIOS

A recolha deve ser efectuada com pinças limpas e as amostras deverão ser introduzidas em recipiente de plástico com boca larga e tampa de rosca, sem qualquer líquido fixador.

6. RECOLHA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS NO CORPO DA VÍTIMA

6.1. MANCHAS DE SANGUE, SÉMEN E OUTROS FLUIDOS BIOLÓGICOS

A recolha deve ser efectuada com uma zaragatoa estéril, ligeiramente humedecida em água destilada, limpando toda a área onde se encontra a mancha.

6.2. SALIVA EM MARCAS DE MORDEDURA

As marcas de mordedura devem ser previamente fotografadas e a recolha deve ser efectuada com uma zaragatoa estéril, ligeiramente humedecida em água destilada, limpando a área onde se encontra a marca deixada pelos dentes, bem como toda a zona interior por eles delimitada.

6.3. MÃOS E UNHAS

Com uma pinça limpa, recolher os pêlos ou fibras que se encontrem nas mãos ou unhas da vítima e colocar em pequenos envelopes ou sacos de papel. Se possível, cortar as unhas para que se analisem eventuais restos de sangue ou pele do agressor, recolhendo em separado as unhas de ambas as mãos que deverão ser colocadas em pequenos envelopes ou sacos de papel. No caso de não existirem unhas que se possam cortar, efectuar um raspado subungueal recorrendo a uma zaragatoa estéril ligeiramente humedecida em água destilada (no caso de pessoas vivas) ou recorrendo a um bisturi (no caso de cadáveres) que poderá ser acondicionado em vidros de relógio ou caixas de petri.

6.4. PÊLOS

Recolher com pinças limpas, colocando cada pêlo ou grupo de pêlos em pequenos envelopes ou sacos de papel.

7. AGRESSÕES SEXUAIS

As agressões sexuais, sendo um dos crimes que com maior frequência chega aos laboratórios

de genética forense, necessitam de um tratamento particular quer relativamente à informação que deve ser obtida durante o exame sexual, quer relativamente às amostras que são necessárias para realizar este tipo de perícia.

7.1. DOCUMENTAÇÃO NECESSÁRIA

A recolha de amostras neste tipo de delitos deve obedecer a protocolos previamente estabelecidos e, de modo a se poder fazer uma selecção adequada das amostras para análise e valorizar convenientemente os resultados obtidos, é necessário recolher informação relevante quer dos factos quer da vítima. Para tal, será necessário que o perito que faz a recolha das amostras preencha um formulário específico para este tipo de situações, onde deverá constar a seguinte informação:

1. Dados da vítima:

- Idade;
- Sexo;
- Grupo populacional;
- Relações sexuais próximas da agressão (especificar o tipo, data e hora);
- Utilização de produtos vaginais (lubrificantes, espermicidas, etc.);
- Se previamente ao exame procedeu à lavagem das zonas afectadas na agressão;
- Se vomitou, urinou ou defecou;
- Se mantém a roupa da agressão;
- Dados ginecológicos que possam ser relevantes.

2. Dados da agressão:

- Local da agressão;
- Data e hora da agressão;

- Tempo decorrido entre a agressão e a recolha de amostras;
 - Tipo de agressão (vaginal, anal e/ou bucal);
 - Se houve introdução de objectos (vaginal ou anal);
 - Número de agressores;
 - Se houve utilização de preservativos;
 - Se houve ejaculação (interior ou exterior);
 - Relação de parentesco entre a vítima e o agressor.
3. Lista das amostras de referência e dos vestígios biológicos enviados, com a informação referida em **3.1.1.2.**
 4. Dados da cadeia de custódia, referidos em **3.1.1.3.**

7.2. RECOLHA DE VESTÍGIOS BIOLÓGICOS

A recolha de amostras é efectuada **tendo em conta a ocorrência e os dados fornecidos pela vítima**, o mais rapidamente possível, para permitir uma maior taxa de sucesso na análise das amostras. Quando se efectua mais de uma zaragatoa em cada local, é fundamental numerá-las para que a análise se inicie pela que foi realizada em primeiro lugar.

Poderão ser recolhidos os seguintes vestígios biológicos:

1. Zaragatoas bucais. Os eventuais vestígios de sémen recolhem-se com zaragatoas estéreis, que se passam suavemente nos espaços entre os dentes e nas zonas onde os espermatozóides têm tendência a depositar-se (zona inferior das gengivas e

debaixo da língua). Deverá ser a primeira colheita a ser realizada uma vez que os vestígios de sémen tendem a desaparecer rapidamente.

2. Recolhas na superfície corporal. Procurar manchas de sémen ou saliva, bem como possíveis marcas de mordedura, que devem ser recolhidas recorrendo a zaragatoas estéreis de acordo com o referido em **6.1.** e **6.2.**
3. Penteados púbicos e recolha de pêlos suspeitos de pertencerem ao agressor, que deverão ser colocados em pequenos envelopes ou sacos de papel.
4. Zaragatoas cervicais, vaginais e dos genitais externos, que se realizam com zaragatoas estéreis, limpando cuidadosamente o colo uterino, a cavidade vaginal e a região vulvar, respectivamente.
5. Zaragatoas anais e da margem anal, que se realizam com zaragatoas estéreis, limpando cuidadosamente o canal rectal e a margem anal, respectivamente.
6. Recolhas nas mãos e unhas da vítima, de acordo com o referido em **6.3.**, nomeadamente nos casos em que a vítima referir que pode eventualmente ter agredido o suspeito.
7. As peças de vestuário utilizadas pela vítima no momento ou após a agressão, que deverão ser embaladas separadamente em sacos ou envelopes de papel. Recolher apenas as roupas que, de acordo com a ocorrência, possam conter eventuais vestígios biológicos do agressor evitando deste modo uma recolha indiscriminada que dificulta o trabalho laboratorial e em nada

ajuda a investigação. As roupas devem ser pouco manipuladas para evitar a perda de eventuais vestígios e, sempre que possível, devem ser registadas as zonas que com maior probabilidade poderão conter material biológico do agressor.

8. Lenços de papel, ou objectos íntimos (p.e. pensos higiénicos) que a vítima possa ter utilizado após a agressão, que deverão estar secos antes de ser embalados em embalagens apropriadas, nomeadamente sacos ou envelopes de papel e, os preservativos utilizados pelo agressor que deverão ser colhidos de acordo com o referido em **5.4.2**.
9. Se aplicável, as roupas de cama utilizadas durante a agressão (p.e. lençóis, colchas, cobertores, etc.) ou as utilizadas para a vítima e/ou o agressor se limparem após a agressão (p.e. toalhas). No caso das roupas de cama, indicar se possível a posição relativa em que se encontravam dispostas na cama, assinalar eventuais manchas que tenham sido previamente detectadas ou indicar as zonas prováveis para a existência de manchas de acordo com o relato da vítima. Este procedimento é uma mais valia para o laboratório que tem de analisar peças de grande tamanho e nem sempre dispõe de superfícies adaptadas à dimensão destes objectos.

7.3. RECOLHA DE AMOSTRAS DE REFERÊNCIA

Para efectuar o estudo comparativo com o material biológico recolhido durante o exame sexual, será necessário dispor de:

- Amostras de referência da vítima – seguir o recomendado em **4.1.1** e **4.1.2**. No caso de a vítima ter sofrido penetração oral, efectuar apenas colheita de sangue, dado que a zaragatoa bucal poderá estar contaminada com material biológico do agressor.
- Amostras de referência do suspeito – seguir o recomendado em **4.1.1** e **4.1.2**.

Em determinadas situações poder-se-á justificar a recolha de cabelos ou pêlos púbicos da vítima para se proceder ao estudo das características morfológicas e comparação com as dos pêlos considerados suspeitos de pertencerem ao agressor.

8. RECOLHA DE AMOSTRAS EM INVESTIGAÇÕES BIOLÓGICAS DE PARENTESCO

8.1. PRETENSO PAI, FILHO E /OU MÃE VIVOS

A grande maioria das investigações biológicas de parentesco refere-se a investigações da paternidade biológica nas quais se apresentam a exame o pretenso pai, o filho e a mãe. Nestes casos, a cada interveniente no processo deve ser efectuada uma zaragatoa bucal e uma mancha de sangue devendo ser seguido o recomendado em **4.1.1** e **4.1.2**. Nos casos em que não é possível efectuar a recolha de ambos os materiais biológicos, deverá ser recolhido um deles em duplicado. O mesmo procedimento deverá ser adoptado quando se investigam outras relações de parentesco.

8.2. PRETENSO PAI FALECIDO

8.2.1. Análise a partir de ossos e dentes procedentes do cadáver exumado

Nos casos em que o pretenso pai já faleceu é frequente recorrer-se à colheita de material biológico do cadáver exumado. As amostras que mais resistem à degradação são os ossos e dentes, pelo que deverão ser colhidos de acordo com o recomendado em **4.4.1.** e **4.4.2.**

Nalgumas situações excepcionais é ainda possível efectuar a recolha de algum tecido muscular mais resistente à putrefacção, podendo também este material biológico ser objecto de estudo dado que permite obter resultados de uma forma mais rápida e menos onerosa, quando a quantidade/qualidade de DNA é suficiente para tal (seguir o recomendado em **4.3.2.**). No caso de o cadáver ainda se encontrar com unhas, esta amostra deverá ser recolhida de acordo com o descrito em **4.4.3.**

8.2.2. Análise a partir de amostras biológicas existentes em centros hospitalares ou em ambiente familiar

Se disponíveis, poderá recorrer-se a amostras armazenadas em centros hospitalares ou existentes em ambiente familiar (ver **4.7.1.** e **4.7.2.**).

8.2.3. Análise a partir de amostras biológicas provenientes de familiares do falecido

O perfil genético do pretenso pai poderá ser deduzido a partir dos seus familiares. Nestes casos, a cada interveniente no processo deve ser

efectuada uma zaragatoa bucal e uma mancha de sangue devendo ser seguido o recomendado em **4.1.1.** e **4.1.2.**

8.3. INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE A PARTIR DE RESTOS FETAIS

Seguir o recomendado em **5.7.** para a recolha de restos fetais e em **4.1.1.** e **4.1.2.** para as amostras de referência do pretenso pai e da mãe.

Nos casos em que a recolha é realizada na sequência de um abortamento clínico, p.e. efectuado em casos de investigações de paternidade criminais, a colheita de material biológico do embrião/feto deve ser cuidadosa de modo a prevenir eventuais contaminações com material biológico materno. Quanto mais reduzido for o tempo de gestação mais difícil será fazer a colheita, nomeadamente nos casos em que o embrião se encontra ainda numa fase precoce do seu desenvolvimento; nestas situações a separação entre o material fetal e o material materno deve ocorrer durante a colheita, com a ajuda do médico obstetra ou de um patologista. Quando o tempo de gestação o permitir, poderá ser realizada uma mancha de sangue do feto a partir das cavidades cardíacas.

9. RECOLHA DE AMOSTRAS EM GRANDES CATÁSTROFES OU DESASTRES DE MASSA

Nas grandes catástrofes ou desastres de massa é necessário recolher material biológico de todos os cadáveres e restos humanos para uma eventual análise de DNA, mesmo que algumas vítimas estejam já identificadas através

do reconhecimento pelos seus familiares (pelas suas características físicas ou pertences pessoais) ou através de perícias de Antropologia Forense, Dactiloscopia, Odontologia, ou Radiologia.

A recolha de amostras para identificação genética tem particular relevância quando existem situações de alto impacto em que as vítimas ficam muito fragmentadas, permitindo deste modo fazer a associação ou exclusão de restos humanos e de cadáveres, e também nas situações em que existam dúvidas ou discrepâncias relativamente a outros métodos de identificação; permite ainda identificar outros familiares que possam estar desaparecidos. A identificação genética baseia-se nos estudos comparativos efectuados a partir dos perfis de DNA obtidos nas amostras **post-mortem** (dos cadáveres e restos cadavéricos) e nas **amostras de referência** (*ante-mortem* e familiares das vítimas).

A grande complexidade destas situações leva a que a recolha tenha de ser efectuada por pessoal com formação específica nesta área, que deve ter particular cuidado com:

- A **identificação das amostras** que deve ser inequívoca e invariável ao longo de todo o processo de modo a evitar erros;
- O **preenchimento da documentação** que as acompanha, devendo existir formulários específicos para o efeito referentes a amostras *post-mortem*, amostras de referência de familiares ou amostras *ante-mortem* (objectos pessoais ou amostras biológicas das vítimas). Os formulários destinados a amostras de referência de familiares e amostras *ante-mortem*

devem relacionar as respectivas amostras com a vítima que se pretende identificar;

- O **procedimento de recolha** e as precauções que devem ser tomadas para minimizar os riscos de contaminação;
- A **cadeia de custódia**.

9.1. AMOSTRAS *POST-MORTEM*

Os cuidados tidos durante o processo de recolha das amostras *post-mortem*, a rapidez da sua recuperação e o método de preservação a que foram submetidas, determina o sucesso dos resultados. Um dos grandes problemas relativamente à preservação das amostras coloca-se quando não é possível dispor de equipamentos de frio que permitam a conservação ou congelamento das mesmas de modo a travar os processos de degradação. Actualmente existem soluções de conservação (p.e. Genofix), que permitem o armazenamento à temperatura ambiente de amostras biológicas para fins de identificação genética.

Quando as vítimas se encontram fragmentadas existe o risco de sangue ou tecidos de um indivíduo se transferirem e agregarem a restos cadavéricos de outro indivíduo, o que pode levar a associações erradas dos fragmentos dos cadáveres ou ainda à obtenção de perfis genéticos de mistura. Este tipo de situações pode ocorrer nomeadamente nos desastres de massa com alto impacto, como foi o caso do ocorrido nos EUA a 11 de Setembro de 2001. Nestes casos terá de ser definido o tamanho mínimo do fragmento a ser recuperado para análise (em geral de 1-10 cm),

que deverá permitir ao laboratório a obtenção de informação genética relevante.

O tipo de amostra mais adequado para análise de DNA depende das características da catástrofe e do estado em que se encontram os restos cadavéricos. As amostras que com mais frequência se encontram disponíveis para análise são:

- Músculo esquelético;
- Fragmentos de órgãos;
- Pele;
- Sangue.

Dependendo do estado em que o cadáver se encontra, deverão ser seguidas as recomendações descritas em **4.3.** (cadáveres em bom estado de conservação), **4.4.** (cadáveres em avançado estado de putrefacção) ou **4.5.** (cadáveres carbonizados).

Nos casos em que as amostras se encontram degradadas, deverá também ser equacionada a possibilidade de se poderem recolher amostras de mais fácil extracção (nomeadamente zaragatoas) para além da recolha de ossos e dentes. A identificação genética que eventualmente possa ser conseguida nestas zaragatoas justifica todo o trabalho adicional que é requerido no acto de recolha, dado que permite a obtenção de resultados num menor espaço de tempo e com menos custos.

9.2. AMOSTRAS DE REFERÊNCIA DE FAMILIARES

A colheita de amostras de referência de familiares de pessoas desaparecidas deve ser efectuada com o consentimento livre e informado

das mesmas, sendo necessária a assinatura de um documento que autorize expressamente a utilização da amostra recolhida para fins de identificação genética. Deverá ainda ser assegurada a autenticidade da identificação do examinado, nomeadamente mediante apresentação do documento de identificação do qual é feita cópia a integrar no processo, e ser bem estabelecida a relação de parentesco entre o dador e a vítima mediante a elaboração de uma árvore genealógica. Devem ainda ser referidos outros familiares que possam estar disponíveis como dadores no caso de ser necessário recorrer a estudos complementares.

Deve ser realçado o facto de poderem existir dentro do núcleo familiar relações não biológicas (p.e. filhos adoptados ou exclusões da paternidade), que deverão ser tidas em consideração de modo a haver uma correcta interpretação dos resultados.

9.2.1. Familiares mais adequados

Os familiares mais adequados para permitir uma identificação positiva do cadáver, são os seguintes, por ordem de prioridade:

Ascendentes e descendentes directos

- Pai e mãe biológicos do falecido – se não for possível obter amostras de ambos os progenitores, efectuar a recolha a apenas um deles;
- Cônjuge e filhos do falecido – se não for possível obter amostras do cônjuge, efectuar a recolha apenas aos filhos.

Irmãos do falecido

- Fazer a recolha aos irmãos disponíveis, nomeadamente aos do sexo masculino se a vítima for um homem, para averiguação da linhagem paterna, para além da materna.

Outros familiares

- Se não for possível dispor de amostras de referência dos familiares anteriormente descritos, deve ser feita a recolha noutros familiares que partilhem a linhagem paterna e/ou materna (avós, tios, primos, etc.).

9.2.2. Amostras biológicas

Aos familiares das vítimas deverão ser colhidas amostras de **saliva** e **sangue**, de acordo com o referido em **4.1.1.** e **4.1.2.**, respectivamente.

9.3. AMOSTRAS ANTE-MORTEM

As amostras *ante-mortem* têm a vantagem de permitir uma comparação directa com os resultados obtidos no cadáver. Devem ser recolhidas individualmente, em recipientes adaptados ao seu tamanho e, sempre que possível, em embalagens de papel ou cartão.

9.3.1. Objectos pessoais em ambiente familiar

Os objectos pessoais são normalmente fáceis de obter, mas contêm muitas vezes quantidades diminutas de DNA o que dificulta a sua análise.

O laboratório de genética forense deve fazer uma selecção dos objectos que à partida permitem um maior rendimento na extracção de DNA:

- Escovas de dentes;
- Lâminas ou máquinas de barbear;
- Pentas e escovas de cabelo;
- Roupa interior;
- Dentes previamente extraídos (nomeadamente dentes de leite);
- Gorros;
- Copos;
- Fronhas;
- Relógios de pulso e joalharia;
- Toalhas;
- Roupa exterior;
- Sapatos, etc.

A utilização deste tipo de amostras como sendo de referência da vítima deve no entanto prever a eventualidade de poderem conter material biológico de outras pessoas do seu ambiente familiar. Se possível, o perfil genético identificado nos objectos pessoais deverá ser comparado com familiares para assegurar que existem relações de parentesco. Os formulários respeitantes a este tipo de amostras deverão referir os familiares que eventualmente os possam ter utilizado.

9.3.2. Amostras de centros hospitalares ou outros

Deverá ser averiguada a possibilidade de existirem amostras das vítimas em centros hospitalares, nomeadamente amostras de sangue ou esperma, biopsias e tecidos para exames

histológicos. As bases de dados de perfis de DNA para fins de identificação civil e criminal poderão também ser utilizadas para fazer a identificação das vítimas.

10. RECOLHA DE AMOSTRAS PARA EFEITOS DA BASE DE DADOS DE PERFIS DE DNA

A Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro aprovou a criação de uma base de dados de perfis de DNA para fins de identificação civil e criminal, regulamentada pela Deliberação n.º 3191/2008 de 3 de Dezembro.

10.1. DOCUMENTAÇÃO

De modo a instruir o processo dos serviços que realizam a análise das amostras com vista à obtenção do perfil de DNA e posterior envio da informação necessária para o ficheiro de dados pessoais, a colheita de material biológico deve ser acompanhada de documentação específica, de acordo com o previsto na Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro e o publicado na Deliberação n.º 3191/2008 de 3 de Dezembro (**anexos I, II-A, II-B, II-C, II-D e III**).

As entidades que procedem à recolha devem assegurar a autenticidade da identificação do examinado, efectuada através de:

- Apresentação do documento de identificação, do qual é feita cópia;
- Recolha de impressão digital;
- Fotografia, para a qual tenha sido previamente solicitado o consentimento.

10.1.1. Solicitação do exame por voluntário ou por familiar de pessoa desaparecida

O voluntário ou familiar de pessoa desaparecida solicita a realização da colheita da amostra para obtenção do perfil de DNA às entidades competentes para a análise laboratorial, de acordo com o **anexo I**.

10.1.1.1. Informação

O sujeito que vai realizar a colheita de material biológico goza do direito de informação pelo que, previamente à recolha de amostras, é entregue um documento com as informações constantes do artigo 9.º da Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro, de acordo com o **anexo III**.

10.1.1.2. Consentimento

A recolha de amostras em voluntários ou em parentes de pessoas desaparecidas para fins de identificação civil, carece de consentimento livre, informado e escrito e com autorização expressa para obtenção do seu perfil de DNA, inserção, comunicação e interconexão, prestado no **anexo II-A** (voluntários) e **anexo II-B** (parentes de pessoas desaparecidas).

Quando se trate de menores ou incapazes, a recolha de amostras para fins de identificação civil depende de autorização judicial.

10.1.2. Recolha de amostras para fins de investigação criminal

A recolha de amostras para fins de investigação criminal deverá ser ordenada por

entidade competente para o efeito, de acordo com o previsto na Lei 5/2008 de 12 de Fevereiro, acompanhada do acórdão condenatório nos casos de condenados por crime doloso com pena concreta de prisão igual ou superior a 3 anos. Sempre que se pretenda a inserção do perfil genético do arguido na base de dados de perfis de DNA, esta intenção deverá ser expressamente mencionada pelo magistrado que ordena a recolha.

10.1.2.1. Informação

O sujeito que vai realizar a colheita de material biológico goza do direito de informação pelo que, previamente à recolha de amostras, é entregue um documento com as informações constantes do artigo 9.º da Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro, de acordo com o **anexo III**.

O **anexo II-C** (condenados) e o **anexo II-D** (arguidos) deverão ser correctamente preenchidos, sem rasuras.

10.1.3. Cadeia de custódia

Como em qualquer outro procedimento relacionado com a colheita de amostras biológicas, deve ser assegurada a respectiva **cadeia de custódia** das amostras.

10.2. AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A recolha de amostras é realizada em duplicado através de método não invasivo, pelo que se deverão recolher **duas zaragatoas bucais** (proceder de acordo com o referido em **4.1.1.**)

11. PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A ausência de cuidados específicos durante o armazenamento e transporte das amostras biológicas pode conduzir a uma deterioração das mesmas e, no limite, à ausência de resultados. No entanto, se as amostras forem preservadas em condições ideais, o DNA nelas existente pode manter-se inalterável durante um longo período de tempo. A degradação do material biológico leva a uma diminuição da integridade das células e consequentemente à redução da quantidade e qualidade do DNA. As moléculas de DNA resistem melhor à degradação se estiverem secas e sem humidade, não devendo estar expostas a altas temperaturas, condições que inibem também a proliferação bacteriana. Deste modo, uma amostra de sangue colhida numa zaragatoa deve ser previamente seca à temperatura ambiente antes de ser embalada e selada para transporte.

As amostras biológicas deverão ser correctamente embaladas para garantir uma adequada preservação até à sua chegada ao laboratório e os recipientes (adequados ao tamanho das amostras), deverão estar selados e devidamente identificados de modo a garantir a integridade e autenticidade das amostras. Uma vez colhidas, as amostras deverão ser rapidamente enviadas ao laboratório de genética forense para análise.

Uma vez chegadas ao laboratório, as evidências poderão ser armazenadas a diferentes temperaturas que vão desde a temperatura ambiente até aos -80°C, dependendo do tipo de amostra. Dado o grande volume de espaço que

os vestígios biológicos podem ocupar, existe por parte dos laboratórios forenses alguma dificuldade no seu armazenamento em ambiente refrigerado. Em amostras que necessitam de refrigeração, o mais comum é o armazenamento a -20°C , sendo a temperatura de -80°C reservada a amostras que se encontram já degradadas ou que se prevê poderem vir a degradar-se facilmente. A criopreservação através da utilização de azoto líquido seria desejável para um armazenamento prolongado, sendo no entanto impraticável. De modo a minimizar a degradação das amostras, devem ser evitadas as flutuações de temperatura tal como acontece nos ciclos de congelação-descongelação.

Devem ser tomadas as necessárias precauções para evitar destruir ou consumir totalmente a amostra biológica que se pretende analisar, de modo a que uma porção da mesma possa ficar disponível para uma eventual re-análise, se necessário.

De um modo geral:

- As amostras que estejam completamente secas (manchas de sangue, sémen e saliva, crostas, raspados, unhas, pêlos, dentes e ossos desprovidos de tecidos moles, etc.), podem ser preservadas à temperatura ambiente.
- Os vestígios líquidos, vestígios húmidos, tecidos moles, órgãos, ossos com tecidos aderentes ou contendo medula, dentes com polpa etc., devem ser refrigerados uma vez que sofrem uma rápida degradação.

12. RECEPÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS NO LABORATÓRIO

Após a recepção das amostras, o laboratório deverá:

- Manter a cadeia de custódia;
- Verificar se o material recebido confere com o formulário que as acompanha;
- Comprovar que as amostras estão bem acondicionadas e que as embalagens estão íntegras;
- Verificar se a identificação das amostras se encontra correcta;
- Fotografar as amostras e verificar o seu estado de conservação;
- Manter as condições apropriadas de armazenamento.

BIBLIOGRAFIA

- Butler J.M. (2011). Sample Collection, Storage, and Characterization in *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Elsevier Academic Press, 1-27.
- Dauber E.M., Dorner G., Mitterbauer M, Wenda S., Faé I., Glock B., Mayr W.R. (2004). Discrepant results of samples taken from different tissues of a single individual. *International Congress Series*, 1261, 48-49.
- Delaware OCME — Forensic Sciences Laboratory (2008). Guidelines for the Collection and Submission of Forensic Evidence, 19-29. Disponível em http://dhss.delaware.gov/dhss/ocme/files/evidienceguidelines_101508.pdf. Consultado em 27/12/2011.
- Deliberação n.º 3191/2008, de 3 de Dezembro (Diário da República, 2.ª Série, nº 234) que define o regulamento de funcionamento da base de dados de perfis de ADN.
- Graham E.A.M., Turk E.E., Ruttly G.N. (2008). Room temperature DNA preservation of soft tissue for rapid DNA extraction: An addition to the disaster victim identification investigators toolkit? *Forensic Science International: Genetics*, 2, 29-34.
- Grupo Español y Portugues de la ISFG (2000). Recomendaciones para la recogida y envio de muestras con fines de Identificación Genética. Disponível em <http://www.gep-isfg.org/documentos/Recogida%20de%20evidencias.pdf>. Consultado em 12/10/2011.
- Grupo Español y Portugues de la ISFG (2007). Recomendaciones para la recogida y remisión de muestras con fines de Identificación Genética en Grandes Catástrofes. Disponível em <http://www.gep-isfg.org/documentos/Documento%20catastrofes%20GEP%20con%20portada.pdf>. Consultado em 12/10/2011.
- Lee H.C., Ladd C. (2001). Preservation and Collection of Biological Evidence. *Croatian Medical Journal*, 42 (3): 225-228.
- Lee S.B., Crouse C.A., Kline M.C. (2010). Optimizing Storage and Handling of DNA Extracts. *Forensic Science Review*, 22: 131-144.
- Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro (Diário da República, 1.ª Série, nº 30), que aprova a criação de uma base de dados de perfis de ADN para fins de identificação civil e criminal.
- National Institute of Justice (2006). Lessons Learned from 9/11: DNA Identification in Mass Fatalaty Incidents. Disponível em <http://massfatalaty.dna.gov>. Consultado em 28/11/2011.
- Pinheiro M.F. et al. (2009). Identificação de Vítimas de Catástrofes in *CSI Catástrofes*. Edições Universidade Fernando Pessoa, 63-106.
- Prinz M. et al. (2007). DNA Comission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Science International: Genetics*, 1, 3-12.
- Van Hollen J.B. (2009). Physical Evidence Handbook, 8th Edition Wisconsin Department of Justice, State Crime Laboratories. Disponível em <http://www.doj.state.wi.us/dles/crimelabs/physicalevidencehb/>. Consultado em 16/01/2012.
- World Health Organization (2003). Guidelines for medico-legal care for victims of sexual violence. Disponível em <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/924154628X.pdf>. Consultado em 15/12/2011.
- World Health Organization (2004). Clinical management of rape survivors: Developing protocols for use with refugees and internally displaced persons. Revised Edition. Disponível em <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/924159263X.pdf>. Consultado em 15/12/2011.

Capítulo 2
CRIMINALÍSTICA BIOLÓGICA

M. Fátima Pinheiro

Professora Afiliada do ICBAS, Universidade do Porto

Professora Afiliada da Faculdade de Medicina, Universidade do Porto

Membro do CENCIFOR (Centro de Ciências Forenses)

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_2](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_2)

RESUMO

São abordados os objetivos das perícias de Genética Forense na perspectiva da identificação genética de amostras biológicas (problema e de referência) colhidas no âmbito das perícias de criminalística biológica, bem como os capítulos e as particularidades a mencionar no respectivo relatório pericial. Para além da referência aos marcadores genéticos mais usados na atualidade, para a resolução deste tipo de perícias, são indicados os principais tipos de crimes relacionados com os quais são solicitadas as referidas perícias. Acresce as respetivas amostras biológicas colhidas nos diferentes delitos (sangue, sémen, saliva, pelos e células epiteliais). Por fim, são enumeradas as conclusões possíveis do relatório pericial, assim como a respetiva valorização da prova, quando se verifique a concordância de perfis genéticos da(s) amostra(s) problema com a amostra de referência.

PALAVRAS-CHAVE

Criminalística biológica; amostras biológicas; relatório pericial.

SUMMARY

The objectives of the exam of Forensic Genetics are addressed from the perspective of genetic identification of biological samples (problem and reference) collected within the expertise of biologic criminalistics, as well as chapters and particularities to mention at the appropriate expert report. Apart from the reference to the genetic markers most used today, to solve this kind of expertise, are listed the main types of related crimes with which these exams are required, and the respective biological samples taken at different crimes (blood, semen, saliva, hair and skin cells). Finally, the possible conclusions of the expert report are listed, as well as the respective weighing of the evidence, if there is agreement from genetic profiles of unknown sample(s) with the reference sample.

KEYWORDS

Biologic criminalistics; biological samples; expert report.

1. INTRODUÇÃO

A identificação genética em material biológico relacionado com perícias do âmbito da investigação de parentesco, criminalística biológica e identificação individual (em especial de restos cadavéricos), com a utilização de marcadores genéticos, também chamados polimorfismos de DNA (Ácido Desoxirribonucleico), tem sido ao longo dos tempos o principal objetivo da Genética Forense. Na atualidade, o recurso às mais eficazes e inovadoras metodologias e tecnologias possibilita o estabelecimento de conclusões, no contexto de relatórios periciais, inimagináveis há ainda escassas décadas. No presente, para além dos meios usados no quotidiano laboratorial, existe uma panóplia de soluções inovadoras que, num futuro próximo, poderão propiciar a obtenção de resultados conducentes à cabal e rápida identificação genética individual. Esta circunstância terá uma utilidade irrefutável em vários contextos, designadamente na investigação criminal (Pinheiro, 2009).

Em relação aos três tipos de perícias mencionadas, são colhidas amostras biológicas e/ou é recebido material biológico de natureza diversa, sendo efetuada a interpretação e valorização estatística dos resultados, após o percurso laboratorial apropriado para cada caso. As conclusões da perícia constam no relatório pericial, enviado à entidade requisitante, que irá constituir prova em tribunal (Pinheiro, 2009).

Criminalística, de acordo com Villanueva Cañadas, é a ciência que estuda os indícios deixados no local do delito, graças aos quais é possível estabelecer, nos casos mais favoráveis, a identidade do criminoso e as circunstâncias que concorreram para o referido delito. O seu

interesse reside no facto de se procurar vestígios anatómicos, biológicos ou humorais que permitam estabelecer a identidade do autor do crime, sendo que a criminalística biológica se ocupa dos de natureza estritamente biológica.

Estas amostras ou vestígios biológicos são colhidos, em geral, no local do crime, corpo ou peças de vestuário da vítima ou do suspeito. A identificação genética destas amostras é feita através do estudo do DNA. Para se realizar este estudo é necessário qualquer tipo de mancha ou produto que contenha material genético. Este material genético encontra-se em todas as células nucleadas do organismo humano e possui características importantes para a identificação genética, já que o DNA nuclear (DNA_n) dos autossomas (cromossomas não sexuais), estudado no âmbito da Genética Forense, é único para cada indivíduo (excetuando os gémeos monozigóticos), sendo idêntico em todas as suas células; ou seja, estudando qualquer vestígio biológico pode-se identificar o indivíduo ao qual esse vestígio pertence.

Deste modo, a perícia de Genética Forense realizada em amostras biológicas de natureza diversa (sangue, sêmen, pelos, saliva, células epiteliais), colhidas em distintos suportes (corpo da vítima ou do suspeito, peças de vestuário, roupa de cama, entre outros), no contexto da investigação da prática de um crime, consiste no seu estudo laboratorial, a fim de se estabelecer o perfil genético. A análise dos resultados incide sobre a comparação do perfil genético das amostras biológicas relacionadas com o delito (amostras problema) com os perfis genéticos da vítima e do suspeito (amostras de referência). A existência de concordância entre o perfil genético da amostra biológica relacionada com o

delito e o perfil genético do suspeito é fortemente indicativa de que este foi o seu dador. Neste caso, faz-se a valorização dos resultados através da determinação do Likelihood Ratio (LR).

No relatório pericial deve constar, entre outras particularidades do caso em estudo, informação relativa à entidade requisitante, referência ao material enviado para exame, descrição pormenorizada desse material, metodologias usadas e respetivas referências bibliográficas, resultados e conclusões, nas quais pode ser incluído o LR.

Serão efetuadas referências ao Serviço de Genética e Biologia Forense da Delegação do Norte, do Instituto Nacional de Medicina Legal, IP, identificado no texto por SGBF, DN.

2. POLIMORFISMOS DE DNA (MARCADORES GENÉTICOS) MAIS USADOS

Nas células nucleadas humanas existem dois tipos de DNA, o DNA nuclear (DNA_{nu}) e o DNA mitocondrial (DNA_{mt}).

O DNA do núcleo das células está organizado em cromossomas, apresentando-se altamente compactado e protegido por proteínas denominadas histonas. Uma única cópia do genoma humano é constituída por cerca de 3.200 milhões de pb (pares de bases), sendo que cada célula somática possui 22 pares de autossomas e dois cromossomas sexuais (X,Y no homem e X,X na mulher). Assim, cada célula somática humana normal possui 46 cromossomas (23 pares de cromossomas), sendo, por isso, designada de diplóide. As células germinais ou gâmetas (ovócitos e espermatozoides) encontram-se na forma

haplóide, por possuírem apenas um conjunto de 23 cromossomas. Aquando da fecundação o zigoto, derivado da junção dos dois gâmetas, resulta diplóide (Pinheiro, 2010b).

A resolução dos casos forenses consta da identificação genética das amostras biológicas com eles relacionadas e baseia-se na caracterização de polimorfismos do DNA, também chamados de marcadores genéticos, das regiões não codificantes do genoma humano. Atualmente, para a conclusão das perícias forenses usa-se preferencialmente o DNA_{nu}, podendo em circunstâncias especiais utilizar-se o DNA mitocondrial (DNA_{mt}). Para além das suas diferenças de tamanho e estruturais, apresentam distintas formas de herança, pois, o DNA_{nu} é herdado de ambos os progenitores, à exceção do cromossoma Y, sendo o DNA_{mt} de herança uniparental materna (Pinheiro, 2010b).

Aproximadamente 3% do genoma humano é constituído por repetições em *tandem*. Trata-se de sequências de DNA não codificante que se repetem sucessivamente, cuja diferenciação entre indivíduos da mesma espécie reside no número de repetições que cada indivíduo apresenta para um determinado *locus* de um par de cromossomas homólogos. A herança do número de repetições obedece às Leis da Hereditariedade estabelecidas por Mendel, tal como a de qualquer outro polimorfismo usado com fins forenses. Assim, este DNA repetitivo, excetuando o DNA satélite que se encontra nas proximidades dos centrómeros dos cromossomas, é classificado em dois grupos, minissatélite e microsatélite, de acordo com o tamanho da sequência de repetição (unidade de repetição) (Pinheiro, 2010b).

São, fundamentalmente, as regiões microsatélite do genoma que constituem a base da

identificação genética. Trata-se de marcadores genéticos, designados de STRs (*Short Tandem Repeats*), que consistem em sequências de DNA de 2-7 pb, dispersas pelo genoma, que se repetem em *tandem*, cujo tamanho dos alelos é inferior a 350 pb.

A importância da análise destas sequências de DNA não codificante, em perícias de Genética Forense, prende-se com o facto de não estarem relacionadas com a síntese de proteínas e, por isso, não haver qualquer correlação que permita deduzir a predisposição do dador da amostra biológica para manifestar uma determinada patologia.

O número de repetições para cada polimorfismo pode variar de indivíduo para indivíduo. Esta característica permite diferenciar indivíduos de uma determinada população, mesmo irmãos germanos (filhos do mesmo pai e da mesma mãe) e até gémeos dizigóticos, porque os monozigóticos possuem para estes marcadores informação genética idêntica, salvo raras exceções (existência de mutações). Evidencia-se que as sequências de DNA codificante, que possuem informação genética para a produção de proteínas, são praticamente idênticas para todos os indivíduos, razão pela qual estas regiões do genoma não são as indicadas para distinguir indivíduos de uma população, não sendo, por isso, as eleitas em Genética Forense. Esta prerrogativa desmistifica o argumento, por vezes apresentado, de que se pode inferir, a partir da análise de amostras biológicas, a predisposição de um determinado indivíduo para contrair uma certa doença, circunstância que podia ser aproveitada por empregadores para rejeitar contratos ou por seguradoras para onerar a prestação de um seguro, entre outras consequências.

Não obstante existirem STRs com o tamanho da unidade de repetição variável (2-7 pb), os mais usados em Genética Forense são os tri, tetra e pentanucleotídicos, sendo os tetranucleotídicos (unidade de repetição com 4 nucleótidos, por ex. GATA) os mais utilizados. Calcula-se que o genoma humano contenha, aproximadamente, 500.000 STRs, dos quais 6.000 a 10.000 são tri ou tetraméricos.

As principais vantagens dos STRs prendem-se, fundamentalmente, com o facto de possuírem alelos de tamanhos próximos, o que possibilita a realização da sua análise em simultâneo (multiplex) e a capacidade de gerarem produtos de amplificação de pequeno tamanho, o que é benéfico, tendo em consideração a análise de DNA de amostras degradadas.

O percurso laboratorial das amostras problema no contexto da criminalística biológica inclui, habitualmente, os seguintes passos: a) observação do material recebido; b) descrição do material recebido; c) testes preliminares para determinação da natureza da amostra biológica (sangue, sémen, saliva); d) extração do DNA; e) quantificação do DNA (Real-Time qPCR); f) amplificação do DNA por PCR (em termocicladores); g) análise dos produtos amplificados (em sequenciadores automáticos); h) análise dos resultados obtidos (comparação do perfil genético da(s) amostra(s) problema(s) com o(s) da(s) amostra(s) de referência(s)); i) valorização estatística dos resultados (por vezes não incluída no relatório pericial); j) elaboração do relatório pericial.

A(s) amostra(s) de referência segue(m) o mesmo percurso laboratorial, à exceção dos 3 primeiros passos.

2.1. STRS AUTOSSÓMICOS

2.1.1. Considerações gerais

O estudo de STRs autossômicos é realizado na resolução de todo o tipo de perícias de Genética Forense, recorrendo-se à análise de outros grupos de polimorfismos do DNA quando se pretende obter informação adicional, ou quando o material genético se encontra em quantidade exígua e/ou degradado, e não é possível a obtenção de resultados. Esta circunstância deve-se ao facto dos marcadores autossômicos sofrerem recombinação genética (processo através do qual a descendência produz uma combinação de genes diferente dos seus progenitores). Por isso, apresentam uma grande variabilidade, o que proporciona um maior poder de informação. Os STRs do cromossoma Y e o DNA mitocondrial, por serem haplóides, não sofrem recombinação, exibindo, por isso, uma variabilidade genética inferior.

Para a tipagem de STRs autossômicos são usados, em geral, kits que possibilitam a análise simultânea de 15 *loci* STR (sistemas multiplex) e a Amelogenina. Os que têm sido mais utilizados são o AmpFISTR® Identifiler™ (Applied Biosystems) e o Powerplex®16 (Promega). Em casos complexos, em que é manifesta a necessidade de incrementar o poder informativo, têm sido usados outros kits para a caracterização de marcadores genéticos adicionais.

Em estudo realizado em amostras provenientes de indivíduos não relacionados do Norte de Portugal, foram determinadas as frequências dos alelos, bem como os parâmetros de interesse forense, com o AmpFISTR® Identifiler™ (Pinheiro e col., 2005).

Estas duas empresas fizeram, recentemente, grandes investimentos na produção de kits para a caracterização destes marcadores genéticos, tendo em consideração três aspetos fundamentais: a) introdução de novos polimorfismos que proporcionem um maior poder de informação (poder de discriminação); b) caracterização de polimorfismos de pequeno tamanho (miniSTRs), que permitam a obtenção de resultados em amostras degradadas e/ou com quantidades diminutas de material genético; c) alteração da sua química para obviar o passo de extração do DNA no percurso laboratorial, o que torna mais rápida a análise de amostras biológicas.

Estas modificações têm tido um grande impacto no desempenho laboratorial, em particular as duas primeiras, com especial repercussão no maior poder informativo proporcionado. É, também, de destacar a obtenção de melhores resultados no contexto da análise de amostras com quantidades deficientes de DNA degradado, circunstância bastante frequente em perícias de criminalística biológica e de identificação de restos cadavéricos.

Estes resultados otimizados aliados ao incremento do poder informativo são traduzidos no relatório pericial, em especial quando existe concordância de perfis (do vestígio e do suspeito) no caso da criminalística biológica, sendo que a relação da probabilidade do vestígio pertencer ao suspeito e a probabilidade de pertencer a qualquer outro indivíduo da população ser extraordinariamente elevada (LR). Por outro lado, quando se trata da identificação de restos cadavéricos, por exemplo no âmbito de uma investigação criminal, esse incremento de informação genética reveste-se do maior interesse, uma vez que,

frequentemente, a comparação é feita entre as características genéticas desses restos cadavéricos e as dos seus possíveis familiares, cujo grau de parentesco não é, algumas vezes, tão próximo como o que seria desejável. Por isso, a utilização de um maior número de marcadores altamente informativos e que proporcionem resultados mesmo com material degradado é de grande interesse para a conclusão da perícia.

Há, também, um outro aspeto de especial importância quando se está a analisar material genético de uma amostra biológica, que é a determinação do sexo do indivíduo do qual ela provém. Esta determinação é feita concomitantemente com o estudo de STRs autossómicos. Esta possibilidade de determinação do género, através do estudo da Amelogenina, reveste-se do maior interesse, uma vez que há perícias em que esta determinação é relevante.

Nas investigações de parentesco biológico a determinação do género poderá não ter muito interesse, uma vez que, habitualmente, as amostras biológicas são colhidas aos intervenientes no próprio serviço onde irá ser realizada a perícia. Por isso, aquando da colheita dos dados pessoais/processuais e das amostras biológicas o género fica estabelecido. Há, no entanto, casos excecionais, já identificados em diversas ocasiões, que surgem quando se analisa o DNA extraído das amostras e o perito depara-se com resultados que não eram expectáveis. A título de exemplo, refere-se a identificação de um perfil genético feminino obtido a partir de uma amostra de sangue colhida a um pretense pai. A explicação para a obtenção deste resultado ficou clarificada, depois da confirmação, por parte do dador da amostra, de ter sido submetido a um transplante

de medula, tendo a dadora da medula sido a sua irmã (Pinheiro, 2010b).

No que à criminalística biológica diz respeito, a identificação de um perfil genético masculino em amostras relacionadas com um crime, em que a vítima é mulher e o perpetrador é homem, o estudo do gene homólogo da Amelogenina é extremamente importante. A presença de dois picos resultantes da amplificação do DNA de um vestígio biológico, com os kits comerciais geralmente usados nos laboratórios forenses, é indicativa de que o dador desse vestígio é do género masculino, sendo que o pico de menor tamanho corresponde ao do cromossoma X (com a deleção de 6 pb no intrão 1 da Amelogenina) e o restante, que difere do anterior em 4 pb, ao cromossoma Y.

São, atualmente, comercializados kits (*Next-Generation STR Kits*) que podem colmatar as deficiências relativas aos disponíveis até há pouco tempo, em termos de proporcionarem um aumento do poder de discriminação. Para além disso, os produtos de amplificação (alelos) de alguns dos polimorfismos incluídos são de pequeno tamanho (miniSTRs), indicados para a análise de amostras degradadas e/ou com escassa quantidade de material genético. Acresce o incremento do seu desempenho na presença de inibidores, tais como o grupo heme (componente da hemoglobina) existente no sangue. Como foi atrás referenciado, o seu uso pode viabilizar a supressão de um dos passos do percurso laboratorial, a extração do DNA, quando as amostras se encontrarem em suporte apropriado.

Os miniSTRs são produtos de amplificação de tamanho consideravelmente reduzido em relação ao dos STRs convencionais, constituindo uma boa

alternativa, ou mesmo um complemento de um perfil genético parcial obtido a partir da caracterização dos STRs correspondentes. Não obstante terem já sido descritos miniSTRs dos autossomas e dos cromossomas sexuais, apenas os primeiros estão disponíveis em kits comerciais.

Assim, em 2007, foi lançado no mercado o kit AmpFℓSTR®MiniFiler™, que permite a amplificação simultânea de 8 *loci* (D13S317, D7S820, D2S1338, D21S11, D16S539, D18S51, CSF1PO, FGA) e a Amelogenina, todos eles incluídos no AmpFℓSTR® Identifier™, proporcionando uma redução de tamanho (pb) de 58% e de 48%, respetivamente, nos alelos de menor e de maior tamanho.

O kit AmpFℓSTR® NGM™ inclui 15 STRs, dos quais 5 têm tamanho reduzido (D10S1248, D22S1045, D2S441, D1S1656, D12S391), tendo sido recomendados pelos grupos ENFSI (*European Network of Forensic Science Institutes*) e EDNAP (*European DNA Profiling Group*), com a finalidade de serem adotados na análise de amostras degradadas, a fim de aumentar o desempenho das bases de dados nacionais e apoiar a standardização das bases de dados na Europa (Gill e col. 2006a; Gill e col. 2006b; Lareu e col. 1996; Lareu e col. 1998; Coble & Butler, 2005).

O estudo efetuado em amostras colhidas, após consentimento, a 213 indivíduos são e não relacionados da população do Norte de Portugal, envolvidos em perícias de investigação de paternidade, permitiu concluir que os resultados apoiavam o anunciado incremento do poder informativo proporcionado por este kit para fins forenses, aumentando consideravelmente o poder de discriminação nas análises de rotina, principalmente quando é necessário o estudo de mais marcadores genéticos. Adicionalmente, a análise de miniSTRs incrementa

a possibilidade de tipagem de amostras degradadas (Pontes & Pinheiro, 2011).

Mais recentemente, foi lançado no mercado o NGM SElect que, para além dos STRs referenciados para o NGM, inclui o *locus* SE33 que possui um elevado poder de discriminação. Em estudo realizado numa amostra da população do Norte de Portugal foram identificados 27 alelos para este marcador genético, proporcionando um valor de Pex (Probabilidade de exclusão *a priori*) de 0,8909, tendo em consideração que o valor de Pex acumulado para os 16 STRs autossómicos foi de 0,99999994 (Pinheiro e col., 2005).

A Promega também tem vindo a acompanhar esta evolução, traduzida na produção de sistemas multiplex com interesse forense, tendo vindo a comercializar kits que, basicamente, incluem os mesmos polimorfismos dos da Applied Biosystems, sendo que os de última geração são o PowerPlex® ESX e o PowerPlex® ESI, comparáveis aos atrás mencionados.

A Qiagen tem também investido na produção de kits para a caracterização de STRs autossómicos com fins forenses, como por exemplo o Investigator ESSplex Plus e o Investigator ESSplex SE, evidenciando a rapidez da obtenção dos resultados sem comprometer a sensibilidade e a linearidade dos mesmos.

A nossa experiência com kits da Qiagen, designadamente, o IDPlex STR Kit, que permite a caracterização dos marcadores genéticos incluídos no Identifier, atrás referenciado, é indicativa de se tratar de um kit com bom desempenho, em face dos resultados obtidos em testes de validação efetuados.

É boa prática, em termos de confirmação da reprodutibilidade dos resultados, usar dois kits

comerciais, quando se trata de efetuar comparações indiretas (comparação de perfis genéticos de familiares). A seleção dos kits a utilizar com poder de discriminação similar deve ser objeto de ponderação. Esta ponderação pode incidir em vários aspetos, entre os quais se destaca: a) monitorização da sua qualidade, através da realização de testes de validação; b) seleção de kits de empresas distintas tendo em consideração a identificação de alelos raros ou nulos, uma vez que os *primers* usados para a amplificação dos distintos polimorfismos são diferentes para kits idênticos (caracterização dos mesmos STRs) de empresas distintas; c) avaliação dos kits em termos de qualidade/preço, tendo presente que nem sempre o que é mais oneroso é melhor.

Não obstante terem surgido ao longo dos últimos anos marcadores genéticos para fins de identificação genética humana, bem como para outros propósitos, os STRs autossómicos continuam a ser os preferidos em Genética Forense, por várias razões, algumas das quais já foram explanadas. Todavia, as abordagens metodológicas e tecnológicas têm sofrido uma evolução assinalável, com a introdução de kits mais evoluídos e, concomitantemente, equipamentos cada vez mais sofisticados e exigentes em termos económicos, mas que poderão constituir uma mais-valia, quando se refere ao seu superior desempenho no controlo da qualidade dos resultados.

2.1.2. Análise de misturas

Há situações em que são identificadas misturas de perfis genéticos, em especial nas perícias de criminalística biológica.

Estas misturas surgem quando dois ou mais suspeitos deixam material genético no mesmo objeto (ponta de cigarro fumado, uma lata de refresco, um copo, entre outros suportes).

Há três tipos de amostras, cuja análise genética proporciona, habitualmente, mistura de perfis genéticos: a) zaragoas usadas para colheita de células da cavidade vaginal, anal e/ou bucal, quando tenha ocorrido ejaculação e a colheita tenha sido realizada precocemente; b) zaragoas/estiletos utilizados para colher vestígios subungueais à queixosa e/ou ao suspeito; c) zaragoas empregues para a colheita de células da cavidade bucal em marcas de mordida. A correta e acessível interpretação da mistura dependem, entre outros fatores, da existência de amostras de referência dos contribuidores da mistura (queixosa e suspeito).

As misturas identificadas no contexto da análise de amostras biológicas relacionadas com crimes sexuais são uma realidade frequente, quando não são utilizadas metodologias e tecnologias que permitam a separação do material genético masculino do feminino. Existem, pois, várias limitações metodológicas que complicam a interpretação dos resultados. Importa também sublinhar que grande parte da bibliografia disponível, referente à identificação genética de células epiteliais femininas e células masculinas (espermatozoides), reporta-se a estudos experimentais, utilizando misturas destas células em diferentes concentrações. O comportamento destas misturas pode divergir substancialmente do que acontece nos casos reais, uma vez que nestes está subjacente a interferência de fatores que promovem a degradação do material genético daquelas células, entre outros (Pinheiro, 2011).

É de todo o interesse efetuar a colheita de amostras de referência à vítima e ao suspeito, para que a interpretação dos resultados decorrentes da mistura das suas células seja facilitada. Assim, aquando da colheita de amostras biológicas relacionadas com o crime em vítimas vivas ou em cadáveres (amostras problema) é sempre solicitada, ao médico que realiza a perícia, a colheita de uma amostra de referência. Quanto ao suspeito, a colheita é, em geral, feita pela entidade que realiza a investigação criminal.

Evidencia-se que sem a amostra de referência colhida ao suspeito não pode ser realizada a comparação de perfis. Todavia, o perfil da amostra problema poderá ser inserido na base de dados de perfis de ADN, de acordo com a alínea d) do artigo 15º da Lei 5/2008.

O uso de marcadores genéticos altamente polimórficos, como alguns dos incluídos nos kits para a amplificação de STRs autossómicos, aumenta a probabilidade de serem detetadas diferenças entre os dois componentes da mistura. No entanto, a interpretação e a determinação do número de dadores podem ser tarefas difíceis, especialmente quando estão presentes 3 ou mais contribuidores na mistura.

Em geral, as misturas identificadas na resolução de perícias são constituídas apenas por 2 contribuidores, a vítima (habitualmente mulher) e o agressor (habitualmente homem). Mesmo neste caso a interpretação da mistura pode ser um processo complicado, desde logo porque cada um dos dadores das células constituintes da mistura possui um mínimo de um alelo para cada um dos marcadores analisados, podendo ser detetados, neste caso, um máximo de 4 alelos. Situação ainda mais complexa verifica-se quando

a vítima e o suspeito partilham 1 ou os 2 alelos. A estas limitações acresce o facto da contribuição de cada um deles para a mistura poder ser muito desproporcionada. Por exemplo, quando há uma grande prevalência de DNA feminino, aquando da análise de STRs autossómicos, o perfil feminino pode mascarar o masculino ou o DNA das células femininas competir com o das células masculinas durante a amplificação do DNA.

A probabilidade do sucesso na interpretação de uma mistura depende de vários fatores: a) uso de um número elevado de marcadores genéticos, em que haja uma elevada incidência de heterozigotia; b) relação da quantidade de DNA proveniente de cada contribuidor; c) combinações específicas dos genótipos; d) quantidade total de DNA amplificado (Butler, 2010).

O uso de marcadores genéticos com elevado polimorfismo, traduzido na presença de um elevado número de alelos, aumenta a possibilidade de se determinar diferenças entre os componentes da mistura. A quantidade de DNA de cada contribuidor faz toda a diferença, no que se refere à capacidade para se detetar todos os contribuidores de uma mistura. Assim, por exemplo, se o DNA proveniente de dois indivíduos está presente em quantidades similares será muito mais fácil interpretar a mistura. O menor componente da mistura não é usualmente detetado se estiver presente na mistura numa quantidade abaixo de 5% (proporção de 1:20), pois os alelos do menor contribuidor podem estar mascarados, devido aos efeitos estocásticos, que ocorrem durante a PCR, poderem afetar negativamente a amplificação do componente presente em muito menor quantidade (Butler, 2010).

Podem ser usados *softwares* para ajudar no processo de decifrar os componentes de uma mistura, determinar relações entre as quantidades desses componentes, bem como efetuar cálculos estatísticos. A decomposição da mistura, usando estes *softwares* são considerados “ajudantes do perito”, porque as decisões finais, no que respeita à interpretação da mistura, incide no perito que realiza a análise de DNA.

Entre outros *softwares*, refere-se o Investigator IDproof Mixture Software, da Qiagen, sendo mencionado pelo fornecedor que proporciona a atribuição otimizada dos tamanhos e a designação dos alelos, apoiando as análises de PCR multiplex (<http://www.qiagen.com/products/investigatori-dproofmixturesoftware.aspx>).

2.2. STRS DO CROMOSSOMA Y

2.2.1. Considerações gerais

O cromossoma Y é um cromossoma estruturalmente pequeno, com parte do braço longo (q) formado por heterocromatina. A maior parte do cromossoma Y não recombina, à exceção de duas pequenas regiões distais pseudoautosómicas (PAR1 e PAR2), por serem homólogas com fragmentos do cromossoma X; por este facto, estas regiões não apresentam as propriedades específicas deste cromossoma. A parte não recombinante do cromossoma Y (NRY) apresenta algumas semelhanças com o DNAmT, devido à falta de recombinação durante a meiose e ao modo de herança, neste caso haplóide, uniparental materna. Por isso, a informação genética deste cromossoma vai passando de pai para filho imutável, excluindo as mutações gradualmente acumuladas.

A análise do cromossoma Y possui três principais aplicações na área forense: a) identificação do sexo (masculino); b) identificação do perfil genético, bem como da linhagem masculina (e de todos os homens com ele relacionados pela via paterna); c) identificação da possível origem geográfica dessa linhagem, também designada de ancestralidade genética. A sua principal utilização em criminalística biológica tem incidido, fundamentalmente, na identificação do perfil genético de amostras problema e respetiva comparação com amostra(s) de referência colhida(s) a suspeito(s).

A sua relevância em criminalística biológica deve-se ao facto dos perpetradores serem, maioritariamente, do sexo masculino, com especial ênfase para os crimes sexuais. Contudo, esta sua importância assume a maior utilidade quando os resultados da caracterização destes marcadores corroboram os dos autossomas; caso contrário, e de acordo com o atrás mencionado, a identificação de um perfil genético masculino numa amostra apenas pode fornecer informação parcial sobre a sua proveniência, uma vez que o perfil genético identificado pode pertencer a qualquer outro familiar aparentado pela via paterna com o suspeito ou, ainda, remotamente, com outro qualquer indivíduo da população que, por coincidência, com ele partilhe idêntica informação genética para este cromossoma.

A informação genética proporcionada, através da análise dos STRs do cromossoma Y (Y-STRs), por uma amostra de referência do suspeito (zaragatoa bucal) é partilhada por todos os homens com ele aparentados pela linhagem paterna, como foi dito; ou seja, o seu avô paterno, pai, irmão, filho e até tio paterno partilham

a mesma informação para este cromossoma. No entanto, o facto de ele ser suspeito pressupõe a existência de provas que serão consubstanciadas pela prova pericial de Genética Forense. Por outro lado, frequentemente, a informação proporcionada pelos Y-STRs é suportada pela fornecida pelos STRs dos autossomas, o que incrementa substancialmente a informação da prova pericial. Há, no entanto, casos em que apenas é obtido um perfil genético de Y-STRs.

Os Y-STRs exibem alelos únicos para os diferentes polimorfismos, pelo facto do homem possuir apenas um cromossoma Y (herdado do pai), sendo que o outro cromossoma é o X (herdado da mãe). Os alelos dos diferentes Y-STRs, que à semelhança dos STRs autossómicos são estudados em conjunto (multiplex), segregam como haplótipos intimamente ligados na linhagem masculina de uma família. Por isso, a transmissão faz-se de pai para filho como um único bloco (herança haplóide, uniparental paterna).

A presença de um perfil de Y-STRs nos casos em que a observação microscópica de espermatozoides é negativa pode proporcionar evidência de contacto sexual independentemente da ejaculação, sucesso da lise diferencial (técnica usada para a extração e separação da fração feminina da masculina) ou proporção das células femininas no extrato, podendo ser usada para corroborar o testemunho da vítima feminina de agressão sexual (Pinheiro, 2011).

Há autores que consideram que a obtenção de um perfil genético de Y-STRs só tem interesse se estiver identificado o perfil genético de STRs autossómicos, porque o poder de discriminação dos primeiros marcadores é muito inferior (Gill e col., 1985). Opiniões diversas foram já explanadas,

que se consideram consistentes, na medida em que é preferível ter-se um resultado, embora menos vinculativo do que o dos STRs autossómicos, uma vez que na presença de outras provas incriminatórias poderá coadjuvá-las.

Em meados da década de 90 já tinham sido descritos 13 Y-STRs, dos quais foram seleccionados 9 *loci* (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385a/b), cujas unidades de repetição são de três (DYS392) ou quatro nucleótidos (todos os outros), sendo o seu conjunto conhecido pela designação de “haplótipo mínimo”. Este haplótipo foi recomendado pelo *International Forensic Y User Group* como o grupo mínimo de Y-STRs a usar na área forense, com o objetivo de promover a individualização de uma amostra do sexo masculino humano (Pinheiro, 2010b).

O kit AmpFℓSTR® Yfiler® PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) permite a amplificação dos *loci* incluído no haplótipo mínimo, bem como: DYS438, DYS439, DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635, YGATAH4, proporcionando o mais elevado poder de discriminação dos kits comerciais disponíveis no mercado para a caracterização deste tipo de marcadores.

Em estudo realizado na população do Norte de Portugal foi utilizado este kit, tendo sido publicadas as frequências dos haplótipos identificados, os parâmetros de interesse forense e a comparação das frequências haplotípicas encontradas com as de outras populações. Para além disso, foi descrito um caso, que consistiu na existência de uma duplicação para o DYS19 em simultâneo com uma inconsistência de transmissão alélica entre pretense pai (15,17)/filho (15,16), compatível com a ocorrência de mutação, uma vez que o

Índice de Paternidade era de 1190284082, tendo em consideração os STRs autossômicos (Pontes e col., 2007).

Butler (2011), entre outros autores, descrevem este fenómeno da existência de produtos de PCR presentes em múltiplas cópias, por estes marcadores genéticos se situarem em regiões palindrômicas do cromossoma Y.

Foi estabelecida, por Lutz Roewer e colaboradores uma base de dados de haplótipos de Y-STRs (*Y-STR haplotype reference database — YHRD*), disponibilizada online em 2000, tendo sido atualizada em 2007 (Willuweit & Roewer, 2007). Esta é de livre acesso na internet (<http://www.yhrd.org/>), sendo a mais difundida das bases de dados com interesse em Genética Forense. Para além dos marcadores mencionados, referentes ao haplótipo mínimo, inclui outros (DYS438, DYS439, DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635, YGATAH4).

O principal objetivo da utilização da base de dados é a determinação da frequência de um determinado haplótipo. Neste momento possui 36.477 haplótipos provenientes de 245 populações, tendo em consideração todas as populações e 14.309 haplótipos de 99 populações Euroasiáticas, incluindo o Norte de Portugal. Esta base de dados representa o repositório mais importante de dados populacionais referentes ao cromossoma Y. Por isso, deve ser usada na estima das frequências dos haplótipos na valorização das perícias de criminalística biológica, em particular quando apenas são obtidos resultados relativos aos Y-STRs. Esta circunstância é relativamente frequente, tendo em consideração a maior sensibilidade dos kits para a caracterização de Y-STRs. Este facto tem sido constatado em estudos efetuados

por vários autores. É de salientar que esta base de dados permite não só a introdução de perfis completos, mas, também, de perfis parciais.

Realça-se os resultados de um estudo efetuado em amostras colhidas a 3 mulheres em intervalos pós-coitais superiores a 48 horas (72, 96, 120, 144 e 168 horas), usando kits para a tipagem de Y-STRs. Apesar de se saber que as células masculinas se mantêm no cérvix pelo menos uma semana após a ejaculação, segundo os autores até à realização deste estudo não tinha sido possível obter um perfil genético do dador a partir de amostras colhidas 3 ou mais dias após o coito. Estes mencionam terem identificado perfis masculinos completos, analisando zaragatoas colhidas no cérvix 3-4 dias após a ejaculação, afirmando ainda terem conseguido perfis incompletos 5-6 dias após o coito (Pinheiro, 2011). Esta constatação comprova o que foi dito anteriormente em relação à sensibilidade destes kits.

O cálculo da concordância ao acaso de haplótipos de Y-STRs é efetuado usando o *counting method* (número de vezes que um determinado haplótipo é observado numa determinada população a dividir pelo número total de haplótipos identificados). Por isso, quanto mais haplótipos estiverem introduzidos na base de dados, mais corretos serão os cálculos estatísticos, relativamente à estima da frequência da concordância de haplótipos (Szibor, 2007).

2.2.2. Análise de misturas

A análise de misturas, tendo em consideração os Y-STRs, é bem mais fácil de efetuar do que com os STRs autossômicos, usando *primers* específicos para o cromossoma Y, uma vez que

aumenta a probabilidade de serem detetados baixos níveis de DNA do perpetrador na presença de uma elevada quantidade de DNA feminino da vítima (Hall & Ballantyne, 2003). Esta facilidade na interpretação dos resultados prende-se com a circunstância dos indivíduos do sexo masculino possuírem apenas um alelo por cada um dos marcadores analisados (exceto o DYS385).

Em face do exposto, se a amostra em causa corresponder a uma mistura, na qual está incluído, por exemplo, o DNA da vítima do sexo feminino, o do companheiro e o de um agressor, é expectável que para os STRs autossómicos possa estar presente um conjunto de seis picos para cada marcador genético, se os três indivíduos envolvidos forem heterozigóticos e não partilhem nenhum dos alelos para esse *locus*. No que concerne ao perfil genético do cromossoma Y, apenas estarão presentes dois picos, um do companheiro e o outro do suspeito, uma vez que para além dos homens só possuírem um alelo por *locus*, a fração feminina da mistura não é amplificada, porque os *primers* para a caracterização dos Y-STRs são específicos para o sexo masculino (Pinheiro, 2010a).

Quando é usada a informação conjunta proporcionada pelos STRs do cromossoma Y e a dos autossomas deve ser evitada a expressão dos resultados num único valor (Likelihood Ratio), por se tratar de marcadores com modos de herança distintos (Amorim, 2008).

2.3. STRS DO CROMOSSOMA X

2.3.1. Considerações gerais

Os STRs do cromossoma X são menos usados na prática forense, podendo ser interessantes:

a) em perícias de investigação de maternidade; b) casos de filiação que envolvam familiares que partilham este cromossoma, na ausência do pretense pai; c) em trios ou duos entre pai e filha; d) em casos de identificação genética de restos cadavéricos, através do estudo de familiares próximos. Em criminalística biológica a sua utilidade é mais restrita (Pinheiro, 2009).

O poder de discriminação (PD) dos marcadores do cromossoma X varia com o género ao qual pertence a amostra biológica. Assim, quando a amostra em estudo é comparada com indivíduos do sexo feminino, os marcadores do cromossoma X devem ser considerados como se de autossomas se tratassem; no caso de a comparação ser feita entre amostras pertencentes a indivíduos do sexo masculino, os valores do poder de discriminação são, em geral, inferiores, porque o único cromossoma X do homem apenas possui um alelo por cada STR. Por isso, os marcadores do cromossoma X proporcionam um poder informativo menor, no que respeita à análise de amostras biológicas relacionadas com crimes do que os autossómicos, uma vez que, como é sabido, a grande maioria dos crimes são praticados por homens (Pinheiro, 2009).

Quando os marcadores genéticos se localizam muito próximos num cromossoma não segregam de forma independente, sendo, por isso, herdados em conjunto (haplótipo), à semelhança do que ocorre com os STRs do cromossoma Y. O cromossoma X possui 4 grupos de marcadores localizados nas regiões Xp22.2, Xq12, Xq26 e Xq28, que podem proporcionar informação genotípica independente. Todavia, atualmente, é proposto usar *clusters* na prática forense para ser definido o correspondente haplótipo. Os pares: DXS10135-DXS8378, DXS7132-DXS10074,

HPRTB-DXS10101 e DXS7423-DXS10134 são um exemplo destes *clusters*. A caracterização destes 4 pares pode ser feita usando o kit Argus-X-8 (Szibor, 2007).

O GEP-ISFG (Grupo Espanhol e Português da Sociedade Internacional de Genética Forense), hoje conhecido pela designação de GHEP-ISFG (Grupo de Habla Espanhola e Portuguesa da Sociedade Internacional de Genética Forense), promoveu a realização de um exercício colaborativo inter-laboratorial que envolveu a participação de mais de 20 laboratórios oriundos da Península Ibérica e de vários países Latino-Americanos. Neste exercício, foi proposta a análise de amostras, usando 10 STRs do cromossoma X (X-STR Decaplex), alguns dos quais comuns ao Argus X-8: DXS8378, DXS9898, DXS7133, GATA31E08, GATA172D05, DXS7423, DXS6809, DXS7132, DXS9902 e DXS6789. Os autores e intervenientes neste exercício referem tratar-se de um multiplex robusto, uma vez que a maioria dos laboratórios participantes caracterizaram com sucesso as amostras distribuídas pelos seus promotores, mencionando a necessidade de dar continuidade a estudos relacionados com este cromossoma (Gusmão e col., 2008). Posteriormente, foram realizados outros estudos com este multiplex, em colaboração com distintos laboratórios (Zarrabeitia e col, 2008; Gusmão e col., 2009).

Recentemente, a Qiagen iniciou a comercialização do kit Investigator Argus X-12, no qual foi adicionado um STR a cada um dos *clusters* atrás referenciados para o Argus X-8. Assim, este kit permite a amplificação simultânea dos 4 grupos de ligamento: grupo 1: DXS10148, DXS10135 e DXS8378; grupo 2: DXS7132, DXS10079 e DXS10074; grupo 3: DXS10103, HPRTB e

DXS10101; grupo 4: DXS10146, DXS10134 e DXS7423. Em estudo realizado em 150 homens da população do Norte de Portugal, usando este kit, foram determinados os parâmetros forenses, os quais permitiram inferir tratar-se de X-STRs promissores, em especial nalgumas perícias de determinação de parentesco biológico. Descreve-se um caso em que a inclusão destes marcadores numa investigação de paternidade, com pretensão pai ausente, em que se dispunha de amostras biológicas da sua mãe, bem como da pretensa neta e da respetiva mãe, se mostrou de grande interesse para a conclusão da perícia. Esta importância foi expressa nos valores de LR, que era de 14 apenas para os STRs autossómicos, tendo aumentado para 6947364312, quando foram incluídos os 12 X-STR (Cainé e col., 2011).

2.4. DNA MITOCONDRIAL

A herança uniparental materna da informação genética do DNAm_t permite determinar a ancestralidade através de várias gerações, ao contrário dos marcadores autossómicos que sofrem recombinação. Por isso, os marcadores de linhagem (DNAm_t e o cromossoma Y), que possibilitam inferir a origem ancestral de uma amostra de DNA, proporcionam um potencial desenvolvimento de meios capazes de conduzir a investigação criminal.

A sequenciação do DNAm_t tem vindo a ser validada para análises forenses em vários laboratórios, tendo vantagens em relação ao DNAnu, tais como: a) proporcionar resultados quando o estudo do DNAnu falha, por estar presente num elevado número de cópias por célula (cerca de 100.000); b) permitir a comparação direta de

sequências de DNA de membros da família da mesma linhagem materna em processos de identificação, por ser transmitido unicamente pela via materna aos descendentes, sem recombinação. Estas duas vantagens são de especial importância na resolução de casos em que o material biológico não contém ou tem pouca quantidade de células, designadamente as hastes de cabelos, restos cadavéricos e pele.

A maior desvantagem do DNAm, em comparação com o DNAnu, é a organização do seu genoma que é muito compacta e, conseqüentemente, menos polimórfico, sendo cerca de 90% do seu genoma codificante.

A análise da região D-loop do DNAm, em especial as regiões hipervariáveis HVI e HVII, permite determinar relações familiares, quando existe um hiato de várias gerações entre um ancestral e descendentes vivos. Esta característica, que é comum ao cromossoma Y, permite a comparação de haplótipos entre familiares, podendo o seu grau de parentesco não ser obrigatoriamente próximo, nos casos de catástrofes, quando os restos cadavéricos estão degradados e a análise de STRs autossómicos já não é possível. O mesmo estudo poderá ser realizado em cadáveres não identificados. No entanto, o DNAm não possui o poder de discriminação dos STRs. Esta análise tem sido usada no SGBF, DN, entre outros casos, no estudo de pelos (cabelos) cortados que foram colhidos de para-brisas e para-choques em veículos relacionados com casos de atropelamento seguidos de fuga.

A utilidade do DNAm na prática forense refere-se, fundamentalmente, à sua análise proporcionar resultados quando a do DNA nuclear falha, aplicando-se em casos em que as únicas

amostras de referência disponíveis são as de parentes de linhagem materna comum, bem como naqueles em que o DNAnu está praticamente ausente (por ex. hastes de pelos) (Pinheiro, 2010b).

Os humanos possuem um mitotipo ancestral comum com origem na população da África subsariana, há cerca de 150.000 — 200.000 anos. As mutações acumuladas desde então deram origem a diferenças, que constituem a base da identificação genética individual. Neste longo período de tempo as populações migraram e expandiram-se, originando diferenças geográficas nas linhagens do DNAm. Este processo reflete-se na distribuição irregular dos tipos de sequências em várias populações.

O DNAm possui limitações na área forense, em especial, quando os mitotipos identificados são comuns. Outros mitotipos são mais raros, havendo uma grande assimetria na sua distribuição. Cerca de 7% da população possui haplótipos idênticos para HVI e HVII e 50% da população pertence a um haplogrupo único (H). Esta constatação permite inferir que o facto de duas amostras possuírem idêntico haplótipo para estas regiões (HVI e HVII) não significa que sejam provenientes do mesmo indivíduo ou, ainda, de familiares da mesma linhagem materna (Butler, 2005).

Estudos efetuados nas duas regiões hipervariáveis do DNAm, bem como noutras variações do genoma mitocondrial, permitiram concluir que os haplogrupos A, B, C, D, E, F e G estão caracteristicamente associados a asiáticos, enquanto os nativos americanos pertencem aos haplogrupos A, B, C e D. Os haplogrupos L1, L2 e L3 são africanos e os haplogrupos H, I, J, K, T, U, V, W e X são tipicamente pertencentes a populações europeias.

A utilização de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) do DNAMt, hoje amplamente divulgada, permite a diferenciação de indivíduos que pertencem aos haplogrupos mais comuns, como é o caso do haplogrupo H em populações europeias.

A maior vantagem do DNAMt, em termos de sequenciação, é que é haplóide e, por isso, existe apenas um tipo para cada indivíduo (exceto as heteroplasmias). Contudo, as amostras correspondentes a misturas de indivíduos não aparentados pela linhagem materna, frequentes no contexto da criminalística biológica, não têm sido alvo de tentativa de decifrar os seus componentes, devido à sua complexidade. No entanto, tem vindo a ser demonstrado que as misturas de DNAMt podem ser interpretadas, através da clonagem e subsequente sequenciação das regiões HVI e HVII das colónias individuais.

Sob a égide do GEP-ISFG foi efetuado o estudo de 5 manchas de sangue de diferentes dadores (M1 – M5), numa mistura (M6) e em 4 fragmentos de hastes de pelos do mesmo indivíduo (M7). Um dos objetivos do trabalho incidiu sobre a possibilidade da amostra M6 ser compatível com a mistura de M4 e M5 (Crespillo e col., 2006). Verificou-se haver um menor número de participantes nesta vertente do exercício, o que demonstra que o DNAMt não é um marcador de eleição na resolução de mistura de perfis em amostras com misturas, bem como na complexidade de interpretação dos resultados.

Tendo como finalidade desenvolver a qualidade e standardização das análises de DNAMt, para além de aspetos técnicos e de interpretação, o mesmo grupo promoveu a realização de um outro exercício. Destacaram-se 3 amostras forenses, sendo que a identificada por M6 correspondia a

uma mistura de sangue (amostra de referência M5) e saliva de um dador desconhecido. Do total dos 26 laboratórios participantes, apenas 18 reportaram o haplótipo correto da mistura, sendo que destes só 2 individualizaram os respetivos haplótipos nos 2 potenciais contribuidores (Prieto e col., 2008). Este facto é revelador da complexidade de interpretação de misturas, usando a análise de DNAMt.

A análise de 80 amostras biológicas colhidas a indivíduos não relacionados da população de Santa Catarina (Brasil) efetuada no SGBF, DN, revelou tratar-se de uma população extremamente heterogénea, principalmente devida ao impacto produzido por ondas de migração recentes de populações europeias. A elevada diversidade de sequências é indicativa de que as análises de DNAMt são muito informativas nesta população, no que respeita à identificação genética (poder de discriminação de 97,69%) (Valverde e col., 2009). No que se refere à população do Norte de Portugal este fenómeno não é observado, pelo que as frequências haplotípicas se mantêm similares ao longo de gerações, o que condiciona o seu poder informativo.

3. AMOSTRAS (VESTÍGIOS) DE INTERESSE EM CRIMINALÍSTICA BIOLÓGICA

Para a análise de DNA com interesse na resolução de casos relacionados com crimes é necessário qualquer tipo de mancha ou produto que contenha material genético, como já foi referido. Este material encontra-se em todas as células nucleadas do organismo e possui características

importantes em estudos de identificação, já que o DNA é único para cada indivíduo, e é idêntico em todas as suas células; ou seja, estudando-se qualquer vestígio biológico pode-se identificar o indivíduo ao qual este pertence (Pinheiro, 2008b).

Os vestígios biológicos envolvidos em casos com interesse forense, mais frequentes, são as manchas de sangue, normalmente relacionadas com homicídios, roubos, furtos ou agressões físicas, e o sêmen com agressões sexuais.

As amostras biológicas podem encontrar-se em suportes porosos e absorventes existentes no local do crime, como sofás, tapetes, alcatifas e mesmo na roupa da vítima ou do autor do crime; ou em suportes não porosos, como diferentes tipos de revestimentos de chão ou paredes de residências, vidros ou cerâmicas (Pinheiro, 2008b).

Há amostras que se encontram em suportes que, pelas suas dimensões ou outras características, não são suscetíveis de serem enviadas para os serviços que realizam as respetivas perícias forenses. Neste caso, pode-se proceder à transferência do vestígio do suporte original para uma zaragatoa humedecida com água ultrapura (MilliQ), sendo a extração do DNA realizada a partir deste último suporte.

As manchas existentes em pedaços de madeira, pedras ou terra, podem proporcionar maus resultados, devido às características de absorção destes suportes, bem como à presença de inibidores. Um requisito imprescindível para o êxito da análise é que as manchas sejam rapidamente secas e adequadamente acondicionadas, de forma a preservar o seu material genético.

As amostras biológicas que mais vezes estão relacionadas com perícias de Genética Forense são: o sangue, sêmen, saliva, pelos e células epiteliais.

Os crimes relativos aos quais são solicitadas perícias de Genética Forense são, em geral, homicídios, agressões sexuais, agressões físicas, roubos e furtos. O objetivo do envio de amostras biológicas, para os laboratórios forenses, existentes em suportes variados, reside na sua identificação genética.

É de realçar que a maioria delas referem-se ao estudo de DNA humano; todavia, podem-se também efetuar perícias em amostras de DNA não humano. Este DNA não se reporta exclusivamente a DNA animal, sendo, contudo, este o DNA mais vezes envolvido em delitos. Os pelos de animais são, provavelmente, as amostras biológicas não humanas mais vezes presentes, por serem encontradas em locais de crime, sendo, por isso, consideradas potenciais evidências na resolução de crimes violentos. Esta constatação é explicada pelo facto de haver uma grande percentagem de gatos e cães domésticos que coabitam com os seus donos, em especial nos países ocidentais. Os pelos detetados em peças de vestuário, em casas, carros, entre outros locais, são facilmente transferidos nas atividades domésticas diárias (Pinheiro, 2010c).

Os resultados obtidos das análises efetuadas a amostras biológicas no âmbito da criminalística biológica traduzem-se na identificação de perfis genéticos. Como a maioria dos delitos são perpetradas por homens, o que se pretende é a identificação de um perfil genético masculino que venha a ser concordante com o de um suspeito.

As amostras biológicas podem ser colhidas no corpo da vítima, do suspeito e/ou do local do crime. Em relação às amostras biológicas existentes noutro tipo de suportes que não o corpo da vítima, a sua recuperação, em geral, não é

urgente, uma vez o material genético permanece intacto num período de tempo longo, exceto se for submetido a fatores adversos (humidade, temperaturas muito elevadas, luz solar, raios UV), durante o tempo suficiente para ocorrer a sua degradação total. Estes suportes podem ser peças de roupa de cama, peças de vestuário e material não transportável ou outro, cuja remoção do local é perfeitamente evitável (chão, móveis, objetos diversos), porque a colheita dos vestígios pode ser feita com recurso a zaragoas ligeiramente humedecidas (Pinheiro, 2011).

Em 1997, Sweet e col. preconizaram a utilização deste procedimento seguido do uso de uma zaragoa seca (técnica da dupla zaragoa). Os autores efetuaram, posteriormente, um estudo comparativo dos dois métodos de colheita, tendo concluído não haver diferenças significativas na recuperação da amostra biológica. Esta metodologia de colheita pode aplicar-se a amostras relativas a outro tipo de crime (Graham & Rutty, 2008).

São aconselhados procedimentos para que as amostras biológicas mantenham a sua autenticidade e integridade, a fim de terem valor probatório em sede de julgamento. A autenticidade certifica que as amostras submetidas à análise e à elaboração do respetivo relatório pericial foram as colhidas, tendo sido no momento da colheita devidamente identificadas. A integridade constitui uma garantia de que o material genético mantém as suas características que, em princípio, assegurarão a possibilidade de serem obtidos resultados (Pinheiro, 2011).

É indispensável que seja assegurada a cadeia de custódia das amostras biológicas submetidas a perícia de Genética Forense. A cadeia de custódia é um processo usado para documentar

o seu trajeto cronológico, a fim de ser atestada e acautelada a sua autenticidade em processos judiciais. Existem sistemas de gestão e de informação úteis, os sistemas LIMS (*Laboratory Information Management System*), podendo ser adquiridas e adaptadas versões especialmente concebidas para laboratórios forenses que integram várias tarefas, entre as quais se destaca o registo de todo o trajeto das amostras biológicas. Estes sistemas conjuntamente com documentação/registo, especialmente criados para o efeito asseguram de forma cabal a referida custódia (Pinheiro, 2011).

3.1. HOMICÍDIOS

Nos crimes de homicídio podem ser encontrados no local do crime e/ou no corpo da vítima qualquer um dos tipos, alguns dos tipos ou, ainda todos os tipos de amostras biológicas atrás referenciadas.

A utilização de objetos contundentes, cortantes, perfurantes, entre outros na prática de crimes violentos, pode resultar na produção de ferimentos com a consequente perda de sangue.

Por sua vez, o sémen também pode estar presente, sendo que poderá resultar da ejaculação do perpetrador antes ou depois de ocorrer a morte da vítima. A sua localização pode ser diversa, podendo ser identificado nas cavidades vaginais e/ou anais da vítima, bem como na cavidade bucal. Evidencia-se que a sua presença nas zonas circundantes destas cavidades também podem ser alvo de colheita. A sua localização pode ser identificada noutras zonas exteriores do corpo do cadáver, em peças de vestuário, roupa de cama, bem como em outros suportes.

A saliva pode ser encontrada no corpo da vítima, salientando-se as marcas de mordida que serão, em princípio, os únicos pontos onde esta amostra poderá ser colhida, uma vez que a haver saliva noutras zonas, se não existirem marcas, será difícil identificar a sua localização, sem a contribuição da própria vítima, que neste caso é cadáver. A saliva pode estar em objetos encontrados no local do crime, sendo óbvia a sua presença nalguns deles, como copos, garrafas, latas de refresco, entre outros. Assinala-se a importância da recolha de cigarros fumados, detetando-se, por vezes misturas (em geral de dois contribuidores).

Os pelos são omnipresentes em todos os locais e nos mais variados suportes, pois o couro cabeludo humano possui entre 100.000 a 150.000 folículos pilosos que produzem pelos, sem ter em consideração outras zonas do corpo, das quais estes também podem ser originários. A circunstância de serem encontradas quantidades abundantes de pelos de diferentes proveniências (de indivíduos diversos, de zonas corporais distintas e de pelos animais) deve-se ao facto de estarem em fase telogénica do seu desenvolvimento; ou seja, na etapa em que as células do folículo piloso e raiz (também designada de bolbo) sofreram a apoptose celular e, por conseguinte, os pelos terem caído. Caso diverso é a eventualidade de ser encontrada uma madeixa de pelos na mão de um cadáver, facto que é altamente sugestivo de pertencer ao agressor. Por outro lado, por se tratar de pelos arrancados (confirmação microscópica) aumenta a possibilidade de êxito na identificação da sua proveniência. Esta circunstância advém dos pelos possuírem raiz em plena vitalidade (bolbo oco) e, por isso, detentora de quantidades apreciáveis de material genético, o que proporcionará a sua

identificação genética com recurso apenas ao estudo do DNA nuclear.

As células epiteliais encontram-se com bastante frequência neste tipo de crimes violentos, tanto nos vestígios subungueais colhidos à vítima como ao agressor. Importa, portanto, preservar as mãos da vítima, para que sejam colhidos aquando da realização da autópsia médico-legal. Por isso, as mãos do cadáver devem ser protegidas com sacos de papel, aquando da realização do exame ao local do crime.

Estas células podem estar presentes noutras localizações, designadamente em objetos existentes no local do crime, que foram tocados pelo agressor.

Na superfície da pele humana existem células que podem ficar aderentes a uma qualquer superfície que seja tocada. Estas células têm origem na descamação da pele (perde-se cerca de 400.000 células por dia) e também em secreções produzidas pelas glândulas sudoríparas e sebáceas, que arrastam células da pele. Quando existe um contacto da pele com qualquer objeto, o suor e o óleo sebáceo ficam aderentes a esse objeto, podendo também ficar depositadas algumas células (Lagoa & Pinheiro, 2006).

Por isso, estas células podem estar presentes em impressões dermopapilares, que serão objeto de exame dactiloscópico; no entanto, a sua colheita, poderá, para além deste fim, ser usada para a identificação genética do seu dador. Esta colheita deve ser feita antes de serem usadas substâncias para a sua revelação, não obstante haver estudos indicativos da obtenção de resultados mesmo após o uso de determinados tipos de produtos para a revelação daquelas impressões (Balogh e col., 2003; Lowe e col., 2003).

3.2. AGRESSÕES SEXUAIS

Durante o exame físico é efetuada uma minuciosa inspeção de toda a superfície corporal da vítima. Esta pode conduzir à obtenção de amostras biológicas que possam conter células do suspeito que permaneçam nos exsudados vaginais, bucais e/ou anais, raspados subungueais, pelos, especialmente da região púbica e manchas existentes no corpo da vítima. É de interesse relevante a preservação e posterior análise genética de roupas, pensos higiênicos, objetos específicos e amostras de referência (Pinheiro, 2008a).

Qualquer dos tipos de amostras biológicas atrás mencionadas pode ser colhido no âmbito de crimes sexuais, quer às vítimas mortais ou vivas quer no local do crime.

A presença de sémen em amostras relacionadas com delitos sexuais é essencial para a presunção da natureza sexual do crime. Contudo, a circunstância de ter sido identificado um perfil genético masculino em amostra de sémen, no âmbito de uma suposta agressão sexual em queixosa do sexo feminino, não é prova suficiente para a comprovação da existência de crime.

A identificação do perfil genético do agressor em manchas de material biológico que lhe pertença pode ser efetuada meses ou anos após a ocorrência do crime, porque o material genético é resistente à degradação. Contudo, como foi referido, neste tipo de crimes a amostra que tem mais interesse é o sémen. Quando a colheita deste é efetuada nas cavidades vaginal, anal ou bucal da vítima, os resultados genéticos dependem em grande parte do tempo que medeia entre a prática do crime, o exame à vítima e a respetiva colheita. Estes condicionalismos também estão

relacionados com agentes que existem nestas cavidades responsáveis pela degradação do DNA (Pinheiro, 2011).

A presença de espermatozoides aparentemente intactos na cavidade vaginal associada a um intervalo pós-coital prolongado pode inviabilizar a identificação genética, por ter havido degradação do DNA. Esta degradação pode ser devida à exposição prolongada dos espermatozoides na vagina, que desencadeia a adesão de células femininas lisadas às suas cabeças, sendo que desta interação resulta a produção de nucleases e a consequente degradação do DNA (Elliott, 2003).

Nesta perspetiva, evidenciam-se fatores potenciadores da degradação dos espermatozoides que atuam nas diferentes cavidades das quais são colhidas evidências. Assim, destaca-se o facto da cavidade vaginal ser quente, ácida e húmida. A boca e o ânus são também cavidades em que tem sido verificada a rápida destruição dos espermatozoides pela atuação, respetivamente, de enzimas salivares e de enzimas produzidas por bactérias (Sibille, 2002).

Por várias razões as vítimas não mortais de agressões sexuais só são submetidas a exame médico, e à respetiva colheita de amostras biológicas, mais de 24-36 horas depois de ocorrido o evento, sendo que neste período ainda é possível identificar perfis de STRs autossómicos. Todavia, quando este intervalo excede as 48 horas aquela identificação não é, em geral, viável, embora esta inviabilidade não seja devida à ausência de células masculinas. Há estudos relacionados com a reprodução demonstrativos da presença de vários espermatozoides no cérvix humano 7 dias após o coito, o que é consistente com o conceito de

que este local é o repositório de sémen antes de ocorrer a fertilização (Hall & Ballantyne, 2003).

Esta verificação, ao contrário do que seria expectável, não invalida o facto de se constatar ausência de resultados referentes à identificação de células masculinas, apesar de serem usados métodos sensíveis na análise de DNA.

O método de lise diferencial foi a metodologia *standard* usada nos laboratórios forenses para separar os espermatozoides das células epiteliais da vítima. Este método utiliza diferenças específicas na composição química das membranas das respetivas células. Nesta perspetiva, efetua-se uma primeira lise das células não espermáticas, procedendo-se de seguida a lavagens para remover resíduos de DNA exógeno. Embora este método possa, em geral, proporcionar duas frações celulares, a separação não é sempre completa, podendo haver transição de células de uma fração para outra, fazendo com que a interpretação dos resultados e a respetiva análise estatística constitua um verdadeiro desafio. As limitações adicionais desta técnica prendem-se, fundamentalmente, com a lise prematura e perda de espermatozoides na primeira digestão e nos múltiplos passos de transferências e lavagens, que reduzem a recuperação das células. Uma alternativa da separação química é a separação através da seleção física direta de células “alvo” (espermatozoides) da mistura (Sanders e col., 2006).

Em 2003, a mesma equipa que descreveu o método de lise diferencial preconizou o uso da microdissecção a laser (*Laser Microdissection* – LMD) como sendo uma tecnologia útil na análise de DNA para identificação e isolamento de espermatozoides a partir de células epiteliais da vítima, em amostras relacionadas com crimes sexuais. Trabalhos posteriormente publicados vieram a demonstrar

que a LMD também conhecida por LCM (*Laser Capture Microdissection*), apresenta algumas limitações, designadamente o preço do equipamento (microscópio) e a elevada quantidade exigida de material genético masculino, traduzida na presença de espermatozoides preservados, para possibilitar a obtenção de um perfil genético masculino completo (STRs autossómicos) (Pinheiro, 2011).

Tem havido, por parte da comunidade científica forense, um grande investimento no progresso técnico desta área, conforme se pode avaliar através da profusa bibliografia existente sobre vários aspetos relacionados com a identificação genética em amostras biológicas referentes a crimes sexuais. Contudo, as múltiplas variáveis e desafios que se podem colocar durante o estudo destas amostras têm redundado em resultados periciais que, por vezes, ficam aquém do esperado. A esta inabilidade para alcançar resultados laboratoriais conclusivos de perícias em que seria de esperar a identificação do perfil genético do agressor, acresce a impossibilidade de, num número relativamente elevado de casos, a investigação criminal não conseguir identificá-lo. Este impedimento deve-se à falta de informação proporcionada pela vítima acerca do perpetrador e à índole do próprio crime sexual, mormente relacionada com a ausência de testemunhas (Pinheiro, 2011).

Não obstante poder haver outras provas materiais que não as genéticas que possam contribuir para a condenação de um suspeito, o valor probatório destas últimas é significativamente superior. Têm sido divulgados casos nos Estados Unidos relativamente aos quais foram cometidos erros judiciais graves, devido à ausência de provas de acusação seguras. O “*Innocence Project*” é uma organização dedicada à revisão de casos julgados e

a modificar o sistema de justiça criminal para prevenir futuras injustiças. Desde 1992 conseguiu que os tribunais reconhecessem a existência de erros judiciários, de tal modo que até finais de Março de 2011 foi declarada a inocência de 267 condenados através de estudos de DNA (Pinheiro, 2011).

3.3. AGRESSÕES FÍSICAS, ROUBOS E FURTOS

Quanto a estes tipos de crimes a amostra mais frequentemente detetada é o sangue, apesar de poderem existir os restantes tipos de amostras biológicas, à exceção do sémen; isto é, saliva, pelos e células epiteliais.

4. CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS (VESTÍGIOS) DE INTERESSE EM CRIMINALÍSTICA BIOLÓGICA

4.1. SANGUE

O sangue é o tipo de amostra mais frequentemente analisada no âmbito da investigação criminal, sob a forma de manchas secas, pelo facto de haver, no caso da prática dos crimes mencionados, um número elevado de objetos ou peças de roupa e/ou do próprio local do delito impregnados com este fluído biológico.

O sangue é uma suspensão de leucócitos (glóbulos brancos), eritrócitos (glóbulos vermelhos ou hemácias) e plaquetas (fatores de coagulação sanguínea), no plasma. Cada mililitro de sangue de um adulto normal contém entre 3.800 a 9.800 milhões de leucócitos.

O DNA é extraído dos leucócitos do sangue, uma vez que os eritrócitos são células anucleadas.

Esta extração é efetuada mediante a utilização de diferentes protocolos, sendo os mais usados os que utilizam o Chelex ou a extração orgânica, com fenol-clorofórmio-álcool isoamílico. Esta última metodologia é quase exclusivamente empregue no caso da amostra de sangue se encontrar em precárias condições de conservação, como o sangue cadavérico em estado líquido, colhido e conservado durante bastante tempo antes da realização da sua análise genética. Normalmente esta situação ocorre quando o patologista forense não vislumbrou interesse na sua colheita, por não haver suspeita de crime, e ter de se recorrer ao remanescente da amostra de sangue enviada para o Serviço de Toxicologia Forense (Pinheiro, 2008b).

As perícias que envolvem esta amostra biológica são, habitualmente, concluídas com sucesso, havendo, porém, casos excecionais em que, não obstante as manchas de sangue serem visíveis e serem envidados todos os esforços metodológicos e tecnológicos no sentido de serem obtidos resultados, a sua análise apenas proporciona perfis parciais ou mesmo ausência de resultados. Esta circunstância é interpretada como sendo devida à presença de inibidores (grupo heme), que é confirmada quando se faz a quantificação do material genético da amostra por Real-Time qPCR, metodologia que, para além de determinar a quantidade de DNA, identifica a presença de inibidores.

4.2. SÉMEN

O sémen é uma suspensão de espermatozoides no líquido seminal. Um mililitro de sémen contém entre 60 a 120 milhões de espermatozoides. Esta quantidade é suficiente para que, na maioria das perícias em que esteja presente

sémen, seja viável a identificação genética do seu dador, não obstante as adversidades atrás descritas, relacionadas com o meio de onde estes são recuperados.

O DNA a analisar é extraído, maioritariamente, dos espermatozoides, efetuando-se, previamente, a confirmação microscópica da sua existência, no caso de serem presentes esfregaços em lâmina, efetuados a partir de exsudados colhidos à queixosa. É, também, prática corrente realizar testes preliminares, a fim de se averiguar a presença de sémen. Contudo, a sensibilidade destes testes é precária, diminuindo com vários fatores, entre os quais se destaca o tempo. O que significa que estes testes são meramente de orientação, embora, não raras vezes, e apesar de serem negativos é identificado um perfil genético masculino. Por isso, e em qualquer das circunstâncias, deve proceder-se à extração do DNA da amostra biológica.

A ausência de espermatozoides pode ser devida a vários fatores, designadamente: a) ao longo período que medeia entre a ejaculação e a colheita de amostras; b) à penetração sem ejaculação; c) anomalias no aparelho reprodutor do agressor. Nas duas últimas situações a quantidade de DNA seminal é muito escassa, porque os espermatozoides representam a principal fonte de DNA nos ejaculados necessários à subsequente identificação dos perfis genéticos (Soares-Vieira, 2007).

O sémen pode ser identificado em zaragatoas colhidas nas cavidades (vaginal, anal, bucal) ou no exterior do corpo da vítima, em peças de vestuário que esta envergava aquando da prática do crime, evidenciando-se as cuecas e/ou outras peças de roupa íntimas que, com frequência, são suportes

que contêm manchas. Tem sido analisado outro tipo de suportes com sémen (Pinheiro, 2011).

4.3. SALIVA

Um indivíduo saudável produz entre 1 a 1,5 litros de saliva por dia, podendo ocorrer a sua transferência, bem como a de células epiteliais que nela estão retidas. Esta transferência pode suceder por contacto, tais como em produtos alimentares, contentores de bebidas, pontas de cigarro, envelopes ou em crimes sexuais em que houve ejaculação na cavidade bucal. A transferência também pode dar-se por deposição de partículas de saliva, tais como as que aderem a uma máscara ou a um telefone (Goodwin e col., 2007).

A saliva, apesar de não conter células na sua constituição, por transportar células epiteliais da cavidade bucal, possui DNA. As amostras que contenham saliva, tais como mordidas infligidas às vítimas, filtros de cigarros fumados, garrafas ou latas de refrigerantes e, ainda, selos ou envelopes, são suscetíveis de permitir a identificação do agressor. A saliva presente em peças de vestuário e/ou roupa de cama só será objeto de estudo se houver indicações da sua presença, uma vez que se trata de um produto incolor e que não dá mais consistência ao tecido, ao contrário, por exemplo, do sémen.

A saliva contém água e glicoproteínas, para além doutros componentes, designadamente a enzima amílase (alfa-amílase, denominada ptialina). As células presentes num mililitro de saliva variam entre 100.000 – 400.000. A pesquisa da alfa-amílase, em amostras biológicas submetidas a perícia de Genética Forense, pode ser efetuada mediante a utilização de produtos da Phadebas,

divididos em duas categorias: “*Press Test*” e “*Tube Test*”, constituindo estes ensaios preliminares apenas testes de orientação. A amilase está presente na saliva numa concentração superior a 50 relativamente a outro fluido corporal (Goodwin e col., 2007). O percurso laboratorial destas amostras é idêntico ao realizado para as restantes amostras biológicas.

4.4. PELOS

Os pelos podem ser retirados de peças de vestuário, das mãos, ou de qualquer outra localização do corpo da vítima, ou ainda do local do crime, devendo ser colhidos e acondicionados com precaução, por várias razões, entre as quais se destaca o facto de poderem ser provenientes de pessoas distintas. Estes podem ser transferidos durante o contacto físico, por isso a sua presença pode permitir a associação de um suspeito a uma vítima ou a do suspeito/vítima a um local de crime.

Esta associação é particularmente útil em crimes violentos, tais como homicídios, crimes sexuais e agressões físicas, em que ocorreu contacto físico, podendo ter havido transferência de pelos. Outros crimes, como os assaltos a residências e roubos envolvem, em geral, a colheita de vestígios subungueais e manchas de peças de roupa, que podem conter pelos úteis na identificação dos suspeitos (Deedrick, 2000).

O tipo de pelos recuperados, as suas condições morfológicas e o número encontrado são fatores com impacto no seu valor, enquanto evidência, na investigação criminal.

Nos humanos existem pelos em diversas partes do corpo, possuindo características que podem possibilitar a determinação da sua proveniência,

no que respeita à região corporal. Todavia, na perspectiva da Genética Forense esta determinação não é relevante, o que importa é o estabelecimento do respetivo perfil genético, pelo que no SGBF, DN se usa o termo pelo, independentemente da sua origem, mesmo que se trate de um pelo com um comprimento apenas compatível com o de um pelo proveniente do couro cabeludo (cabelo). Esta opção prende-se com a circunstância de se evitar usar terminologia inadequada, quando se trata de uma perícia que envolve um grande número de vestígios deste tipo e, por isso, se torna difícil usar a nomenclatura correcta, no que se refere à localização corporal.

O couro cabeludo humano contém um elevado número de folículos pilosos, que produzem pelos, como anteriormente mencionado, atravessando três fases de desenvolvimento, a anagene, em que o pelo se encontra em crescimento ativo, e cuja duração varia de 2 a 8 anos; a catagene, em que se verifica a paragem da actividade celular; a telogene, quando ocorre a morte das células (apoptose celular), havendo a quebra da dupla cadeia do DNA das raízes dos pelos, e estes acabam por cair (Pinheiro, 2008b).

Os pelos são maioritariamente constituídos por queratina (proteína), pequenas quantidades de metais, ar e pigmento, a melanina, sendo esta última, um potente inibidor da amplificação (PCR). Por isso, quando são presentes para estudo do DNA hastes de pelos, ou mesmo raízes de pelos que caíram espontaneamente, sem tecidos do folículo piloso aderentes, não se obtêm resultados quando se estuda apenas DNA nuclear. Acresce ainda a possibilidade da existência de fatores que possam impedir uma eficaz extração do DNA, como os tratamentos químicos, resistentes aos

métodos de digestão enzimática que usam ditio-treitol, proteinase K, detergentes e o aquecimento para dissolver o pelo (Pinheiro, 2008b).

De acordo com o atrás referenciado, a observação microscópica do pelo não tem como objetivo a determinação da região corporal da sua proveniência, mas desde logo permitir estabelecer se o pelo é humano ou animal, bem como observar cuidadosamente a raiz, no sentido de se poder inferir a sua fase de desenvolvimento (anagene, catagene ou telogene), o que permitirá decidir acerca da estratégia a seguir com a finalidade de determinar o seu perfil genético.

Num indivíduo são, 80% a 90 % dos folículos pilosos da cabeça (cabelos) estão na fase anagénica, 2% catagénica e 10% a 18% telogénica. O período médio de crescimento do pelo (cabelo) é aproximadamente 1.000 dias, sendo que as restantes fases ocorrem num período de 100 dias. Aproximadamente 10% dos pelos da cabeça humana, os cabelos, representando entre 100 e 1.000, encontram-se na fase telogénica. Estes pelos destacar-se-ão do folículo inativo se a mínima força, ou combinação de forças, forem exercidas (Deedrick, 2000).

Estruturalmente, o pelo é constituído por três partes principais: cutícula ou epidermícula, córtex ou substância cortical e medula ou canal medular. O exame microscópico do pelo pressupõe a observação cuidadosa destas estruturas e permite distinguir pelos humanos de não humanos. Em especial as características da medula podem facultar a determinação da espécie animal à qual o pelo pertence. Evidencia-se, no entanto, que este tipo de perícia é apenas acessível a peritos muito experientes nesta área, sendo que porventura os resultados alcançados podem não trazer qualquer

mais-valia para a investigação criminal. Por isso, reitera-se a ideia de que a identificação da espécie à qual o pelo pertence, bem como a identificação do respetivo perfil genético, no caso dos pelos humanos, se adequa mais ao que é pretendido em termos de identificação do seu dador do que um exame exaustivo às suas características morfológicas que, em qualquer circunstância, nunca permitirá a identificação do seu dador.

A camada exterior das células do pelo, a cutícula, é composta por células sobrepostas ou escamas, cuja principal função é manter a integridade do pelo e impedir a transferência de substâncias solúveis do exterior para o interior. A disposição das células da cutícula é diferente nos pelos humanos e na dos animais.

Nos pelos humanos o córtex, que constitui a maior parte do pelo, consiste, basicamente, em células alongadas e material intercelular. Os grânulos de pigmento são pequenos, esféricos com um diâmetro de 0,2 a 0,8 μm . Estes são compostos por melanina, sendo que há 2 tipos: eumelanina (cor castanha e preta) e feomelanina (cor loura e ruiva). A medula representa a parte central do pelo, sendo que não está presente em todos os pelos humanos e, quando presente, esta pode ser contínua ou descontínua. Dependendo do tipo de pelos e da sua proveniência (humana ou não humana) o diâmetro da medula é muito variável. Pode constituir de 0% a 95% do pelo (Gaudette, 2000a).

A fim de se determinar se os pelos são humanos ou de animal, há vários parâmetros a ter em consideração, designadamente, o comprimento, diâmetro, cor, tratamento, medula, índice medular, distribuição da pigmentação, haste, raiz, extremidade, escamas, secção transversal (Gaudette, 2000b).

Algumas destas características só são visíveis ao microscópio, como: o diâmetro, a medula e, por conseguinte, a determinação do índice medular, a distribuição da pigmentação, a raiz, a extremidade, as escamas e a secção transversal.

Destas, serão apenas referenciadas as que têm maior importância no contexto das perícias de Genética Forense. O diâmetro do pelo humano possui de 0,05 – 0,15 milímetros, o dos animais pode ser idêntico ou muito diferente; a medula dos animais pode ter um complexo regular e geométrico de células; o índice medular (razão entre o diâmetro da medula e o diâmetro do pelo) nos pelos humanos é quase sempre inferior a 1/3 e nos animais é, usualmente, superior a 1/3. As escamas (células de revestimento) dos pelos humanos formam um padrão irregular e anular, enquanto as dos animais possuem uma variedade de tipos, podendo o mesmo pelo exibir mais do que um tipo.

4.5. CÉLULAS EPITELIAIS

De acordo com o atrás referido as células epiteliais podem ter diversas proveniências no que respeita à região corporal, para além de poderem estar presentes em distintos suportes.

Importa, também evidenciar que estas células podem ter origem em objetos tocados. A quantidade de material celular transferido depende do tempo que a pele esteve em contacto com o objeto, da pressão aplicada, da presença de fluidos, como o suor que intervém na sua transferência. Alguns indivíduos transferem células da sua pele mais facilmente do que outros; estes indivíduos são classificados como bons dadores/propagadores. Assim, qualquer superfície com

que o perpetrador contactou no local do crime, incluindo marcas de contacto com a vítima, pode conter as suas células epiteliais. Na maioria dos casos, o baixo número destas células, provenientes apenas de contacto, proporciona um sucesso muito limitado na obtenção de um perfil de DNA. Os métodos de visualização destes vestígios dermopapilares, como por exemplo o uso da ninidrina (corante usado na rotina para visualização de impressões digitais latentes), que deteta a presença de aminoácidos, podem ser úteis na identificação de amostras que contenham este tipo de células (Goodwin e col., 2007).

O tipo de suporte sobre o qual a impressão digital está depositada é também muito importante. É interessante perceber que as superfícies habitualmente consideradas ideais para a visualização e transplante de impressões digitais (lisas e não porosas, como vidro e metal) são menos adequadas para a recuperação de DNA vestigial. Enquanto superfícies habitualmente inadequadas para fins lofoscópicos (superfícies rugosas), são bons suportes para a recolha de DNA vestigial (Lagoa & Pinheiro, 2006).

5. VALORIZAÇÃO DA PROVA

As perícias do âmbito da criminalística biológica têm, em geral, como principal objetivo a identificação do autor do crime. Esta identificação é efetuada pelos órgãos de investigação criminal que solicitam perícias aos laboratórios forenses, no sentido de os coadjuvarem na descoberta da verdade.

Este tipo de perícia pressupõe várias fases que incluem o estudo laboratorial, a análise dos resultados tendo em vista a comparação dos perfis

genéticos, a valorização estatística dos mesmos se os perfis forem idênticos, e a elaboração do relatório pericial. Este deve ser exaustivo, referindo-se e descrevendo-se todo o material recebido, testes preliminares efetuados, técnicas usadas na extração do DNA, métodos de tipagem e resultados obtidos. As conclusões devem incluir as comparações das características genéticas das amostras biológicas presentes a exame e as mesmas características de amostras biológicas colhidas à vítima e suspeito/suspeitos.

As conclusões possíveis são três: a) os perfis de DNA do suspeito e da(s) amostra(s) biológica(s) (cujas características genéticas não são idênticas às da vítima e que há indícios de que possam pertencer ao suspeito) não são idênticos; b) há concordância dos referidos perfis; c) o estudo não é conclusivo.

Quando há concordância de perfis genéticos efetua-se a valorização estatística dos resultados, recorrendo ao teorema de Bayes, que permite determinar as probabilidades finais de um sucesso a partir de probabilidades iniciais. Esta probabilidade inicial, designada de probabilidade *a priori*, deve ser fornecida pelo juiz face ao seu conhecimento do processo judicial que deu origem à investigação (Carracedo, 1999).

Em face do exposto, para se fazer a valorização objetiva da prova científica basta multiplicar o valor da probabilidade *a priori* (grau de crença, por parte do juiz, de que a amostra pertença a um determinado indivíduo) pela razão de verosimilhança ou Likelihood Ratio (razão bayesiana de probabilidades), obtendo-se a probabilidade *a posteriori*.

Quando o valor da probabilidade *a priori* não é fornecido atribui-se o valor de 0,5, considerando-se

que a probabilidade da mancha provir de um determinado indivíduo é igual à de proceder de indivíduo distinto, não tendo em consideração a prova genética.

Se se analisar uma amostra biológica, cujas características genéticas são idênticas à do indivíduo com quem se pretende efetuar a comparação, normalmente o suspeito, para se determinar a probabilidade de que a amostra provenha do indivíduo mencionado, têm de ser consideradas, pelo menos, duas hipóteses alternativas possíveis e que se excluem mutuamente. A hipótese H1, que se refere à possibilidade da amostra biológica provir do indivíduo mencionado, atendendo aos resultados genéticos observados; e a hipótese H2 respeitante à possibilidade da amostra provir de outro indivíduo que não aquele. Tendo em consideração estas duas hipóteses obtém-se a razão de verosimilhança ou razão bayesiana de probabilidades, também designada de LR, usando a seguinte fórmula:

$$LR = \frac{\text{Prob. dos resultados genéticos se H1 é verdadeira}}{\text{Prob. dos resultados genéticos se H2 é verdadeira}}$$

Se forem utilizados *loci* independentes, o cálculo do valor de LR será simplesmente o produto do inverso das frequências dos fenótipos dos resultados genéticos dos marcadores estudados para a resolução do caso, tendo em consideração a população de referência adequada.

O valor de LR encontrado (X) indica que é X vezes mais provável que sejam observados os resultados genéticos, assumindo que a amostra pertença ao indivíduo em questão, comparada com a possibilidade de não pertencer.

Evett (1987), à semelhança de Hummel para os casos de filiação, elaborou uma escala em que figuram os valores de LR obtidos e os correspondentes predicados verbais, indicativos da força da prova (Tabela 1).

Tabela 1. Tabela de Evett.

Likelihood Ratio (LR)	Evidência da prova
1-33	Fraca
33-100	Regular
100-330	Boa
330-1000	Forte
Superior a 1000	Muito forte

O uso da escala de Evett deve ser evitado, uma vez que é difícil transmitir o significado dos predicados verbais, para além de hipervalorizar a prova científica. Do ponto de vista prático, tais predicados podem induzir o juiz a tomar uma decisão, baseada nos referidos predicados que correspondam a valores de LR que, em determinadas circunstâncias (se o suspeito para alguns dos sistemas utilizados possui alelos pouco frequentes na população), não correspondam à realidade.

A probabilidade de concordância, não raras vezes, é confundida com a probabilidade de coincidência ou probabilidade de *matching*. Trata-se, porém, de uma probabilidade *a posteriori*, calculada numa situação real e refere-se a um só marcador genético e a um determinado indivíduo.

A probabilidade de concordância acumulada diz respeito ao conjunto dos polimorfismos de DNA usados na resolução de um caso, representando a probabilidade de que um indivíduo, tirado ao acaso

da população, coincida para os fenótipos relativamente a todos os marcadores genéticos estudados com os fenótipos da amostra biológica (Fernández, 1999). Para n sistemas é dada pela fórmula:

$$C = p_1.p_2...p_n$$

Em que $p_1, p_2...p_n$ são as probabilidades de concordância dos sistemas 1, 2, n . (Pinheiro, 2008b).

BIBLIOGRAFIA

- Amorim, A. (2008). "A cautionary note on the evaluation of genetic evidence from uniparentally transmitted markers". *Forensic Sciences International Genetics*, 2(4): 376–378.
- Balogh, M.K., Burger J., Bender K., Schneider P.M., Alt K.W. (2003). STR genotyping an mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. *Forensic Sciences International*, 137, 188-195.
- Butler, J. (2005). Forensic DNA issues: degraded DNA, PCR inhibition, contamination, mixed samples and low copy number. In *Forensic DNA Typing, Second Edition* (pp. 145-179). Elsevier Academic Press.
- Butler, J. (2005). Mitochondrial DNA Analysis. In *Forensic DNA Typing, Second Edition* (pp. 241-298). Elsevier Academic Press.
- Butler, J. (2010). Forensic Challenges: Degraded DNA, Mixtures, and LCN. In *Fundamentals of Forensic DNA Typing* (pp.315–339). Elsevier.
- Butler, J. (2011). Y-Chromosome DNA Testing. In *Advanced Topics in Forensic DNA Typing Methodology* (pp.371–405). Elsevier Academic Press.
- Cainé, L., Carvalho R., Costa S., Pereira M.J., Pinheiro M.F. (2011). *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 3, e206–e207.
- Carracedo, A. (1999). Valoración de la Prueba del ADN. In *La Prueba del ADN en Medicina Forense*: 301-308. Masson. Barcelona.

- Coble, M.D., Butler, J.M. (2005). Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *Journal of Forensic Sciences*, 50, 43–53.
- Crespillo, M., Paredes, M.R., Prieto, L., Montesino, M., Sala A., Albarran, C. ...García-Hirschfeld, J. (2006). Results of 2003-2004 GEP-ISFG collaborative study on mitochondrial DNA: focus on the mtDNA profile of a mixed semen-saliva stain. *Forensic Science International*, 160, 157-167.
- Deedrick, D.W. (2000). Hair Evidence. *Forensic Science Communications*, 2(3).
Disponível em: <http://www.fbi.gov/about-us/lab/forensicsciencecommunications/fsc/july2000/deedrick.htm/deedric1.htm>
- Elliott, K., Hill, D.S., Lambert, C., Burroughes, T.R., Gill, P. (2003). Use of laser microdissection greatly improves the recovery of DNA from sperm on microscope slides. *Forensic Science International*, 137, 28–36.
- Gaudette, B.D. (2000a). Hair. In Siegal J; Knupfer G & Saukko P (Eds), *Encyclopedia of Forensic Sciences* (Vol. 3, pp. 999-1002). Academic Press.
- Gaudette B.D. (2000b). Identification of Human Animal Hair. In Siegal J; Knupfer G & Saukko P (Eds), *Encyclopedia of Forensic Sciences*. (Vol. 3, pp.1034-1041). Academic Press.
- Gill, P., Jeffreys, A.J., Werrett, D.J. (1985). Forensic application of DNA 'fingerprints'. *Nature*, 318,577–579.
- Gill, P., Fereday, L., Morling, N., Schneider P.M. (2006a). New multiplexes for Europe. Amendments and clarification of strategic development. *Forensic Science International*. 163, 155–157.
- Gill P., Fereday L., Morling N., Schneider P.M. (2006b). The evolution of DNA databases— recommendations for new European STR loci. *Forensic Science International*, 156, 242– 244.
- Goodwin, W., Linacre, A., Hadi, S. (2007). Biological material: collection, characterization and storage. Presumptive testing. *In An Introduction to Forensic Genetics*. (pp.21–23). Wiley.
- Graham, A., Ruty, G. (2008). Investigation into “normal” background DNA on adult necks: implications for DNA profiling of manual strangulation victims. *Journal of Forensic Sciences*, 53(5), 1074–1082.
- Gusmão, L., Alves, C., Sánchez-Diz, P., Zarrabeitia, M.T., Abovich, M.A., Aragón, I. ...Amorim, A. (2008). Results of the GEP-ISFG collaborative study on an X-STR decaplex. *Forensic Science International: Genetics, Supplement Series*, 1, 677–679.
- Gusmão, L., Sánchez-Diz, P., Alves, C., Gomes, I., Zarrabeitia, M.T., Abovich, M. ...Amorim, A. (2009). A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR decaplex: data on 15 Iberian and Latin American populations. *International Journal of Legal Medicine*, 123 (3), 227-234.
- Hall, A., Ballantyne, J. (2003). Novel Y-STR typing strategies reveal the genetic profile of the semen donor in extended interval post-coital cervicovaginal samples. *Forensic Science International*, 136, 58-72.
- Lagoa, A., Pinheiro, M.F. (2006). Impressões digitais como evidência para identificação genética. *Polícia e Justiça. Revista do Instituto Superior de Polícia Judiciária e Ciências Criminais*, 7, 253-269.
- Lareu, M.V., Barral, S., Salas A., Pestoni, C., Carracedo, A. (1998). Sequence variation of a hypervariable short tandem repeat at the D1S1656 locus. *International Journal of Legal Medicine*, 111 (5), 244–247.
- Lareu, M.V., Pestoni C., Schurenkamp, M., Rand S., Brinkmann, B., Carracedo, A. (1996). A highly variable STR at the D12S391 locus. *International Journal of Legal Medicine*, 109 (3): 134–138.
- Lowe, A., Murray, C., Richardson, P., Wivell, R., Gill, P., Tully, G., Whitaker, J. (2003). Use of low copy number DNA in forensic inference. *International Congress Series*, 1239, 799-801.
- Pinheiro, M.F., Cainé, L., Pontes, L., Abrantes, D., Lima, G., Pereira, M.J., Rezende, P. (2005). Allele frequencies os sixteen STRs in the population of North of Portugal. *Forensic Science International*, 148, 221–223.
- Pinheiro, M.F. (2008a). Agressões sexuais. In *CSI Criminal* (pp.11-40). Edições Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- Pinheiro, M.F. (2008b). A Perícia em Genética e Biologia Forense – Criminalística Biológica. In *CSI Criminal* (pp.11– 40). Edições Universidade Fernando Pessoa.
- Pinheiro, M.F. (2009). Identificação genética: passado, presente, futuro. *Revista do Ministério Público*, 118, 157–196.
- Pinheiro, M. (2010a). Advances in DNA typing in Sexual Assault Casework. *In Forensic Genetics Research Progress* (pp.117-132). Nova Science Publishers, Inc.
- Pinheiro, M.F. (2010b). Algumas perspetivas da identificação genética. In *Genética Forense. Perspetivas da*

- identificação genética (pp.17-78). Edições Universidade Fernando Pessoa.
- Pinheiro, M.F. (2010c). Estudo de DNA não-humano. In *Genética Forense. Perspetivas da identificação genética* (pp.163-186). Edições Universidade Fernando Pessoa.
- Pinheiro, M.F. (2011). Identificação Genética no Âmbito de Crimes Sexuais. *Revista de Investigação Criminal da ASFIC*, 2, 56-84.
- Pontes, M.L., Cainé, L., Abrantes, D., Lima, G., Pinheiro, M.F. (2007). Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci (AmpFISTR1 Y-filer™) in a Northern Portuguese population sample. *Forensic Science International*, 170, 62–67.
- Pontes M.L., Pinheiro M.F. (2011). Population data of the AmpFISTR® NGM™ STR loci in a North of Portugal sample. *Forensic Science International: Genetics*, em publicação.
- Prieto, L. Alonso, A., Alves, C., Crespillo, M. Montesino, M., Picornelli, A. ...Salas, A. (2008). 2006 GEP-ISFG collaborative exercise on mtDNA: reflections about interpretation, artefacts, and DNA mixtures. *Forensic Science International: Genetics*, 2, 126–133.
- Sanders, C.T., Sanchez, N., Ballantyne, J., Peterson, D.A. (2006). Laser Microdissection Separation of Pure Spermatozoa from Epithelial Cells for Short Tandem Repeat Analysis. *Journal of Forensic Sciences*, 51(4): 748-757.
- Sibille, I., Duverneuil, C., Lorin de la Grandmaison, G., Guerrouache, K., Teissière, F., Durigon, M., Mazancourt, P. (2002). Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. *Forensic Science International*, 125, 212–216.
- Soares-Vieira, J. (2007). Y-STRs in Forensic Medicine: DNA Analysis in Semen Samples of Azoospermic Individuals. *Journal of Forensic Sciences*, 52 (3), 664-670.
- Sweet, D., Lorente, M., Valenzuela, A., Lorente, J.A., Alvarez, J.C. (1997). Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified chelex method. *Forensic Science International*, 83, 167–77.
- Szibor, R. (2007). The X chromosome in forensic science: past, present and future. *Molecular Forensics*, 103-126. Wiley.
- Valverde, L., Palencia, L., Pinheiro, M.F., Cainé, L., Cardoso, S., Alfonso-Sánchez M., Pancorbo M.M. (2009). Segments HVS-I and HVS-II of mitochondrial DNA in a population from Santa Catarina (Brazil): Predominance of European lineages. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2, 338–339.
- Willuweit S., Roewer L. (2007). Y chromosome haplotype reference database (YHRD): Update. *Forensic Science International: Genetics*, 1(2), 83-87.
- Zarrabeitia, M.T., Fátima Pinheiro M., de Pancorbo, M.M., Cainé, L., Cardoso, S., Gusmão, L., Riancho, J.A. (2008). Analysis of 10 X-linked tetranucleotide markers in mixed and isolated populations. *Forensic Science International: Genetics*, 3(2), 63-66.

(Página deixada propositadamente em branco)

Capítulo 3
IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA
DE DESCONHECIDOS

Rosa Maria Espinheira

Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.

CENCIFOR - Centro de Ciências Forenses

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_3](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_3)

RESUMO

A identificação genética de desconhecidos não figura, em termos quantitativos, no topo das perícias realizadas por um serviço de genética forense em Portugal. Se por um lado a identificação genética de um indivíduo desconhecido só tem lugar quando nenhum outro método científico de identificação individual permitiu uma identificação positiva, por outro lado, a mesma, em grande escala, só tem lugar nos casos de desastres de massa com consideráveis números de vítimas, os quais, não tem lugar com registo na história contemporânea de Portugal. Não obstante a reduzida casuística dos casos de identificação genética de desconhecidos em Portugal, não podemos deixar de atribuir realce ao importante papel, quer em termos sociais quer humanitários, desta ferramenta que a genética forense disponibiliza.

Neste capítulo abordamos a identificação genética de desconhecidos fazendo uma retrospectiva histórica de casos com especial impacto ou interesse, passando por aspectos como o âmbito de aplicação da identificação genética, bem como por aspectos mais técnicos como o tipo de amostras estudadas, os procedimentos laboratoriais utilizados e os principais obstáculos ao sucesso da perícia de identificação genética de desconhecidos. O modesto e despretensioso contributo que aqui deixamos não se apresenta como um referencial técnico ou científico sobre esta matéria, mas sim como um documento simultaneamente útil e acessível ao entendimento de operadores tão diversos como juristas ou magistrados, médicos e demais especialistas das áreas médicas e biomédicas, bem como a estudantes e estudiosos de nível pré e pós-graduado desta área em que todos confluem com o objectivo último de, em primeira instância, servir a justiça e, em última instância, servir o bem e a causa pública.

PALAVRAS-CHAVE

Identificação genética; desconhecidos; desastre de massa.

SUMMARY

Genetic identification of unknown missing persons is not on the top of exams performed by a forensic genetics service in Portugal. If on one hand the genetic identification of an unknown individual only takes place when no other scientific individual identification method allowed a positive identification, on the other hand, it only takes place on a large scale in case of mass disasters with considerable number of victims, which has no place in Portuguese contemporary history. Despite the small sample size of genetic identification cases of unknown persons in Portugal, we cannot fail to give prominence to the role, either in social or humanitarian terms, of this tool provided by forensic genetics.

In this chapter we discuss the genetic identification of unknown persons making a historical retrospective of cases with special impact or interest, through aspects such as the scope of genetic identification, as well as more technical aspects such as the type of analyzed samples, the laboratory procedures and the main obstacles to the success of the genetic identification exams of unknown persons.

The modest and unpretentious contribution we leave here is not presented as a technical or scientific reference on this matter, but as an useful and accessible understanding to the operators as diverse as lawyers and judges, doctors and other experts in medical and biomedical areas, as well as students and scholars of pre and post-graduate level of this area where all converge with the ultimate aim of, in the first instance, serve the justice, and ultimately, serve the good and the public cause.

KEYWORDS

Genetic identification; unknown persons; mass disaster

1. NOTA INTRODUTÓRIA

A Assembleia Geral da Organização das Nações Unidas (ONU) proclamou, a 10 de Dezembro de 1948, a Declaração Universal dos Direitos do Homem. Esta declaração prevê, no âmbito dos direitos fundamentais do Homem, o direito, por todos os indivíduos, em todos os lugares, ao reconhecimento da sua personalidade jurídica, o que, de entre múltiplas e diversas implicações significa, também, que todo o Homem tem direito, em todos os lugares, e, em todas as situações, ao reconhecimento da sua identidade, e, portanto à sua identificação individual.

Contrariamente ao que se passa com a maior parte dos indivíduos vivos ou cadáveres humanos frescos, a identificação visual não tem aplicação ou utilidade nos casos de cadáveres em avançados estados de decomposição, maioritariamente cadáveres esqueletizados, em remanescentes humanos, em cadáveres recentes que apresentem mutilações, e em particular mutilações faciais, e, nem mesmo, em indivíduos vivos indocumentados que não tenham, ou afirmem não ter, memória da sua identidade. Nestes casos, de acordo com orientações e consenso internacionais, a identificação individual médico-legal é realizada, sempre que possível, recorrendo à lofoscopia ou à informação médico-dentária. Quando nenhum destes métodos permitiu a identificação individual a genética forense é chamada a intervir.

Sendo, qualquer um dos métodos de identificação individual, métodos de natureza comparativa, a lofoscopia, relativamente à genética forense, tem, em princípio e na maior parte dos casos, a vantagem de ter quase sempre disponíveis dados para comparação em registos oficiais.

É muito reduzido o número de situações em que um indivíduo não tem a sua impressão digital registada em arquivos. Já no que concerne a registos médico-dentários existem em número muito reduzido se comparados com os registos lofoscópicos oficiais.

Já acima referimos que todos os métodos de identificação individual humana são métodos comparativos, e, por este facto e porque é indiscutível que quanto menor e mais específico for o grupo a que pertence o indivíduo ou resto humano a identificar, maior será a probabilidade de alcançarmos uma identificação individual positiva. Assim, o contributo prévio da antropologia forense, na orientação da investigação da identidade, é de valor inestimável.

A antropologia forense tenta estimar o sexo do cadáver, uma idade aproximada, a estatura, a afinidade populacional, o tempo decorrido *post mortem*, quando aplicável, e, ainda, eventualmente, aponta algumas causas e circunstâncias da morte, com vista a restringir o leque de supostos indivíduos. Com este trabalho prévio o sucesso da intervenção da lofoscopia, da medicina dentária ou mesmo da genética forense é, certamente, muito maior e mais provável (Amorim *et al.*, 2011a).

Os métodos de genética forense, sendo mais laboriosos e incomparavelmente mais dispendiosos, implicam, à semelhança de qualquer método de identificação individual, a existência de dados anteriores para comparação. A identificação genética individual implica a existência de uma amostra de referência do suposto indivíduo, previamente colhida e devidamente identificada, ou, alternativamente, implica a existência de ascendentes, descendentes ou outros indivíduos com parentesco

biológico com o suposto indivíduo, sendo, num número considerável de casos, a única forma de alcançar a identificação individual positiva.

A identificação genética de um indivíduo é realizada pela determinação do seu perfil genético individual, o qual é obtido pela determinação da combinação das características genéticas que este indivíduo apresenta num determinado conjunto de marcadores estudados no seu genoma. Actualmente, de acordo com as recomendações do *European DNA Profiling Group* (EDNAP), os marcadores genéticos de eleição para a determinação de um perfil genético individual são *loci* de regiões microsátelite do ADN, habitualmente designados por *Short Tandem Repeats* (STR). O número e os *loci* utilizados para a determinação de um perfil genético individual apresentam alguma variação a nível internacional, sendo definidos localmente pelas autoridades políticas e judiciárias territorialmente competentes.

2. RETROSPECTIVA HISTÓRICA DE CASOS DE IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA DE DESCONHECIDOS, COM ESPECIAL IMPACTO OU INTERESSE

A Genética Forense, no âmbito da identificação de desconhecidos, tem assumido um papel relevante em situações de grande impacto social, humanitário e histórico. As metodologias utilizadas na rotina dos laboratórios forenses para estudo dos genomas nuclear e mitocondrial, tem contribuído para o esclarecimento de acontecimentos históricos, permitindo a identificação de desaparecidos em sequência de conflitos políticos,

guerras, actos terroristas ou desastres de massas, como catástrofes naturais, de entre outros.

Pelo interesse histórico de que se reveste, começamos por fazer referência ao caso da identificação do último imperador da Rússia - Czar Nicolau II (Nikolái Alieksándrovich Románov), da sua esposa - Czarina Alexandra Feodorovna de Hesse (Vitória Alice Helena Luísa Beatriz de Hesse), de três dos seus cinco filhos, do médico e três criados da família imperial, todos assassinados pelos bolcheviques, em Ekaterinburg, em 1918. Quase 80 anos depois, em 1991, foi revelado o achado de ossadas humanas, em escavações, a cerca de 20 km duma das principais cidades dos Montes Urais - Ekaterinburg, onde a família imperial havia sido mantida prisioneira. Mediante perícia forense concluiu-se que os esqueletos, em estado avançado de deterioração, apresentavam sinais de agressões *ante mortem* e alguns deles apresentavam mesmo orifícios no crânio. Estudos de antropologia, designadamente de reconstrução facial e odontologia, indicavam que alguns restos ósseos podiam corresponder à família imperial da Rússia (Gill *et al.*, 1994).

Numa primeira fase, o estudo do gene da amelogenina permitiu confirmar o diagnóstico relativo ao sexo dos cadáveres efectuado por métodos antropológicos. Dos nove indivíduos, quatro eram do sexo masculino e cinco do sexo feminino.

A análise de ADN nuclear permitiu, ainda, a obtenção de resultados em 5 STR autossómicos. Resultados estes, que permitiram concluir que cinco dos cadáveres tinham relações de parentesco biológico entre si, designadamente quatro das mulheres e um homem. A análise de ADN mitocondrial permitiu inferir que as quatro

mulheres poderiam corresponder a uma mãe e três das suas filhas. Esta sequência de ADN mitocondrial obtida foi comparada com a sequência de ADN mitocondrial do sobrinho-neto da Czarina - Príncipe Filipe (consorte da Rainha Isabel II e Duque de Edimburgo), tendo-se confirmado que havia identidade. Estávamos, portanto, perante a Czarina da Rússia e três das suas filhas. O quinto indivíduo, do grupo com relações de parentesco biológico entre si, seria o pai das três filhas, portanto do último Czar da Rússia. Esta constatação foi posteriormente reforçada quando se veio a verificar identidade na heteroplasmia mitocondrial detectada no cadáver do suposto Czar da Rússia e no seu irmão Jorge Alieksándrovich Románov (heteroplasmia 16169).

O estudo de ADN nuclear e mitocondrial dos nove cadáveres encontrados nas escavações acima referidas permitiram confirmar que dois deles eram o Czar e a Czarina da Rússia, e três eram de filhas de ambos. Já no decurso do ano de 2007, foram encontrados restos mortais totalmente esqueletizados, que vieram a ser identificados, pela genética, como sendo os outros dois filhos da família Romanov, numa vala a 70 m do local onde os restos mortais do Czar tinham sido encontrados 30 anos antes (Coble *et al.*, 2011).

Na investigação de casos de violação dos direitos humanos, os especialistas forenses são frequentemente confrontados com a identificação de restos esqueletizados encontrados em valas comuns. O objectivo principal é, não só a identificação mas também, a determinação de eventuais causas e circunstâncias de morte.

Fazemos aqui uma chamada de atenção para o facto de que na maior parte dos casos de vítimas de guerras, as possibilidades de obter informação é

residual, devido ao longo período decorrido entre a morte e a recuperação dos corpos, à ausência de testemunhos e descrições, e devido à qualidade e quantidade de elementos individualizantes preservados, dado que, habitualmente, os corpos encontrados em valas comuns são de grupos relativamente homogéneos, como é o caso de jovens militares, praticamente todos com a mesma idade ou idades aproximadas e todos do sexo masculino.

A título de exemplo de identificação de vítimas de conflitos armados, começaríamos por aludir aos militares mortos durante a II Guerra Mundial (1939 - 1945). Decorridos 60 anos sob o conflito armado, diversos países europeus têm levado a cabo a identificação, pelo estudo de ADN, de restos esqueletizados sepultados em valas comuns. Têm sido utilizados marcadores diferentes, com objectivo comum. Desde STR autossómicos, mini-STR, Y-STR, na Eslovénia (Marjanovic *et al.*, 2007) e Bósnia e Herzegovina (Gojanovic *et al.*, 2007), a ADN mitocondrial na Finlândia (Palo *et al.*, 2007). Uma comissão, nomeada pelo Governo da Eslovénia, sinalizou quase 600 valas comuns, uma das quais, descoberta em 2009, com cerca de 300 vítimas, mortas pelas forças armadas comunistas (Marjanovic *et al.*, 2009).

Também militares americanos, mortos em combate na guerra do Vietname (1959 - 1975), foram identificados, 24 anos pós-guerra, pelo *Armed Forces DNA Identification Laboratory* (AFDIL). Os restos esqueletizados de alguns dos membros dos serviços militares americanos foram identificados através da análise de ADN mitocondrial, por comparação com as respectivas mães (Holland *et al.*, 1993).

Na última década do século XX (1991 - 1999), ocorreram conflitos militares na Bósnia

e Herzegovina, no Kosovo, na Croácia e na ex-Jugoslávia, resultado dos quais, milhares de vítimas foram sepultadas em valas comuns. Só na ex-Jugoslávia, como resultado dos conflitos armados da década de 90 do século passado, cerca de 40 000 pessoas foram dadas como desaparecidas, estimando-se que a maioria corresponde a corpos não identificados que permanecem em valas comuns. Em 2000, foi formalmente estabelecido um programa da *International Commission of Missing Persons* (ICMP) na tentativa de realização da identificação humana através de uma rede que envolve estruturas político-administrativas, centros de contacto de familiares de desaparecidos e laboratórios de estudo de ADN (Huffine *et al.*, 2001). Um número considerável destas vítimas, mais concretamente cerca de 2 944 restos esqueléticos de entre 3 502 corpos exumados, foi identificado entre 1993 e 2005, tendo ocorrido a maior parte das identificações entre 1993 e 1999, através de métodos antropológicos. Posteriormente à identificação por métodos antropológicos, cerca de 1 155 amostras ósseas foram submetidas a análise de ADN (Andelinovic *et al.*, 2005).

No caso específico da Guerra Civil Espanhola (1936 - 1939) e no período pós-guerra (1939 - 1950), estima-se que mais de 150 000 indivíduos foram assassinados e sepultados em valas comuns e cemitérios. Desde 2000, através da iniciativa de associações como a *Asociación para la Recuperación de la Memoria Histórica* (ARMH), foram localizadas diversas valas comuns, exumados os restos cadavéricos e, após identificação genética, sepultados os indivíduos junto dos locais e famílias de proveniência. Em 2004, foram exumados 46 esqueletos de uma vala comum junto a uma pequena cidade na província de Burgos.

A informação relativa à localização da vala, ao número de corpos na mesma, e a lista das possíveis identidades foi obtida a partir de entrevistas realizadas pela ARMH aos familiares e testemunhas, a partir dos registos escritos, em forma de autobiografia, pelos mesmos, bem como a partir da pesquisa ao arquivo penitenciário (como é o caso de 21 homens libertados da prisão e subsequentemente desaparecidos). A pesquisa nos arquivos prisionais, militares e civis, bem como o depoimento das testemunhas permitiu obter dados individuais *ante mortem* das vítimas. A consistência entre os dados obtidos pelos testemunhos, pelos arquivos, pelo estudo arqueológico e osteológico, permitiu iniciar o estudo de ADN, partindo-se da hipótese de se tratar de um grupo fechado. Dos 46 cadáveres, foram identificados 17 pelo estudo de 16 Y-STR e ADN mitocondrial. (Rios *et al.*, 2010)

Por razões históricas referimos, ainda, a identificação de Che Guevara (Ernesto Rafael Guevara de la Serna), e de membros da guerrilha boliviana dos anos 60 do século passado, cujos restos esqueléticos, foram encontrados em duas valas distintas, por uma equipa de peritos forenses de Cuba, da Argentina e na Bolívia, em 1995. Após o estudo efectuado pela antropologia forense, foi necessária a intervenção da genética, com recurso ao estudo de STR e ADN mitocondrial em segmentos de fémures que estiveram inumados, durante cerca de 30 anos, na Bolívia (Lleonart *et al.*, 2000).

Mais recentemente destacaríamos os ataques terroristas contra os Estados Unidos, em 11 de Setembro 2001, que deixaram mais de 3 000 vítimas mortais em três locais diferentes - Pentágono, Somerset County e World Trade Center (WTC) (Budowle *et al.*, 2005).

Amostras de ADN provenientes do Pentágono e Somerset County foram processadas pelo *Armed Forces DNA Identification Laboratory* (AFDIL), enquanto que o trabalho relacionado com as vítimas do WTC foi realizado pelo *Forensic Biology Department* do *Office Chief Medical Examiner* (OCME), pela Polícia do Estado de Nova York, e por uma série de laboratórios contratados e consultores. Após o colapso e esmagamento das torres do WTC, foram recolhidos cerca de 20 000 restos humanos, a partir dos escombros, cujo entulho atingia 21 m de altura e pesava mais de um milhão de toneladas. A remoção inicial e classificação de restos humanos ocorreram entre Setembro de 2001 e Maio de 2002. Os estudos de ADN foram efectuados em diversos laboratórios que analisaram cerca de 20 000 fragmentos de tecidos humanos, relativos a 2 749 pessoas desaparecidas, além dos 5 000 objectos de uso pessoal e cerca de 6 000 familiares. Os restos recuperados no local do WTC estavam muito fragmentados, por terem sido submetidos, a pressões extremas com o colapso do edifício, ao combustível derramado dos aviões, a incêndios subterrâneos (com mais de 815 °C), durante os 3 meses seguintes ao ataque terrorista. Neste caso específico, para a identificação das vítimas, a intervenção da Genética foi preponderante e imprescindível, dado o grau de fragmentação dos restos, colapso e agregação de remanescentes cadavéricos de vítimas.

Um dos maiores desafios desta investigação foi a revisão da quantidade abissal de dados produzidos pelos laboratórios colaboradores e contratados. No esforço inicial entre 2001 e 2005, foram obtidos mais de 52 528 perfis de STR e 31 155 sequências de ADNmt, com base nos 21

802 remanescentes recuperados, na tentativa de identificar as 2 749 vítimas. No entanto, em 5 335 das amostras biológicas recuperadas, obtiveram-se apenas perfis incompletos de STR (1 a 6 *loci* dos 13 pretendidos), na primeira fase, tornando ainda mais difícil organizá-los e juntar informações suficientes para uma identificação fiável. Na segunda fase foi possível obter 154 perfis completos e 388 perfis parciais mas com presença de alelos na maioria dos *loci*, após nova extracção com o métodos modificados. Até Junho de 2010, foi conseguida a identificação de 1626 vítimas, das 2 749 presentes quando as Torres desmoronaram.

Como o estudo de ADN é o único método que permite reagrupar restos humanos, do total de 21 802 remanescentes recolhidos, foram identificados 12 769 fragmentos humanos, e respectivamente correlacionados com uma das 1 626 vítimas identificadas (Butler, 2011).

Várias inovações foram desenvolvidas nesta área, após o atentado ao WTC. Foi desenvolvido o novo sistema bioinformático *Mass Fatality Identification System* (M-FYSis) que permite, em grande escala, comparações de perfis das amostras de referência e restos recuperados bem como associar os fragmentos com o mesmo perfil de ADN. Possibilita uma série de funcionalidades e interoperabilidade, integrando diferentes sistemas de software (Budowle et al., 2005; Butler, 2011).

O acto de terrorismo a 11 de Março de 2004, em Madrid provocou um acidente ferroviário com dezenas de feridos e vítimas mortais. No processo de identificação de cadáveres, foi utilizada a Base de dados do Sistema CODIS para comparar os restos de 220 corpos com 98 amostras de referência, incluindo 67 amostras de familiares, representando 40 grupos familiares, e

27 amostras de referência directas *antemortem*. (Alonso, 2005)

Já em Dezembro de 2004, o Tsunami do Oceano Índico, ocorrido no Sul da Ásia Oriental, foi uma catástrofe natural que afectou 12 países, dos quais a Tailândia, a Índia, a Indonésia e o Sri Lanka, e do qual resultou a morte de mais de 200 000 pessoas, com vítimas oriundas de 30 países. Neste desastre, os cadáveres recuperados, apesar de não apresentarem fragmentação, encontravam-se em avançado estado de decomposição, devido às condições de clima tropical a que ficaram expostos. O desaparecimento de familiares ou famílias inteiras, limitou a possibilidade de comparação com amostra de referência de familiar ou directa, visto os objectos pessoais também ficarem destruídos. Investigadores forenses de 31 países diferentes chegaram à Tailândia para ajudar na identificação das vítimas da catástrofe (Westen *et al.*, 2008)). Uma primeira abordagem à identificação das vítimas do Tsunami com recurso ao ADN teve lugar no *Leipzig Institute of Legal Medicine*, tendo, posteriormente, os estudos prosseguido no *Forensic Alliance*, em Inglaterra, no *Institute for Forensic Genetics*, na Suécia, no *Beijing Genomics Institute*, na China e no ICMP, na Bosnia e Herzegovina (Lessing & Rothschild, 2011). Em Maio de 2005 teriam sido identificadas mais de 1 400 vítimas e repatriadas para mais de 34 países (Butler, 2011).

Muito recentemente, procedeu-se à recolha de centenas de remanescentes humanos das valas comuns encontradas no Kuwait e Iraque, resultado da Guerra do Iraque. Nos primeiros cinco anos, pela análise de ADN, foram identificados 233 cadáveres (Butler, 2011).

3. ÂMBITO DE APLICAÇÃO DA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA DE DESCONHECIDOS

Genericamente, em termos quantitativos, podem ser-nos presentes, para identificação genética, indivíduos isolados, vivos ou em estado de cadáver, ou remanescentes humanos, com origem num único indivíduo, ou em múltiplos indivíduos, sendo estes vítimas de mortes naturais; como doença ou outros factores intrínsecos ao indivíduo; ou mortes violentas, onde podemos distinguir suicídio, homicídio ou acidente. Destacaríamos, aqui, as vítimas de acidentes rodoviários, naufrágios, incêndios, explosões, derrocadas, de entre outros.

Introduziríamos agora o conceito de desastre de massas, que, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) só tem lugar quando ocorre um fenómeno de magnitude suficiente para implicar a assistência externa. Podemos estar perante desastres de massas nos casos de acidentes de aviação, de catástrofes naturais, conflitos bélicos ou políticos, atos terroristas, nos quais o número de vítimas para identificação genética pode ser muito elevado.

Em quaisquer dos casos acima referidos, podem ser presentes para identificação genética, indivíduos vivos indocumentados, cadáveres frescos mutilados, cadáveres em diferentes estados de decomposição, maioritariamente esqueletizados, ou remanescentes cadavéricos.

Podem, ainda, ser-nos presentes, para identificação genética, remanescentes de interrupções de gravidez, remanescentes fetais, fetos, recém-nascidos e amostras dúbias, a maior parte das quais são amostras clínicas

como sangue ou biopsias dos mais diversos tipos de tecidos humanos, para confirmação de a quem pertencem as referidas amostras clínicas. Em relação às amostras dúbias, estas podem surgir em sequência do diagnóstico de uma patologia mas também de um exame toxicológico, designadamente exame de determinação de alcoolémia ou determinação de drogas de abuso no âmbito de controlos anti-dopping em atletas. Em qualquer destes casos, sempre que um indivíduo a quem foi associado determinado diagnóstico ou a quem é imputado o consumo de determinada substância entende haver dúvidas quanto ao facto de a amostra ser a que lhe foi colhida, pode, desta dúvida, resultar um processo de identificação do indivíduo a quem, de facto, a amostra pertence.

Relativamente à identificação de restos fetais ou embrionários, a lei portuguesa prevê que deve ocorrer após interrupção da gravidez ordenada, em sequência de uma violação (artigo 42.º do Código Penal Português), por comparação com amostra relativa ao agressor/presumível progenitor.

Já nos casos em que há suspeita de um nado vivo ou morto ter sido abandonado pela mãe, o material biológico é estudado, quase sempre, para esclarecimento da maternidade biológica.

Aproveitaria aqui para deixar a ressalva de que quer os restos fetais ou embrionários, quer tecidos placentários provenientes de nados vivos ou mortos contêm, regra geral, quantidades muito apreciáveis de ADN, pelo que devem ser rapidamente congelados, sem quaisquer conservantes, como álcool ou formol, para evitar a sua eventual degradação.

4. OS DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS PROBLEMA ESTUDADAS

A selecção das amostras, do ou dos cadáveres e do ou dos restos humanos, depende do estado de preservação e fragmentação do cadáver.

A preservação é determinada, muito especialmente, pela actuação de factores ambientais, durante o tempo que decorre desde a morte até à colheita.

Os cadáveres sofrem processos autolíticos, por actuação enzimática, e processos de putrefacção, por fermentação da matéria orgânica, pela acção de microrganismos, por acção de determinadas espécies de insectos e por acção de outros animais.

Em relação ao material genético, degrada-se mais rapidamente, nos tecidos moles do que nos tecidos ósseos, devido à estrutura histológica destes, que proporciona maior isolamento às células ósseas.

Nos dentes, a presença do tecido conectivo que oferece protecção física à polpa dentária – esmalte, e que é o tecido mais resistente de qualquer organismo, confere especial protecção à degradação e contaminação do ADN.

Para além da estrutura histológica, a densidade tecidular também é um factor importante que influencia a preservação do osso. Desta forma, o ADN é geralmente menos degradado nas porções mais densas do esqueleto que em qualquer outro tecido (Mundorff *et al.*, 2009).

Apesar da região esponjosa do osso ser a mais rica em ADN, é da região mais compacta que, habitualmente, é escolhida uma amostra dos ossos longos dos membros inferiores, para estudo pela genética forense.

O estudo realizado a 25 361 amostras de ossos e dentes, recuperados de vítimas sepultadas entre 4 a 11 anos, em valas comuns, na ex-Jugoslávia, indicou que o ADN é melhor preservado no fémur e dentes, seguido por tíbias, fíbulas, úmeros, crânios e rádios (Milós *et al.*, 2007).

Em restos humanos fragmentados, onde, contudo, ainda subsistem tecidos moles, dependendo do estado de putrefacção, os tecidos de órgãos (bexiga, artéria aorta) ou o músculo esquelético profundo, são amostras de eleição para extração de ADN (Schwarkt *et al.*, 2011).

Quando o cadáver está esqueletizado ou em avançado estado de decomposição, as amostras úteis são ossos longos, dentes não tratados (por ordem preferencial, molares, pré-molares, caninos e incisivos) ou unhas.

As unhas são formadas por células que contêm queratina, devendo-se o seu crescimento à divisão celular na base e parte interna da unha. Estas células migram para o exterior enquanto sofrem um processo de reabsorção do núcleo e dos organelos celulares.

Num cadáver putrefacto desconhecido, deve-se retirar ou desinserir unhas inteiras, obtendo-se na prática bons resultados na análise de ADN. As unhas têm permitido a identificação cadavérica de forma rápida, com recurso a métodos de extracção menos complexos e morosos, comparativamente ao tratamento a ter com as amostras ósseas.

Este tipo de amostra é muito utilizado no caso de exumações, sendo retirado preferencialmente as unhas dos pés ao cadáver, por estarem mais protegidas pelo calçado, portanto, com menor possibilidade de degradação/contaminação.

Nos cadáveres queimados, qualquer das amostras descritas pode ser válida, dependendo do estado de carbonização. Na maioria destes casos, tem sido possível obter quantidade apreciável de ADN, a partir de fragmento de tecido, de zonas profundas, da área melhor conservada (como musculo cardíaco, sangue sólido de interior de cavidades cardíacas, fígado, bexiga).

Nos remanescentes de cadáveres, encontrados submersos, a possibilidade de se conseguir bons resultados é remota, uma vez que o estado de degradação é muito maior.

Num cadáver não decomposto, o sangue é o tipo de amostra colhida.

5. AS AMOSTRAS DE REFERÊNCIA A UTILIZAR NA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA

Não é possível efectuar qualquer identificação, através da análise de ADN, se não se dispuser de amostras de referência. Estas podem ser de familiares ou amostras do próprio indivíduo, como objectos pessoais (escova de dentes, lâminas de barbear) ou amostras biológicas colhidas *ante mortem* existentes em arquivo, como tecidos de biopsias, bancos de esperma ou manchas de sangue em cartões. Outra hipótese é a existência de perfil numa base de dados civil ou criminal, no país da vítima (Corte-Real, 2004). Em Portugal, foi oficialmente instituída, em 2008, uma base nacional designada Base de Dados de Perfis de ADN, cuja direcção cabe ao Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses (INMLCF).

A utilização de objectos de uso pessoal pode ser problemática, pelo facto da quantidade de

ADN ser mínima, bem como pela possibilidade de conter ADN não apenas da vítima, obtendo-se perfis de mistura, dado não haver garantia do objecto ter sido só usado pela vítima. O inconveniente desta estratégia, é comprometer a identificação, conduzindo a falsas exclusões, devido à contaminação exógena de células de outros contribuidores. Sendo questionável a autenticidade dos objectos, é sempre recomendável, caso seja possível, a colheita de outras amostras (de membros da família) para análise e comparação (Pinheiro, 2009).

A possibilidade de usar amostras de referência do próprio indivíduo, colhidas *ante mortem* (como os cartões de sangue de recém nascidos relativos a programas de rastreio de doenças genéticas) com cadeia de custódia documentada, ultrapassa os inconvenientes dos objectos pessoais. Em diversos países, a existência de um arquivo de cartões de manchas de sangue dos militares mobilizados para conflitos armados é recomendado para facilitar a identificação em caso de eventual acidente (Alonso *et al.*, 2005).

As amostras de referência de familiares dependem do tipo de estudo de ADN a realizar. O estudo de STR autossómicos (13 a 17), marcadores com elevado poder discriminatório, permite a identificação precisa, mediante comparação com amostras de familiares directos da vítima: (a) progenitores da vítima, (b) filhos biológicos e cônjuge da vítima (c) vários irmãos com os mesmos pai e mãe.

Se não dispomos destas amostras de familiares directos ou não é possível estudar os marcadores de ADN autossómico, os marcadores monoparentais podem ser úteis. Com a análise dos marcadores do cromossoma Y, cuja herança é

exclusivamente do pai para filhos do sexo masculino, as amostras de referência para comparação são amostras de todos os familiares relacionados por via paterna. O ADN mitocondrial, de herança exclusivamente materna, permite a comparação com parentes relacionados por via materna.

6. ESTUDO LABORATORIAL E VALORIZAÇÃO ESTATÍSTICA DE RESULTADOS

6.1. EXTRACÇÃO DE ADN E TRATAMENTOS PRÉVIOS

Quanto à extracção de ADN de amostras de referência, designadamente manchas de sangue em suporte de papel e células da mucosa oral em zaragatoa, em que, *a priori* sabemos ter ADN em quantidade e qualidade, o método de extracção mais utilizado internacionalmente é o método de Chelex (Walsh *et al.*, 1995). Genericamente é um método de extracção que recorre ao factor temperatura para alcançar a extracção de ADN e utiliza um elemento inerte, o Chelex, para retenção e isolamento de restos celulares numa solução em que se pretende que só o próprio ADN se mantenha como soluto.

Neste momento será importante realçar que a extracção das amostras de referência, para evitar a contaminação no percurso laboratorial, deve-se realizar de forma separada, em tempo e espaço, da extracção das amostras problema.

No processo de análise de ADN, a extracção é um passo crucial, com especial destaque para a extracção de ADN de amostras problema. A recuperação máxima de ADN, em termos de

qualidade, quantidade e pureza, depende, em grande parte, dos métodos de extracção. Para os restos cadavéricos e objectos pessoais, que possam ser amostras com ADN em pequenas quantidades e muito degradado, é essencial uma escolha especialmente criteriosa do método de extracção, e a sua optimização, dado que a selecção do método de extracção depende sempre, também, do tipo de amostra e do seu estado de conservação.

Um problema, não raramente associado a determinadas amostras, é o facto de, apesar de conterem ADN em quantidade suficiente, terem presentes, também, determinados componentes, que inibem a amplificação de ADN. Nestes casos, os métodos de extracção a utilizar devem minimizar a perda do ADN e remover inibidores.

Em relação ao caso específico de extracção de ADN a partir de amostras ósseas e dentes, esta requer, ainda, equipamentos, reagentes e procedimentos específicos. Os tratamentos prévios à extracção incluem a cuidadosa lavagem dos ossos para remoção de terra e de outros materiais aderentes, como restos de tecidos moles putrefactos. Quanto mais limpo estiver o osso, melhores resultados obteremos uma vez que a eliminação de eventuais contaminantes presentes na superfície do osso, foi mais eficaz. Há diversos métodos de limpeza da superfície do osso, desde utilização de lixa, bisturis, serra eléctrica, irradiação da superfície com raios UV e/ou a aplicação de soluções químicas com detergentes, etanol, lixívia, de entre outros.

A imersão do osso, numa solução de hipoclorito de sódio a 2%, durante 10 minutos, destrói a contaminação superficial, resultando na degradação do ADN indesejável presente na

superfície do osso (ADN exógeno, provavelmente das pessoas que o manipularam e ADN microbiano) (Pinheiro, 2009; Westen *et al.*, 2008).

A limpeza ou remoção da superfície do osso, até que este fique limpo, a sua posterior redução a fragmentos com cerca de 1cm², através do uso de serra eléctrica, e, finalmente, a pulverização dos ossos (redução do osso a pó), a baixas temperaturas, com recurso a azoto líquido, são procedimentos obrigatórios, antes da extracção de ADN. O material ósseo reduzido a pó deve ser retido em recipientes próprios para o efeito (habitualmente ampolas), também, para impedir contaminações.

Os métodos de extracção de ADN mais frequentemente utilizados são métodos baseados na utilização de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico, enzimas e sílica. Basicamente, as enzimas, bem como uma grande parte de soluções/tampões a que estes métodos recorrem, têm por função a lise de membranas celulares e outras estruturas de natureza proteica, para libertação do ADN. A sílica é um material inerte cuja função é a retenção e isolamento do ADN dos restantes componentes celulares em solução.

Na extracção de ADN das amostras ósseas das vítimas do conflito armado dos Balcãs (1992 - 1995), com vista à identificação genética, foram documentados melhores resultados na extracção com recurso a sílica comparativamente à extracção com fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (Davoren *et al.*, 2007). A extracção com métodos baseados em sílica permitiu, também, a identificação de remanescentes ósseos de 15 vítimas da II Guerra Mundial, encontradas em vala comum, na Eslovénia, em 2007 (Marjanovic *et al.*, 2007) e de outras 6 vítimas em 2009 (Marjanovic

et al., 2009). Nas perícias da rotina do INMLCF, utilizamos, muito frequentemente, os métodos baseados em princípios enzimáticos e sílica, com resultados muito satisfatórios.

Após a extracção do ADN das amostras ósseas ou outras amostras problema, a quantidade de ADN recuperado deve ser determinada, sempre que possível. Conhecer a quantidade de ADN para a reacção de PCR, pode favorecer a obtenção de melhores resultados analíticos, ou, por outro lado, pode dar-nos informação de que não foi possível obter ADN, pelo que, não terá utilidade prosseguir com métodos de análise de ADN.

6.2. MARCADORES DE ADN ESTUDADOS POR PCR E PERFIS GENÉTICOS

ADN nuclear (STR), ADN mitocondrial (ADNmit), mini-STR e SNPs

Após extracção de ADN das amostras a estudar, as mesmas são amplificadas, pela técnica de PCR, com iniciadores específicos para determinados marcadores.

Genericamente, quanto à sua localização, distinguem-se dois tipos de ADN: o ADN nuclear e o ADN extra-nuclear. O extra-nuclear é o ADN mitocondrial.

Relativamente ao ADN nuclear, quanto ao número de cópias das suas sequências ou fragmentos, ele pode agrupar-se em diferentes categorias. Assim temos sequências de ADN de cópia única e sequências de ADN com multi-cópias. Quanto às sequências de ADN com multi-cópias temos sequências com cerca de 300 pares de bases que se repetem entre 100 a 100 000 vezes ao longo do genoma (ADN moderadamente

repetitivo) e temos sequências de ADN altamente repetitivas, também conhecidas por ADN satélite, que se repetem mais de 100 000 vezes ao longo do genoma. Estas últimas são sequências pequenas, de 1 a 50 pares de bases e são sequências de ADN não codificante. É deste grupo que fazem parte os microssatélites ou *Short Tandem Repeats* (STR), que são, actualmente, os marcadores de eleição, utilizados a nível internacional, no âmbito da identificação genética, muito especialmente devido ao seu elevado poder discriminatório inter-indivíduos e, portanto, elevado poder de individualização.

O Conselho da União Europeia, por Resolução de 25 de Junho de 2001, estabeleceu um conjunto de 7 *loci*, designado por *European Standard Set* (ESS), como conjunto de *loci* adequado à definição de um perfil genético individual, constituído pelos STR autossómicos D3S1358, FIBRA, D8S1179, TH01, vWA, D18S51, D21S11.

No âmbito da investigação criminal, a Interpol, utiliza os 7 *loci* do ESS e, opcionalmente, o gene homólogo da amelogenina.

O Reino Unido utiliza os 7 *loci* do ESS e mais 4 *loci*, portanto, utiliza um conjunto de 11 *loci* - D2S1338, D3S1358, FIBRA, D8S1179, TH01, vWA, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11 e o gene homólogo da amelogenina.

A Alemanha utiliza os 7 *loci* do ESS e mais 2 *loci*, portanto, um conjunto de 9 *loci* - D3S1358, FIBRA, D8S1179, TH01, vWA, D18S51, D21S11, SE33 e o gene homólogo da amelogenina.

Os Estados Unidos da América utilizam os 7 *loci* do ESS e mais 6 *loci*, portanto, utilizam um conjunto de 13 *loci* STR autossómicos para definição de um perfil genético individual, designado por painel de STR do *Combined DNA Index*

System (CODIS), composto pelos *loci* autossómicos TPOX, D3S1358, FIBRA, D5S818, CSF1PO, D7S820, D8S1179, TH01, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11. Além destes 13 *loci* autossómicos o sistema CODIS inclui sempre informação do gene homólogo da amelogenina (Butler, 2005).

No INMLCF são utilizados os 13 *loci* STR do sistema CODIS e mais 4 *loci* autossómicos - D2S1338, D19S433, Penta D e Penta E (Amorim *et al.*, 2011b), e, em casos especialmente complexos, designadamente casos em que só se verifica incompatibilidade em dois *loci*, estudam-se, ainda, como *loci* adicionais, os *loci* STR autossómicos SE33, ES, LPL, F13B, FESFPS, F13A01, D10S1248, D22S1045, D2S441, D1S1656 e D12S391, e, caso seja aplicável, estudam-se também 16 *loci* STR do cromossoma Y, onde, além dos 8 marcadores que definem o designado haplótipo mínimo - DYS19, DYS385, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, se incluem mais 8 *loci* - DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 e GATAH4. Em casos muito específicos estudam-se, ainda, a região hipervariável I (HVI) e a região hipervariável II (HVII) do ADN mitocondrial (ADNmt).

Recentemente, em finais de 2009, o Conselho da União Europeia, por Resolução de 30 de Novembro, redefiniu o conjunto dos *loci* que integram o ESS. Os *loci* que integram o actual ESS são os STR autossómicos D3S1358, FIBRA, D8S1179, TH01, vWA, D18S51, D21S11, D1S1656, D2S441, D10S1248, D12S391 e D22S1045. Contudo, como ainda não existem frequências alélicas calculadas e publicadas para os novos STR, continuam a ser utilizados, no INMLCF, os STR atrás mencionados.

Quando não é possível obter um perfil de ADN nestes marcadores nucleares, procede-se à análise de ADN mitocondrial. Uma das principais

vantagens do ADNmt, em relação ao ADN nuclear (2 cópias por célula), consiste no facto de possuir cerca de 500-2000 cópias por célula, o que aumenta as probabilidades de existirem algumas cópias mesmo em amostras forenses muito degradadas e/ou antigas. O comprimento do ADNmt (100000 vezes inferior ao ADN nuclear) e a sua forma circular também lhe conferem uma menor probabilidade de degradação em relação ao ADN nuclear.

Outras vantagens do ADNmt, consiste no facto de este ser herdado por via materna, ou seja, todos os indivíduos pertencentes à mesma linhagem materna, possuem o mesmo ADNmt (excepto na presença de mutações). Assim, mesmo que só existam familiares por via materna, estes podem fornecer amostras referência com vista à identificação. A análise pelo ADNmt é de grande utilidade, quando várias gerações separam as vítimas dos seus descendentes vivos, como os casos de desaparecidos durante décadas, decorrentes de conflitos políticos ou de guerras (Afonso-Costa *et al.*, 2010).

No entanto, os marcadores haplotípicos (ADNmt e cromossoma Y) apresentam baixo poder de discriminação, em comparação com o poder de discriminação que proporcionam os marcadores autossómicos, o que leva a um menor grau de certeza na identificação final. Neste sentido e para reforçar a identificação deve-se empregar/utilizar a análise de ADNmt e de cromossoma Y (quando se trate de vítimas do sexo masculino) de forma conjunta, estabelecendo-se para eles os irmãos do sexo masculino como familiares de eleição a integrar no estudo (Crespillo, 2011).

As amostras com ADN muito degradado ou em quantidades ínfimas poderiam ser sujeitas a

análise de regiões/segmentos com dimensões inferiores a 150 pares de bases - os miniSTR. Estes marcadores genéticos foram desenvolvidos através da modificação dos *primers* para amplificação dos STR, que passam a delimitar regiões interiores e, portanto, menores às regiões definidas para os STR.

Quando no genoma ocorre uma mutação pontual, originando uma variação num único par de bases, estamos perante aquilo que definimos como polimorfismo num único nucleótido ou *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Num único indivíduo acontecem milhões de SNP, consolidando a ideia de que poderão vir a ser considerados, pela comunidade forense, como marcadores genéticos. A sua eventual vantagem em relação aos STR é o tamanho dos produtos de PCR, que apresentam menos de 100 pares de bases, quando comparados com os 300 a 400 pares de bases dos STR, possibilitando assim, o seu uso em material com ADN degradado. No entanto são mais laboriosos e muito menos discriminatórios, visto ser necessário 45 a 50 *loci* SNP, para um resultado discriminatório comparável a 13 a 15 *loci* STR (Ziętkiewicz, 2011).

6.3. VALORIZAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Após a obtenção dos perfis genéticos, a valorização estatística dos resultados pode ter, de acordo com o caso em concreto, e muito genericamente, duas abordagens.

Se é possível comparar o perfil obtido a partir do cadáver ou dos restos humanos com o perfil da suposta vítima (caso em que existia amostra de referência ante morte) temos como resultados possíveis a identidade ou a não identidade entre

os perfis. No caso de haver identidade entre os perfis é calculada a razão de verosimilhança ou *Likelihood Ratio* (LR), conforme descrito num outro capítulo inserto nesta obra, e que traduz a probabilidade do perfil da vítima corresponder, de facto, ao perfil da suposta vítima.

Se não é possível comparar o perfil obtido a partir do cadáver com o perfil do suposto indivíduo, mas, alternativamente, é possível comparar com os perfis de supostos familiares, os cálculos a realizar têm em vista a determinação dos parâmetros Probabilidade de Parentesco e Índice de Parentesco, entre a vítima e os supostos familiares (Ge *et al.*, 2011). Estes cálculos e parâmetros estatísticos estão, também, explanados em capítulo dedicado à investigação de parentesco biológico, também, inserto nesta obra.

7. OS PRINCIPAIS PROBLEMAS RELACIONADOS COM AS AMOSTRAS EM ESTUDO

7.1. DEGRADAÇÃO

A degradação do ADN pode dividir a molécula em fragmentos mais pequenos, impedindo a obtenção de resultados, ou a obtenção de perfis genéticos incompletos ou mesmo levar a que ocorra o desaparecimento de um dos alelos, com atribuição incorrecta de homozigotia em alguns sistemas.

A degradação do ADN começa imediatamente após a morte de um organismo, e irá continuar, a velocidades diferentes, dependente do meio ambiente envolvente.

A degradação *post mortem* ocorre, via a acção das nucleases endógenas, enzimas celulares

que catalizam a hidrólise das ligações fosfodiéster na molécula de ADN.

No ADN antigo verificou-se que os fragmentos obtidos estão entre 100 bp a 200 bp de tamanho, sugerindo que a clivagem enzimática ocorre em regiões de ligação vulneráveis, situadas entre nucleossomas da estrutura terciária do ADN.

Para a preservação de algum ADN, é necessário que a acção destas enzimas biológicas seja diminuída ou inactivada, antes que ocorra a degradação completa.

A preservação do ADN em restos está dependente de uma interacção complexa de condições ambientais, incluindo a exposição a temperatura, humidade, radiação UV, fogo, microorganismos, flora, fauna e propriedades geoquímicas do solo.

Processos de oxidação e hidrolíticos provocam lesões na estrutura da molécula, respectivamente, modificação das bases nitrogenadas e modificação no açúcar “desoxiribose”. As alterações químicas das bases nucleotídicas conduzem ao não reconhecimento pela *Taq polimerase* na reacção de PCR. A perda de informação genética disponível impede a amplificação do ADN e consequentemente a não obtenção de resultados.

A presença de bactérias e fungos contribuem para a degradação do ADN, não só por digestão, mas também aumenta o risco de contaminação da amostra por ADN exógeno.

Em relação à composição dos solos, constatou-se que os ácidos húmicos e fúlvico são inibidores da amplificação do ADN. A presença destes ácidos, no ambiente em que os restos esqueletizados estão enterrados, tem correlação directa com a humidade da área. A humidade, temperatura e solo promovem degradação do ADN de forma célere, permitindo que as substâncias orgânicas

dos sedimentos penetrem nos tecidos ósseos (Graham, 2007).

Circunstâncias favoráveis como baixa temperatura, dissecação, pH alcalino ou neutro, concentração elevada de sais e ausência de microrganismos destrutivos e contaminantes são as melhores condições para a preservação do ADN. Climas frios e secos tendem a preservar macromoléculas por longos períodos de tempo, devido a taxas de reacção mais lentas (supostamente, por inactivação das nucleases endógenas e exógenas).

Os dados revelam que não há correlação directa entre preservação do ADN e o tempo decorrido. Condições favoráveis podem evitar o dano físico e químico, permitindo a detecção de ADN nuclear e mitocondrial, após longo período de tempo.

Exemplos são a obtenção de ADN em múmias siberianas, chinesas, bem como no “Homem do Gelo” encontrado nos Alpes austríacos por alpinistas a 3 200 m, em Setembro de 1991, identificado como pré-histórico, pelo *Innsbruck Forensic Medicine Institut*. A mumificação é um fenómeno de preservação excepcional, ao contrário dos corpos embalsamados, cujos conservantes, como o formol, degradam a molécula.

Os cadáveres expostos a climas tropicais, sofrem degradação rápida em curto período de tempo, como as ossadas de portugueses trasladadas de países lusófonos, como Angola, Moçambique, Guiné, Cabo Verde e São Tomé.

7.2. CONTAMINAÇÃO

Começamos por distinguir vários tipos de contaminação, designadamente contaminação química, que pode traduzir-se em resultados

inconclusivos ou ausência de resultados, contaminação provocada por microrganismos (bactérias e fungos), caso em que quantidades apreciáveis de ADN microbiano interferem na quantificação do ADN conduzindo a resultados falso negativos e, finalmente mas não menos importante, a contaminação por ADN humano exógeno, sendo este o tipo de contaminação mais importante, e que pode ocorrer durante ou depois da colheita das amostras.

As contaminações podem ocorrer em todas as etapas do processo, desde a amostragem no local onde a vítima ou amostras são encontradas, até ao procedimento de laboratório. A contaminação pode, ainda, ocorrer no próprio corpo, durante a recolha das evidências, durante o transporte do corpo para os serviços médico-legais, na sala de autópsia e, naturalmente, durante os procedimentos de laboratório.

No local, as contaminações podem ocorrer se outros indivíduos chegam e começam a manipular as evidências sobre o corpo antes da chegada da equipa forense de investigação (Vieira, 2011).

As contaminações representam uma das maiores limitações na análise de ADN, quer na obtenção de perfis válidos quer na interpretação precisa dos resultados. Diversas estratégias têm sido desenvolvidas para ultrapassar as dificuldades que ocorrem no processo. Uma das exigências a ter sempre presente pelo perito, entre outras, é o uso de luvas descartáveis. É igualmente importante a utilização dos meios adequados na colheita, acondicionamento e transporte das amostras da vítima e, numa fase posterior, na totalidade do percurso laboratorial. Relativamente a este assunto há normas perfeitamente determinadas que devem ser tomadas em consideração com

redobrado rigor, muito particularmente nos casos em que se está a lidar com amostras complexas, designadamente ADN antigo - amostras com material genético escasso e/ou degradado, ou amostras com inibidores.

Em relação aos casos de identificação de elevado número de vítimas, designadamente resultante de desastres de massa, em que as condições de trabalho estão muito longe das ideais, a colheita de um grande número de amostras de vários indivíduos aumenta o risco de contaminação exógena pelos examinadores e, em particular, de contaminação cruzada com o ADN de outras vítimas. Visto que o Guia da Interpol de Identificação das vítimas não tem *guidelines* específicas na colheita de amostras para estudo de ADN, uma das equipas da *Thai Tsunami Victim Identification* (TTVI) criou *guidelines* para a colheita de amostras de ossos e dentes com fins de análise de ADN, descrevendo um procedimento operacional com base na experiência adquirida durante o rescaldo do Tsunami. Este *Standard Operating Procedure* (SOP) foi projectado, essencialmente, para minimizar a contaminação cruzada durante a colheita das amostras (Westen *et al.*, 2008).

Como outros exemplos de cuidados para evitar contaminações podemos ainda referir a estandardização das metodologias de colheita de amostras, a obtenção de perfis de todas as pessoas envolvidas no estudo para o fácil reconhecimento da contaminação proveniente destes profissionais, o uso de ferramentas para evitar contaminações como capuz, rede de cabelo e máscaras na boca, para todos os investigadores responsáveis pela etapa de amostragem, a descontaminação cuidadosa de todos os dispositivos em contacto físico com a amostra, a utilização de

material descartável livre de ADN, limpeza e irradiação por UV de todos os aparelhos, recipientes, pipetas, suportes, placas, batas de laboratório e áreas de trabalho. É ainda importante que as diferentes etapas do processo de análise tenham lugar em diferentes salas dentro do laboratório, desde o exame macroscópico da amostra ao procedimento de extracção, a reacção de amplificação de ADN e, finalmente, a interpretação dos perfis. Todos os equipamentos gerais e aparelhos, pipetas, bem como os reagentes deverão ser exclusivos de cada sala específica (salas de extração, pré-PCR e pós-PCR) (Vieira, 2011).

8. CONCLUSÃO

A identificação humana é de suma importância no âmbito médico-legal, constituindo uma prioridade, tanto por imperativos legais como por razões humanitárias, sendo que, no âmbito da mesma, a identificação genética desempenha um papel importante na identificação de cadáveres esqueletizados, restos humanos, cadáveres recentes, que apresentem mutilações, em particular mutilações faciais, e em indivíduos vivos indocumentados que não tenham, ou afirmem não ter, memória da sua identidade, bem como em restos fetais ou recém-nascidos, amostras dúbias e, muito especialmente, amostras biológicas de vítimas de desastres de massa.

Atenta a importância e relevância da identificação genética de desconhecidos, em 2007, a *DNA Commission* da ISFG publicou um documento com recomendações para a área da genética forense no âmbito das equipas *Disaster victim identification* (DVI). Logo a primeira recomendação

salienta a inclusão dos laboratórios forenses na planificação da actuação das equipas multidisciplinares DVI, por forma a assegurar a participação dos mesmos na tomada de decisões sobre a colheita de amostras, extensão e objectivos finais, com vista à maior eficácia da eventual identificação genética.

Há circunstâncias específicas e diferentes factores inter-relacionados, envolvidos em cada cenário de desastre de massa, que podem determinar o objectivo da identificação recorrendo à análise de ADN, tais como o número das vítimas, os mecanismos de destruição dos corpos, grau de fragmentação, grau de degradação do ADN, acessibilidade ao corpo para a colheita de amostra ou o tipo e disponibilidade de amostras de referência.

Já em relação à extensão da actuação, visa definir se a análise de ADN é para identificar cada vítima ou apenas um subconjunto das vítimas (por exemplo aqueles que não estão identificados por outros métodos forenses) ou se é imprescindível identificar todos os restos humanos recuperados.

Uma das recomendações da ISFG aconselha a recolha de amostras para eventual análise de ADN, mesmo quando as identificações foram realizadas por outros métodos forenses. Neste caso, por regra, o objectivo será, eventualmente, permitir a re-associação de fragmentos do corpo e, no futuro, em caso de dúvidas ou contradições, permitir análise de ADN.

A identificação genética de um indivíduo é realizada pela determinação do seu perfil genético individual, o qual é obtido pela determinação da combinação das características genéticas que este indivíduo apresenta num determinado conjunto de marcadores estudados no seu genoma,

marcadores estes que, actualmente, a nível internacional são *loci* STR autossómicos e, caso seja aplicável, *loci* STR do cromossoma Y. Em casos muito específicos estudamos, ainda, a HVI a HVII do DNAmT e, também, mini-STR e SNPs.

Como apontamento, os marcadores genéticos actualmente mais utilizados - *loci* STR e DNAmT, são aceites pela comunidade científica forense internacionalmente. Para tanto, contribuiu a identificação da família imperial Romanov, que constituiu um marco histórico nas ciências forenses. Paradoxalmente, a morte do último Czar da Rússia e de toda a família imperial e a subsequente instauração do regime soviético, mudou o rumo da História da Humanidade.

Finalmente, reforçaríamos a importância de que os procedimentos no âmbito da identificação genética de desconhecidos, desde a colheita de amostras problema a cadáveres ou restos humanos, bem como a colheita de amostras de familiares de supostos indivíduos a identificar, associadas às quais a obrigatoriedade de existência de documentação que assegure a cadeia de custódia das amostras, passando por todos os procedimentos laboratoriais aplicáveis, até à elaboração do relatório pericial, devem pautar-se pelo cumprimento de normas e regulamentos que assegurem a garantia da qualidade dos resultados obtidos, designadamente através da realização de procedimentos, em particular os de natureza laboratorial, em laboratórios e através de ensaios acreditados.

Terminamos, fazendo a ressalva de que o modesto contributo que aqui quisemos deixar não se apresenta como um referencial técnico ou científico sobre a identificação genética de desconhecidos, mas sim como um documento acessível ao

entendimento simultâneo de operadores tão diversos como juristas ou magistrados, médicos e demais especialistas das áreas médicas e biomédicas, bem como a estudantes e estudiosos de nível pré e pós-graduado desta área em que todos confluem com o objetivo último de, em primeira instância, servir a justiça e, em última instância, servir o bem e a causa pública.

BIBLIOGRAFIA

- Alonso, A., Martín, P., Albarrán, C., et al. (2005) Challenges of DNA profiling in mass disaster investigations. *Croatian Medical Journal*, 46, 540-548.
- Amorim, A., Afonso-Costa, H., Espinheira, R. et al. (2011) Human identification with combined anthropologic and genetic tools: two case reports in forensic medicine practice. *Folia Societatis Medicinae Legalis Slovaca*, (1), 11-14.
- Amorim, A., Vieira-Silva, C., Afonso-Costa, H. et al. (2011). Allele frequencies of all CODIS and four non-CODIS STR loci in an immigrant Brazilian population living in Lisbon - preliminary results. *Forensic Science International Genetics Supl*, 3, e127-e128. [doi:10.1016/j.fsigs.2011.08.063]
- Anđelinović, S., Sutlović, D., Ivkošić, I., et al. (2005). Twelve-year experience in identification of skeletal remains from mass graves. *Croatian Medical Journal*, 46, 530-539.
- Budowle, B., Bieber, F., Eisenberg, A. (2005). Forensic Aspects of Mass Disasters: Strategic Considerations for DNA-Based Human Identification. *Legal Medicine*, 7(4), 230-243.
- Butler, J. M. (2011). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Academic Press. Elsevier. London.
- Butler, J.M. (2005). *Forensic DNA typing. Biology, technology and genetics of STR markers* (2^o ed). Academic Press. Elsevier. London.
- Coble, M. (2011). The identification of the Romanovs: Can we (finally) put the controversies to rest? *Investigative Genetics*, 2, 20. [doi:10.1186/2041-2223-2-20]
- Corte-Real, F. (2004). Forensic DNA databases. *Forensic Science International*, S143-S144.

- Crespillo, M., Bañón, R., Valverde, J. (2011). Aprendizaje y reflexiones de la identificación de cadáveres mediante marcadores genéticos monoparentales. *Revista Española de Medicina Legal*, 37(1), 17-21.
- Davoren, J., Vanek D., Konjhodžić, R. et al. (2007). Highly Effective DNA Extraction Method for Nuclear Short Tandem Repeat Testing of Skeletal Remains from Mass Graves. *Croatian Medical Journal*, 48, 478-485.
- Gojanović, M.D. & Sutlović, D. (2007). Skeletal Remains from World War II Mass Grave: from Discovery to Identification. *Croatian Medical Journal*, 48, 520-527.
- Ge, J., Budowle, B., Chakraborty, R. (2011). Choosing relatives for DNA identification of missing persons. *Journal of Forensic Sciences*, 56, S23-S28.
- Graham, E. (2007) DNA Reviews: Ancient DNA. *Forensic Science Medicine and Pathology*, 3, 221-225.
- Holland, M.M., Fisher, D.L., Mitchell, L.G. et al. (1993). Mitochondrial DNA Sequence Analysis of Human Skeletal Remains: Identification of Remains from the Vietnam War. *Journal of Forensic Sciences*, 38(3), 542-553.
- Huffine, E., Crews, J., Kennedy, B., et al. (2001). Mass Identification of Persons Missing from the Break-Up of the Former Yugoslavia: Structure, Function, and Role of the International Commission on Missing Persons. *Croatian Medical Journal*, 42(3), 271-275.
- Lessing, R., Rothschild, M. (2011). International standards in cases of mass disaster victim identification (DVI). *Forensic Science Medicine and Pathology*. [doi:10.1007/s12024-011-9272-3]
- Lleonart, R., Riego, E., Saínz de la Peña, M.V. et al. (2000). Forensic identification of skeletal remains from members of Ernesto Che Guevara's guerrillas in Bolivia based on DNA typing. *International Journal of Legal Medicine*, 113, 98-101.
- Marjanović, D., Durmić-Pašić A., Bakal, N. et al. (2007) DNA Identification of Skeletal Remains from the World War II Mass Graves Uncovered in Slovenia. *Croatian Medical Journal*, 48, 464-470.
- Marjanović, D., Durmić-Pašić, A., Kovačević, L., et al. (2009) Identification of Skeletal Remains of Communist Armed Forces Victims during and after World War II: Combined Y-Chromosome Short Tandem Repeat (STR) and MiniSTR Approach. *Croatian Medical Journal*, 50, 296-304.
- Milós, A., Selmanovic, A. Smajlovic, L., et al. (2007) Success rates of nuclear STR typing from different skeletal elements. *Croatian Medical Journal*, 48, 486-493.
- Mundorff, A., Bartelink E., Mar-Cash, E. (2009). DNA Preservation in Skeletal Elements from the World Trade Center Disaster: Recommendations for Mass Fatality. *Journal of Forensic Sciences*, 54(4). [doi:10.1111/j.1556-4029.2009.01045.x]
- Palo, J., Hedman, M., Söderholm N., Sajantila, A. (2007) Repatriation and Identification of Finnish World War II Soldiers. *Croatian Medical Journal*, 48, 528-535.
- Pinheiro, M.F. (2009). *CSI Catástrofes*. Edições Universidade Fernando Pessoa. Porto.
- Prinz, M., Carracedo, A., Mayr, W.R. et al. (2007) DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Science International*, 1(1), 3-12.
- Rios, L., Casado, J., Prieto, J. (2010) Identification process in mass graves from the Spanish Civil War I. *Forensic Science International*, 199, e27-e36.
- Schwark, T., Heinrich, A., Wurmb-Schawck, N. (2011) Genetic identification of highly putrified bodies using DNA from soft tissues. *International Journal of Legal Medicine*, 125:891-894.
- Vieira, D.N. (2011). Forensic Medicine - From Old Problems to New Challenges, InTech. Croatia. ISBN 978-953-307-262-3.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R. (1991) Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4), 506-513.
- Westen, A., Gerretsen, R., Maat, G. (2008) Femur, rib, and tooth sample collection for DNA analysis in disaster victim identification (DVI). A method to minimize contamination risk. *Forensic Science Medicine and Pathology*, 4, 15-21. [doi:10.1007/s12024-007-0027-0]
- Ziętkiewicz, E., Witt, M., Daca, P. (2011) Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis. *Human Genetics*, 3(1):41-60. [doi:10.1007/s13353-011-0068-7]

Capítulo 4
**INVESTIGAÇÃO BIOLÓGICA
DE PARENTESCO**

**Paulo Dario
Helena de Seabra Geada**

Delegação do Sul do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P.

CENCIFOR - Centro de Ciências Forenses

Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_4](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_4)

RESUMO

Com a reforma de 1977 do Código Civil Português, a investigação de paternidade passou a ser livremente admitida, sendo que, nas ações de filiação, os exames de sangue ou outros métodos cientificamente comprovados, como exames de outros materiais biológicos, passaram a ser admitidos como meio de prova neste tipo de investigações. Atualmente, nos Laboratórios de Genética Forense, a investigação biológica de paternidade é realizada em amostras de saliva recolhidas com zaragatoas bucais ou amostras de sangue obtidas por punção digital, e analisadas, essencialmente, com recurso ao estudo de STRs autossômicos. Estes estudos têm por base o trio pretenso pai/mãe/filho(a), sem prejuízo de outro tipo de investigações que podem ser solicitadas aos Laboratórios de Genética Forense, tais como, investigações com dois ou mais pretensos pais ou com dois ou mais irmãos. Mas os casos complexos são determinados por investigações de parentesco incompletas, normalmente na ausência do pretenso pai que se pretende investigar. Neste caso, estas investigações devem ser efetuadas com recurso ao perfil genético dos pretensos familiares paternos, tais como, pais, irmãos ou filhos do pretenso pai. Estas investigações podem ser complementadas com outros marcadores genéticos, nomeadamente, aumentando o número de STRs autossômicos estudados com outros sistemas multiplex utilizados na prática forense, ou mesmo recorrendo ao estudo de Y-STRs para determinação da linha paterna, de ADN mitocondrial para estudo da linha materna ou, em casos especiais, estudo de STRs do cromossoma X. Mas as situações da prática forense podem ser bastante mais complexas, sendo necessárias investigações com marcadores bialélicos, como SNPs ou INDELS, para complementar o estudo de STRs, sobretudo, em casos de amostras degradadas. Por outro lado, a implementação da acreditação nos Laboratórios de Genética Forense teve início com a implementação de um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ), baseado na norma ISO/IEC 17025, garantindo, assim, a qualidade das perícias de investigação biológica de parentesco realizadas.

PALAVRAS-CHAVE

Investigação biológica de parentesco; polimorfismos de ADN.

ABSTRACT

With the 1977 reform of the Portuguese Civil Code, paternity became freely admitted, and that the actions of affiliation, blood tests or other scientifically proven methods such as examinations of other biological materials, have been admitted as evidence in this type of investigations. Currently, at the Laboratories of Forensic Genetics, biological paternity is carried in saliva samples collected with buccal swabs or blood samples obtained by finger prick and analyzed essentially using autosomal STRs. These studies are based on the alleged father/mother/son(daughter) or other types of research that can be applied to Forensic Genetics Laboratories, such as investigations with two or more alleged fathers or with two or more siblings. But complex cases are determined by kinship incomplete investigations, usually in the absence of the alleged father. In this case, these investigations should be carried out using the genetic profile of the alleged paternal relatives, such as parents, siblings or children of the alleged father. These investigations can be complemented with other genetic markers, namely increasing the number of studied autosomal STRs with other multiplex systems used in forensics, or by studying the Y-STRs for determining the parental lineage, the mitochondrial DNA for the study of maternal lineage or, in special cases, the study of X-chromosome STRs. But the circumstances in forensics can be quite complex, being necessary studies with biallelic markers, such as SNPs and INDELS, to complement the study of STRs, especially in cases of degraded samples. On the other hand, the implementation of accreditation in Forensic Genetics Laboratories began with the implementation of a Quality Management System (QMS) based on ISO/IEC 17025, thus ensuring the quality of the biological kinship analysis performed.

KEYWORDS

Biological kinship analysis; DNA polymorphisms.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, as Ciências Forenses têm sido objeto de significativa valorização devido, nomeadamente, à introdução de novas tecnologias e de aparelhagem de análise mais sofisticada. Quanto à Genética Forense, não só este ramo teve um enorme desenvolvimento, como, também, nos últimos anos, este desenvolvimento sofreu uma aceleração ímpar relativamente a qualquer outro ramo da atividade médico-legal, pela introdução da tecnologia do ADN. A contribuição dos Laboratórios de Genética Forense, como auxiliares da Justiça, para a resolução de problemas de âmbito social adquire, assim, uma enorme relevância.

No âmbito da Genética Forense, os exames têm normalmente um único objetivo — o estudo do perfil genético dos indivíduos, através das amostras colhidas e enviadas ao Laboratório. O problema da identificação dos indivíduos será, para o Laboratório de Genética Forense, um dos objetivos principais. As características genéticas são únicas, no seu conjunto, para cada indivíduo, caracterizando, deste modo, a sua individualidade biológica.

Karl Landsteiner, ao descobrir o sistema ABO e as suas características hereditárias, profetizou, no início do século passado, que “um dia os grupos sanguíneos permitiriam identificar os homens tão bem como as impressões digitais” (Landsteiner et al., 1928). Landsteiner refletiu, assim, sobre a possibilidade do uso destes marcadores para fins forenses, tendo esta descoberta servido de base para a realização de perícias de investigação da paternidade, até meados dos anos 80. Com base nestes trabalhos, Landsteiner viria a receber o Prémio Nobel da Medicina, em 1930.

Também, no final do século passado, se assistiu à aplicação das chamadas “impressões digitais genéticas” (*DNA fingerprinting*) na identificação biológica. A primeira perícia de investigação genética de parentesco biológico com recurso a marcadores moleculares (VNTRs – *Variable Number Tandem Repeats*) foi realizada, em 1985, num caso de imigração de indivíduos do Gana, que pretendiam obter um visto de reunião familiar, existindo dúvidas sobre a veracidade das relações de parentesco com os alegados parentes residentes no Reino Unido. Alec Jeffreys, da Universidade de Leicester, provou a veracidade destas relações (Jeffreys et al., 1985) e demonstrou, também, inequivocamente, o grande poder do ADN na identificação genética de indivíduos.

A investigação em Genética Forense aplica as tecnologias de Biologia Molecular ao estudo de polimorfismos de *loci* de ADN com interesse forense. Este estudo, de relevância médico-legal integra a genética populacional e a identificação biológica que se desenvolve principalmente nas seguintes vertentes: a) investigação biológica de filiação, debruçando-se em particular sobre as investigações de paternidade e de maternidade; b) investigação biológica de parentesco, que engloba, entre outros, também os estudos de casos de imigração; c) identificação biológica de desconhecidos, onde se insere a identificação em desastres de massa e d) investigação criminal biológica. Perspetivam-se, atualmente, outros campos de interesse da investigação forense, como sejam, as investigações históricas e o campo fascinante da Arqueologia Forense.

A individualidade biológica constitui, assim, a base fundamental da perícia de identificação biológica e é, atualmente, efetuada através dos

polimorfismos de *loci* de ADN, nomeadamente, STRs autossómicos, STRs do cromossoma Y e STRs do cromossoma X. O ADN mitocondrial e a introdução do estudo de SNPs na rotina e na resolução de casos complexos são outras das metodologias utilizadas em Genética Forense.

Como já referido em capítulos anteriores, os STRs autossómicos encontram-se abundantemente distribuídos no genoma humano, sendo caracterizados por pequenas repetições em sequência, repetições estas essencialmente de 2 a 7 pares de bases (pb) de comprimento. A maioria dos *loci* STR autossómicos usados na identificação humana apresenta repetições de 4 pb, e alguns de 5 pb, com alelos compreendidos entre os 100 e os 350 pb. Os STRs tetraméricos e pentaméricos utilizados são sistemas com grande poder de discriminação e especificidade para a análise da variabilidade humana.

Recorre-se, contudo, à utilização de sistemas multiplex para o estudo destes *loci*, utilizando os multiplex PowerPlex® 16 (/HS) System e/ou AmpFℓSTR® Identifiler® (/Direct/Plus). Estes multiplex comerciais, para além dos 13 *loci* do sistema CODIS, permitem no seu conjunto o estudo de outros quatro STRs: D2S1338, D19S433, Penta E e Penta D. São estes 17 *loci* os atualmente mais utilizados nas perícias de Genética Forense, sem prejuízo de outros sistemas que os diferentes Laboratórios disponham para a análise de rotina ou de casos complexos, como, por exemplo, outros marcadores contidos em diferentes sistemas multiplex como o AmpFℓSTR® NGM™ ou o PowerPlex® ES.

O estudo dos *loci* STR dos diferentes grupos populacionais constitui um complemento das perícias forenses e, assim, uma das atribuições

dos Laboratórios Forenses. Os polimorfismos dos microssatélites, para além de caracterizarem o indivíduo do ponto de vista da sua individualidade biológica, permitem, também, o estudo das populações. Este estudo populacional é de importância fundamental para todas as investigações na área da Genética Forense, pois as conclusões destas perícias são efetuadas com base em cálculos estatísticos, para os quais é necessário o conhecimento da genética populacional.

O estudo da genética populacional revestir-se-á, assim, de aspetos essenciais não só no âmbito dos exames periciais, mas, também, no da caracterização dos diversos grupos populacionais que, atualmente, integram a população de indivíduos e/ou amostras presentes aos diversos Laboratórios Forenses.

2. ESTABELECIMENTO DA FILIAÇÃO

Segundo o Código Civil Português, de 1977, o estabelecimento da filiação assenta na diferença entre estabelecimento da maternidade e estabelecimento da paternidade: “O estabelecimento da filiação relativamente à mãe, resulta do próprio facto do nascimento, enquanto a paternidade presume-se em relação ao marido da mãe e, nos casos da filiação fora do casamento, estabelece-se pelo reconhecimento” (art.º 1796º. - Estabelecimento da filiação).

Tanto a maternidade como a paternidade são factos biológicos que carecem de vínculo jurídico. Contudo, estes dois factos biológicos têm um modo diferente de ser provados. No caso da mãe, a filiação resulta do facto do nascimento, enquanto para o pai não se pode provar o seu

envolvimento biológico, como se prova a maternidade (Oliveira, 1983). No estabelecimento da paternidade “presume-se que o filho nascido ou concebido na constância do matrimónio da mãe tem como pai o marido” (art.º 1826º - Presunção de paternidade).

Existem, contudo, situações, em que o Tribunal ordena um exame de investigação de paternidade para verificar se é ou não possível, excluir o marido da mãe, da paternidade biológica da criança. Mas as situações mais comuns que levam a uma averiguação da paternidade são aquelas nas quais a mulher atribui a paternidade do seu filho a um indivíduo a quem, à face da lei, não é aplicável tal presunção. Este facto passa-se em relação à mulher solteira, casada ou viúva, pois segundo o Código Civil, “o reconhecimento do filho nascido ou concebido fora do matrimónio efetua-se por perfilhação ou decisão judicial em ação de investigação” (art.º 1847º - Formas de reconhecimento).

Conclui-se que deve ser declarado pai do indivíduo nascido ou concebido fora do casamento, quem for o seu pai biológico. Quanto à paternidade desconhecida, “sempre que seja lavrado registo de nascimento de menor apenas com a maternidade estabelecida, deve o funcionário remeter ao Tribunal certidão integral do registo, a fim de se averiguar officiosamente a identidade do pai” (art.º. 1864º - Paternidade desconhecida).

Com a reforma de 1977 do Código Civil, desapareceram os entraves à investigação de paternidade, que passou a ser livremente admitida. Segundo o art.º 1801º - “nas acções de filiação são admitidos como meios de prova os exames de sangue ou quaisquer outros métodos cientificamente comprovados”.

Segundo o enunciado do art.º 1871º do Código Civil, a filiação biológica prova-se, de modo indireto, pela prova de exclusividade das relações sexuais entre o investigado e a mãe do investigante, no período legal da conceção, bem como por meio de presunções legais. A prova por presunções faz-se através da prova dos factos como tal legalmente considerados.

Mas o Assento nº 4/83 refere os dois factos constitutivos da paternidade biológica: a) a existência de relações sexuais entre a mãe do investigante e o pretense pai durante o período legal da conceção; b) a fidelidade da mãe do investigante ao pretense pai durante o mesmo período. Caso se averigue, por exemplo, que a mãe do menor manteve relações sexuais com dois indivíduos, os exames de sangue serão muito úteis e necessários, pois um dos indivíduos será necessariamente excluído, enquanto o outro apresentará um elevado grau de probabilidade de paternidade. Como se verifica, para os exames de investigação de paternidade é irrelevante a prova da fidelidade da mãe. Esta prova não se revela necessária para a obtenção de um resultado concreto, quer seja de exclusão, quer seja de não exclusão (Geada et al., 1990-91).

Nos casos de possível ocorrência de relações sexuais com mais de um indivíduo, os exames de sangue terão, como referido, uma função útil a desempenhar, pois a conclusão relativamente à paternidade não será determinada pelo exame que acuse o maior grau de probabilidade, mas sim pela exclusão dos indivíduos falsamente implicados, caso estes se apresentem a exame, e a obtenção de um valor de probabilidade de paternidade elevado para o indivíduo não excluído, não se admitindo valores relativos de probabilidade de paternidade.

Como refere o Acórdão do Supremo Tribunal de Justiça de 26 de Junho de 1991, “os exames de sangue não constituem uma presunção de paternidade, pois tendem à prova directa da paternidade biológica”. A não exigência deste tipo de provas em todas as ações de investigação de paternidade pode levar a que muitas dessas ações não sejam conclusivas, por não se apresentar uma prova tão específica como a prova científica (Geada et al., 1990-91).

3. INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE PARENTESCO

Os estudos de investigação genética de parentesco baseiam-se, essencialmente, em estudos de investigações de paternidade, investigações de maternidade, estudo de pretensos irmãos, estudo com pretensos avós paternos, assim como estudos envolvendo outros familiares. Estes casos podem, muitas vezes, configurar situações complexas e especiais de estabelecimento biológico de parentesco.

Os casos mais comuns, solicitados aos Laboratórios de Genética Forense, configuram investigações de paternidade efetuadas com a presença do trio pretense pai/mãe/filho(a), embora estes estudos possam ser realizados na ausência do pretense pai (p.pai), recorrendo a familiares da linha paterna.

Este tipo de investigação pode ser solicitada pelos Tribunais e pelas Forças de Segurança (PJ, PSP e GNR), diretamente ao Diretor da respetiva Delegação do Instituto Nacional de Medicina Legal, ou aos Coordenadores dos Gabinetes

Médico-Legais, que procedem à colheita e envio das amostras à respetiva Delegação, como mais adiante será explicitado.

Outra das situações que começa a ter grande relevância na nossa Sociedade, refere os pedidos efetuados particularmente, quer no âmbito da investigação de paternidade e/ou de maternidade, quer no estabelecimento de parentesco biológico. Estes casos, solicitados ao Presidente da Instituição, sediada em Coimbra, são devidamente encaminhados para o Gabinete de Assessoria Jurídica, que fará a apreciação da matéria de facto, sendo, em seguida, enviados para a Delegação mais próxima da residência dos requerentes, para a realização do exame pericial.

As investigações de paternidade fora de um processo judicial, principalmente quando realizadas por laboratórios privados, devem ter em consideração o Parecer da Comissão de Bioética da Sociedade Portuguesa de Genética Humana (SPGH), de 4 de Outubro de 2010, sobre “Normas de bioética e questões jurídicas na realização de testes de paternidade fora de um processo judicial em Portugal”, até à implementação de um diploma legal, que enquadre este tipo de investigações no ordenamento jurídico português (Santos et al., 2010).

3.1 INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE

Como referido anteriormente, o objetivo da investigação de paternidade é o de determinar se o pretense pai em questão é ou não excluído da paternidade do investigante. Com esse fim, estudam-se os vários sistemas de marcadores genéticos (STRs), que conferem, nos casos mais comuns de investigação de paternidade, ao trio p.pai/mãe/filho(a), uma

individualidade biológica determinada pelo perfil genético dos intervenientes no processo.

3.1.1 Investigação de paternidade do trio p.pai/mãe/filho(a)

Nas situações mais comuns de investigação de paternidade, as quais configuram mais de 80% das investigações de parentesco e que se baseiam no estudo dos três intervenientes, p.pai/mãe/filho(a) sendo o par mãe/filho considerado um par biológico verdadeiro, determinam-se os alelos que devem ser, obrigatoriamente, transmitidos pelo pai biológico (Tabela I).

Tabela I – Perfis genéticos dos intervenientes numa investigação biológica de paternidade com estudo do trio p.pai/mãe/filho(a).

Locus	p.pai	mãe	filho
D3S1358	16	15,18	15,16
TH01	9,9.3	8,9	8,9
D21S11	29,31.2	28,30	28,29
D18S51	12,14	14	12,14
PentaE	10,11	11,16	10,16
D5S818	12	11,12	11,12
D13S317	11,13	12	11,12
D7S820	7,9	8,10	7,10
D16S539	13,14	11,12	12,14
CSF1PO	11,12	11,12	11
PentaD	11,12	11,14	11,14
vWA	14,17	17,18	17
D8S1179	11,16	10	10,11
TPOX	8,11	8,11	8,11
FIBRA	20,24	21,23	20,23
D2S1338	17,18	18,23	17,18
D19S433	12,13	14,16	12,14

Na Tabela I, exemplificam-se os perfis genéticos correspondentes a um caso de investigação de paternidade, sendo que o pretenso pai possui as características genéticas que deveriam ser transmitidas, pois possui os alelos que a mãe não transmite ao filho. Esta situação configura uma condição de não exclusão de paternidade.

Quando não existem incompatibilidades genéticas nos 17 sistemas estudados, como no caso presente, são efetuados cálculos estatísticos, de modo a determinar o índice de paternidade e a probabilidade de paternidade que o pretenso pai tem de ser o pai biológico do investigante. Este cálculo atribui ao pretenso pai um valor estatístico, tendo em consideração a genética populacional a que pertence o indivíduo em estudo.

Nos casos mais comuns, os cálculos estatísticos são efetuados considerando ausência de parentesco biológico — como pai, filho ou irmão, entre o pretenso pai indigitado e o pai biológico, uma vez que, a acontecer a existência de parentesco biológico, esta situação terá implicações nos resultados obtidos e, por conseguinte, deve ser tida em consideração aquando dos cálculos.

3.1.2 Investigação de paternidade com dois pretendidos pais

Num processo com dois pretendidos pais, esta investigação efetua-se sempre recorrendo ao estudo comparativo dos perfis genéticos dos trios em questão: p.pai1/mãe/filho(a) e p.pai2/mãe/filho(a), ver Tabela II. Do mesmo modo, em todos os casos de investigação de paternidade com diversos pretendidos pais, a base de estudo será, sempre que possível, o trio p.pai/mãe/filho(a).

Tabela II – Perfis genéticos dos intervenientes numa investigação biológica de paternidade com dois pretendidos pais (p.pai1 e p.pai2).

Locus	p.pai1	mãe	filho	p.pai2	Observação
D3S1358	15,18	14,16	15,16	14,16	Incomp.
TH01	6,9	7,8	6,7	7,8	Incomp.
D21S11	29,30	28,32.2	28,29	30,32.2	Incomp.
D18S51	16	17,18	16,17	15,17	Incomp.
PentaE	12,17	11,14	12,14	11,13	Incomp.
D5S818	11,13	9,13	11,13	11,12	
D13S317	11	12,13	11,12	11,12	
D7S820	11,12	10,11	10,11	8,10	
D16S539	9,10	10,11	9,10	10,11	Incomp.
CSF1PO	10,11	10,12	11,12	7,11	
PentaD	8,9	9,11	8,9	8,11	
vWA	15,17	18,19	15,18	15,16	
D8S1179	15,16	12,16	12,16	12,15	
TPOX	8	9,10	8,9	11	Incomp.
FIBRA	23,25	23,24	23,24	18,27	Incomp.
D2S1338	17,25	19,21	19,25	19,23	Incomp.
D19S433	13,15.2	14,14.2	14,15.2	14,15	Incomp.

O pretendido pai 1 não apresenta qualquer incompatibilidade genética nos 17 *loci* STR estudados, configurando uma situação de não exclusão de paternidade. No caso de existirem incompatibilidades genéticas entre o pretendido pai e o investigante, o pretendido pai será excluído da paternidade em questão, quando se detetarem três ou mais incompatibilidades genéticas. No caso do pretendido pai 2, em que foram detetadas dez incompatibilidades genéticas nos 17 sistemas estudados, este indivíduo fica excluído da paternidade em investigação.

3.2 CÁLCULOS ESTATÍSTICOS EM INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE

Para a investigação biológica de paternidade, em casos compostos pelo trio p.pai/mãe/filho(a) deve ser determinado o índice de paternidade (IP), sendo para isso usada a análise de verosimilhança LR (do ing. *likelihood ratio*), entre a probabilidade do pretendido pai ser o pai biológico do(a) filho(a) (H0) e a probabilidade do pai biológico ser um indivíduo ao acaso da população (H1). Para cada uma das situações anteriores, parte-se de uma

probabilidade *a priori* de 0,5, uma vez que não dispomos de informação sobre qual das duas condições tem maior probabilidade de ser verdadeira (Gjertson et al., 2007).

O índice de paternidade é calculado pela seguinte forma: $IP = X/Y = H0/H1$, em que $X=H0$, sendo $H0$ a probabilidade do p.pai ser pai biológico do filho(a) e $Y=H1$, sendo $H1$ a probabilidade de um indivíduo ao acaso na população ser pai biológico do filho(a).

Assim, considera-se que X é o produto das probabilidades que o pretense pai tem de transmitir os alelos partilhados ao filho, e Y o produto das probabilidades de um indivíduo ao acaso da população, transmitir, ao filho em análise, os alelos paternos, sendo o valor de Y dado pelo estudo populacional das frequências alélicas dos vários *loci*.

Outro parâmetro, normalmente calculado, é a probabilidade de paternidade (W , derivado da palavra alemã *Wahrscheinlichkeit* que significa probabilidade) que, apesar de não ser o mais correto do ponto de vista científico, pode fornecer uma mais fácil perceção para o destinatário final dos resultados, acerca da possibilidade do pretense pai ser ou não o pai biológico do filho.

O índice de paternidade e a probabilidade de paternidade $W = X/(X+Y)$ são valores facilmente interconvertíveis, do ponto de vista matemático. Como se compreenderá, os valores do índice de probabilidade ou da probabilidade de paternidade irão depender dos *loci* estudados e do grupo populacional em análise.

Considerando o exemplo do *locus* TH01, em que o pretense pai transmite o alelo 9.3 ao filho:

p.pai1	mãe	filho(a)
6,9.3	9.3,9.3	9.3,9.3

Valor de $X = 0,5$

Valor de $Y =$ frequência alelo 9.3

na população = 0,2642

$IP = X/Y = 0,5/0,2642 = 1,8925$

$P = X/(X+Y) = 0,6542 (65,42\%)$

No caso do estudo dos 17 sistemas, os valores de X e de Y correspondem ao produto dos valores obtidos para os diversos *loci*. Assim, com os 17 *loci* dos AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ (/Direct/Plus) e PowerPlex $\text{\textcircled{R}}$ 16 (/HS) System, utilizados na maioria dos Laboratórios Forenses, os valores de IP obtidos são, normalmente, superiores a 1.000.000, o que corresponde a valores de W superiores a 99,9999%, podendo ocorrer valores para IP da ordem de 10.000.000.000.000 e correspondentes W da ordem de 99,999999999999%.

Podem considerar-se, normalmente, como limites mínimos, respetivamente, valores de $IP = 1.000.000$ e de $W = 99,9999\%$, para as investigações de paternidade efetuadas através do estudo do trio p.pai/mãe/filho(a), considerando os 17 *loci* STR e a população habitualmente em estudo no Laboratório.

3.3 INCOMPATIBILIDADES GENÉTICAS

Numa investigação de paternidade, obtendo-se diversas incompatibilidades genéticas (3, 4, 5 ou mais) entre p.pai/filho(a) num estudo com 17 *loci* STR, considera-se que o pretense pai está excluído da paternidade em questão.

Mas o que considerar num caso em que se deteta somente uma incompatibilidade entre o pretenso pai e um filho, num estudo com 17 STRs?

Em investigação biológica de paternidade, os STRs utilizados devem ter uma baixa taxa de mutação, como já referido em capítulos anteriores. Contudo, observam-se mutações em, praticamente, todos os *loci* STR de interesse forense, as quais devem ser equacionadas na resolução de algumas situações particulares.

Podem ser obtidos vários tipos de mutações, seja por inserção de uma unidade de repetição, por deleção de uma unidade de repetição ou por substituição pontual de uma base. As mutações por inserção ou deleção encontram-se localizadas na zona de repetição da estrutura dos STRs, enquanto que a mutação por substituição pontual é detetada, com maior frequência, quando ocorre na zona de ligação dos *primers*.

Uma mutação ao nível da região de repetição tem como consequência a observação de uma incompatibilidade mãe/filho ou p.pai/filho, que se traduz numa alteração do número de repetições do alelo, sendo mais frequente a inserção ou deleção de uma unidade de repetição. Contudo, inserções ou deleções de 2 unidades de repetição têm, também, sido detetadas, em casos de não exclusão de paternidade.

Na Tabela III, verificam-se três exemplos de incompatibilidades genéticas obtidas num único *locus* (vWA, D16S539 ou FGA), detetadas aquando das respetivas investigações de paternidade, com o estudo dos 17 *loci* STR utilizados na rotina laboratorial.

Tabela III. Exemplos de incompatibilidades genéticas obtidas em três casos de investigação de paternidade.

Caso #	Mutação no <i>locus</i>	p.pai1	mãe	filho
1	vWA	17,17	15,17	15,16
2	D16S539	11,13	9,13	9,12
3	FGA	19,22	23,25	23,25

Da análise destes três casos destacam-se os seguintes aspetos:

- a) A incompatibilidade genética apresentada em vWA pode ser devida a uma mutação p.pai/filho, por deleção de uma unidade de repetição do *locus*, sendo que o alelo 17 passou a alelo 16 durante o processo de meiose. A mãe transmitiu o alelo 15 ao filho. Na Tabela IV, apresenta-se uma incompatibilidade genética por inserção de uma unidade de repetição em D7S820 (p.pai alelo8/filho alelo9).
- b) No *locus* D16S539, sendo o pretenso pai 11,13 e o filho 9,12, ocorreu uma das seguintes situações — inserção de uma unidade de repetição do alelo 11 resultando o alelo 12; ou uma deleção de uma unidade de repetição do alelo 13 passando a alelo 12, não sendo possível saber, ao certo, qual destas situações ocorreu na realidade. A mãe transmitiu o alelo 9 ao filho.
- c) No caso do *locus* FGA, a mãe pode transmitir o alelo 23 ou o alelo 25, sendo mais provável que tenha transmitido o alelo 25, existindo a possibilidade de inserção de uma unidade de repetição do alelo 22 para alelo 23 no caso paterno.

Tabela IV. Investigação de paternidade com 17 *loci STR* e deteção de uma incompatibilidade genética em D7S820.

Locus	p.pai1	mãe	filho	Observação
D3S1358	15,16	15,18	16,18	
TH01	6,9.3	8,9.3	9.3	
D21S11	28,33.2	29,31.2	28,31.2	
D18S51	19,20	16,18	18,19	
PentaE	10,12	12,13	12	
D5S818	12	10,11	10,12	
D13S317	11,13	11,12	11,13	
D7S820	8,10	11,12	9,11	Incomp.
D16S539	9,14	11,12	12,14	
CSF1PO	12,13	10,11	10,12	
PentaD	9,14	9,11	9,14	
vWA	16,17	17,20	17,20	
D8S1179	12,14	10,11	10,14	
TPOX	8,9	9,10	8,10	
FIBRA	18,21	22,26	21,26	
D2S1338	23,24	17,19	19,23	
D19S433	14,14.2	13,14	13,14	

Em todas estas situações foram obtidos índices de paternidade superiores a 100.000.000, considerando os restantes 16 *loci STR*, nos quais não se detetaram incompatibilidades. Os cálculos estatísticos finais efetuados em investigações de paternidade com a deteção de uma incompatibilidade genética entre p.pai/filho, são realizados tendo em consideração a taxa de mutação do *locus* em que se deteta a incompatibilidade, sendo este valor determinado *a priori* através de estudos populacionais.

As taxas de mutação dos vários microssatélites estudados variam, sendo que a taxa de mutação paterna média é da ordem de 0,341%, considerando o estudo das meioses maternas e

paternas efetuado na população portuguesa. A taxa de mutação num determinado *loci* é dada pela razão entre o número de mutações obtidas nesse *loci* e o número de meioses estudadas. Por outro lado, detetou-se que a taxa de mutação paterna é 10 vezes superior à taxa de mutação materna.

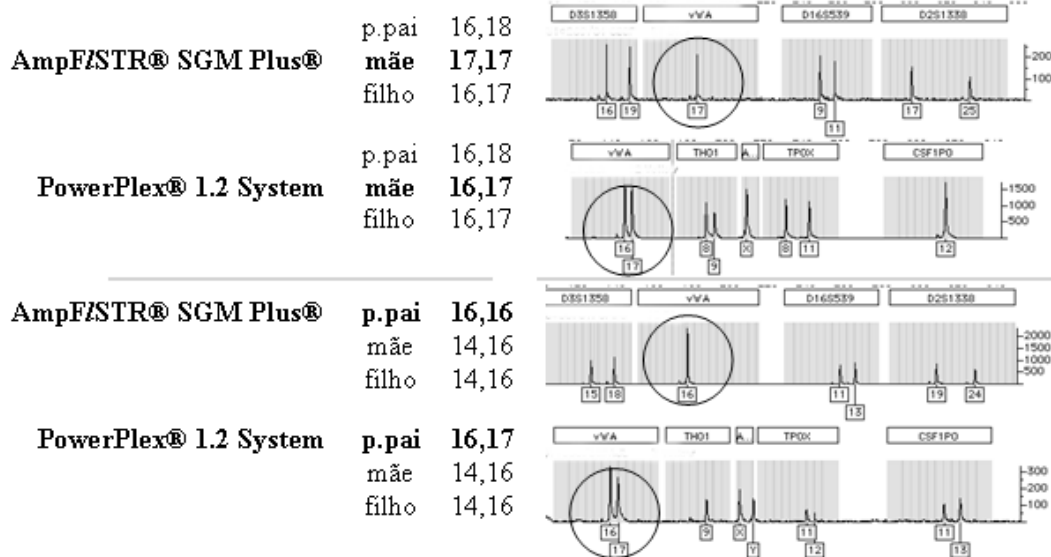
Deve salientar-se a possibilidade de ocorrência simultânea de duas incompatibilidades genéticas em casos de não-exclusão, atendendo aos 17 *loci STR* estudados. No entanto, estas incompatibilidades devem ser compatíveis com valores de probabilidade de paternidade superiores a 99,99% e índices de paternidade superiores a 10.000, quando equacionadas as respetivas taxas de mutação nos cálculos estatísticos.

Para além de inserções e deleções, podem, também, ocorrer substituições pontuais ao nível do ADN, localizando-se, mais frequentemente, na zona de ligação dos *primers*. Esta característica pode ter como consequência a não deteção de um determinado alelo, por alteração da sequência desta zona de ligação, de modo a não ser possível ligar o *primer* à sequência a amplificar.

Este facto é particularmente determinante no estudo do *locus* vWA com a utilização de *primers* de diferentes marcas comerciais.

Como se pode observar na Figura 1, a utilização de diferentes sistemas multiplex pode conduzir à deteção de diferentes génotipos. Esta situação, embora rara, deve ser tida em consideração na interpretação dos casos na prática forense.

Figura 1. Diferentes genótipos de vWA obtidos com diferentes sistemas multiplex.



Para avaliar esta situação deve ser efetuado o estudo da sequência do *locus* na zona de ligação do *primer*, verificando-se uma substituição pontual da sequência normal desta zona, o que não permite a ligação do *primer* nas condições normais de amplificação, e, desse modo, não é amplificado um dos alelos, utilizando o multiplex SGM Plus®, como exemplificado para as amostras indicadas na Figura 1.

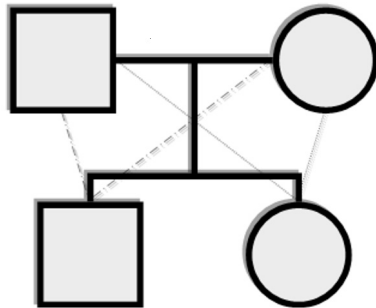
O estudo da sequenciação dos *loci* de ADN e das mutações ao nível destes *loci*, necessário para uma pormenorizada interpretação das perícias, constitui uma das atribuições dos Laboratórios de Genética Forense. Na introdução de novas metodologias e de novos *loci* de ADN, estes estudos prefiguram um dos campos de maior interesse no entrecruzar da Genética Forense e da Genética Populacional.

3.4 INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE EM CASOS COM IRMÃOS

Atualmente, em cerca de 2% dos casos de investigação de paternidade, é solicitado o estudo da paternidade de 2 ou mais irmãos. A generalidade destes casos é efetuada com base nos respetivos trios — p.pai/mãe/irmão1 e p.pai/mãe2/irmã2, como se reflete na Figura 2.

Após a análise dos perfis genéticos, e considerando a mãe como mãe biológica, estes processos podem conduzir a três tipos de conclusões: 1) não exclusão do pretense pai da paternidade dos dois irmãos; 2) exclusão da paternidade de um dos irmãos e não exclusão do outro; 3) exclusão do pretense pai da paternidade dos dois irmãos.

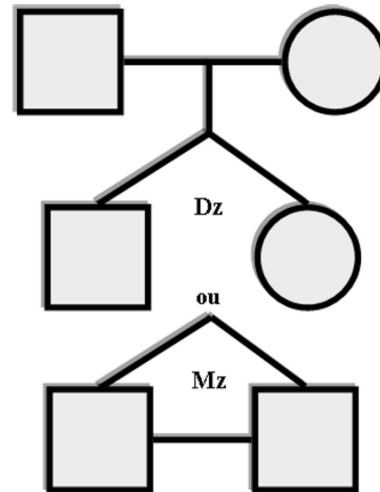
Figura 2. Investigação de paternidade em casos de estudo de 2 irmãos recorrendo ao estudo dos respetivos trios.



Como caso particular do estudo de irmãos, o estudo de gémeos representa cerca de 0,25% da casuística total. No caso de gémeos dizigóticos (Dz), de sexo diferente, ou gémeos monozigóticos (Mz), do mesmo sexo e normalmente com o mesmo perfil genético, a análise genética conduzirá a dois tipos de conclusões: 1) não exclusão da paternidade; 2) exclusão da paternidade dos gémeos, como indicado na Figura 3.

Mas nestes casos, pode também configurar-se uma terceira situação: não exclusão do pretense pai da paternidade de um dos gémeos, mas exclusão da paternidade em relação ao outro gémeo. Estas situações especiais de gémeos dizigóticos, podem resultar de relações sexuais, durante um ciclo poliovulatório de superfecundação — se ocorrerem com o mesmo indivíduo, os gémeos são homopaternos; se ocorrerem com indivíduos

Figura 3. Investigação de paternidade de gémeos – não exclusão versus exclusão.



diferentes, os gémeos podem ser heteropaternos, isto é, têm pais biológicos diferentes, situações, que embora raras, são detetadas no decurso das investigações de paternidade.

O perfil genético de gémeos heteropaternos encontra-se exemplificado no estudo de três *loci* STR, sendo que o pretense pai 1 se encontra excluído da paternidade em relação ao gémeo 2 e não excluído em relação ao gémeo 1, estando representados a negrito os alelos que o pai biológico deveria transmitir ao gémeo 2 (Tabela V).

Tabela V. Investigação de paternidade de gémeos heteropaternos, sendo que o pretense pai 1 está excluído da paternidade do gémeo 2 e não excluído em relação ao gémeo 1.

<i>Locus</i>	p.pai1	gémeo1	gémeo2	mãe
TH01	6,7	6,7	6,9.3	6,7
vWA	15,17	15,16	16,16	16,16
SE33	22,31.2	17,31.2	17,19	13.2,17

Do mesmo modo, em relação ao pretense pai 2 (Tabela VI), verifica-se que este se encontra excluído da paternidade do gêmeo 1 e não excluído em relação ao gêmeo 2, embora presente, no *locus* SE33, uma mutação por deleção de 1 unidade de repetição (alelo 20 / alelo 19).

Tabela VI. Investigação de paternidade de gêmeos heteropaternos, sendo que o pretense pai 2 está excluído da paternidade do gêmeo 1 e não excluído em relação ao gêmeo 2.

Locus	p.pai2	gêmeo1	gêmeo2	mãe
TH01	9,9.3	6,7	6,9.3	6,7
vWA	16,17	15,16	16,16	16,16
SE33	20,23.2	17,31.2	17,19	13.2,17

Este estudo foi efetuado em colaboração com o Instituto de Medicina Legal de Munster, que veio a confirmar a mutação do alelo 20 para alelo 19, através da sequenciação do *locus* SE33, detetando-se, também, um maior número de exclusões com o estudo de outros *loci* STR — 10 exclusões no par p.pai1/gêmeo2 e 8 exclusões no par p.pai2/gêmeo1 (Geada et al., 2001). A probabilidade de paternidade foi superior a 99,99999% (IP > 10.000.000) para cada par de não exclusão, o que confirma a hipótese de gêmeos heteropaternos — p.pai1/gêmeo1 e p.pai2/gêmeo2.

3.5 INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE EM CASOS COM AUSÊNCIA DE MÃE

Na rotina forense, são, também, solicitados processos de investigação de paternidade em casos com ausência de mãe, quer por esta se encontrar em parte incerta, quer por ter falecido. Nestes processos, que, atualmente, configuram

6% do total das investigações de paternidade, efetua-se, de igual modo, o perfil genético dos intervenientes com 17 *loci* STR.

Na Tabela VII, exemplifica-se um caso de investigação de paternidade na ausência de mãe, estando, representados a negrito, os alelos que podem ser partilhados entre o pretense pai e o filho, verificando-se, pelo menos, a partilha de um alelo, podendo, no entanto, ser partilhados os dois alelos, como nos *loci* D7S820, vWA e D19S433.

Tabela VII. Investigação de paternidade na ausência de mãe.

Locus	p.pai	mãe	filho
D3S1358	15, 17		16,17
TH01	19		15,19
D21S11	11		8,11
D18S51	17,26		17,20
PentaE	12		12,13
D5S818	29,30.2		29
D13S317	11, 12		12,18
D7S820	15		15
D16S539	6,7		6,9
CSF1PO	21,24		21
PentaD	11,13		11,14
vWA	11,13		11,13
D8S1179	10,11		10,12
TPOX	8, 9		9,11
FIBRA	12,13		10,12
D2S1338	15		10,15
D19S433	11,12		11,12

Por vezes, é necessário aumentar o número de *loci* a incluir neste tipo de perícias, pois estes casos, considerados como incompletos por ausência de um dos intervenientes, podem necessitar de um estudo mais aprofundado, devido aos

problemas de incompatibilidades genéticas que possam surgir.

De salientar que este tipo de perícias de investigação de paternidade, só deve ser realizado, na ausência de mãe, em situações lineares de parentesco, isto é, situações em que não esteja subjacente qualquer hipótese de implicação de outro familiar materno ou paterno, respetivamente, como mãe ou como pretense pai, o que pode ocorrer, por exemplo, nos casos de imigração.

Nestes casos será necessário um estudo familiar mais alargado, se possível, ou o estudo de um maior número de marcadores STRs, assim como a inclusão de outro tipo de marcadores genéticos, como Y-STRs, X-STRs, ADN mitocondrial ou SNPs autossómicos, consoante o caso em investigação.

Relativamente ao cálculo estatístico do índice de paternidade ou da probabilidade de paternidade, estes podem ser calculados através de fórmulas matemáticas específicas para estes casos, ou efetuados através de um programa informático específico, como adiante será referido.

3.6 INVESTIGAÇÃO DE MATERNIDADE

Na casuística de qualquer Laboratório de Genética Forense, são solicitados casos de investigação de maternidade, que, no essencial, são estudados do mesmo modo que os casos de investigação de paternidade na ausência de mãe, e que são abordados, em pormenor, no capítulo de Identificação Biológica.

Resumidamente, serão determinados os perfis genéticos dos indivíduos em questão, em relação aos 17 *loci STR*, e verificada a existência ou

não de incompatibilidades genéticas nos diversos *loci*. Nestes casos, podem também ser estudados outros marcadores genéticos, essencialmente, ADN mitocondrial e X-STRs.

Relativamente ao cálculo estatístico do índice de maternidade ou da probabilidade de maternidade pode, também, ser efetuado através de fórmulas matemáticas específicas, ou através de *software* informático específico.

3.7 INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE NA AUSÊNCIA DO PRETENSO PAI

A investigação de paternidade na ausência do pretense pai, que configura cerca de 5% do total das investigações de paternidade, é efetuada através do estudo dos familiares do pretense pai (Figura 4), recorrendo, frequentemente, ao estudo dos pretensos avós paternos, de outros filhos do pretense pai ou de irmãos do pretense pai. O cálculo estatístico será efetuado recorrendo a *software* específico, a analisar posteriormente.

Figura 4. Investigação de paternidade na ausência do pretense pai, representado por X, e recorrendo ao estudo de familiares paternos.

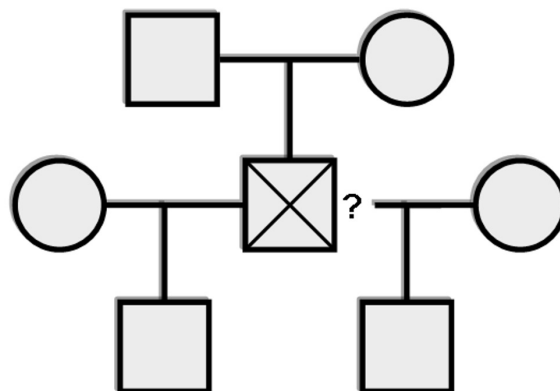
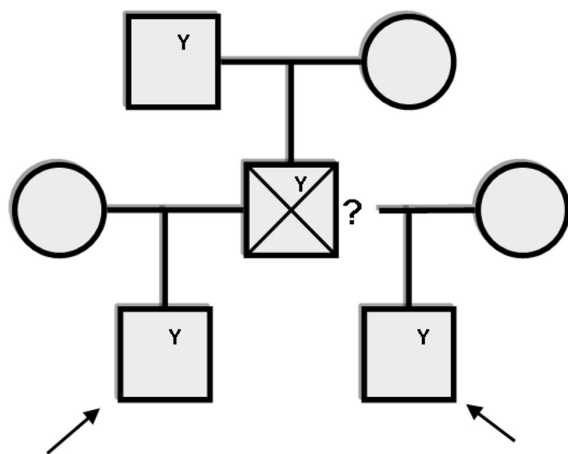


Figura 5 – Investigação de paternidade de pretensos irmãos consanguíneos, na ausência do pretenso pai biológico.



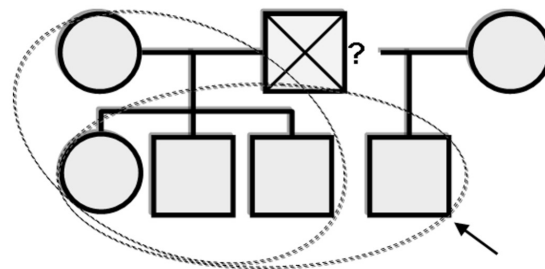
3.7.1 Estudo de pretensos irmãos consanguíneos

Uma das situações frequentemente solicitadas à Genética Forense, na ausência do pretenso pai, prende-se com a hipótese de dois indivíduos poderem ser irmãos consanguíneos, isto é, filhos do mesmo pai, mas de diferentes mães (Figura 5).

Em casos de filhos de sexo masculino, para além do estudo de STRs autossómicos, pode ser efetuado o estudo de Y-STRs, de modo a determinar se aqueles pertencem ou não à mesma linha paterna. No entanto, somente através dos STRs autossómicos é possível, na realidade, saber se os dois indivíduos, em estudo, são ou não irmãos consanguíneos.

De salientar que estes estudos podem, também, ser efetuados na ausência das respetivas mães, embora a determinação dos alelos que devem ser transmitidos pelo pai biológico sejam

Figura 6. Investigação de paternidade de pretensos irmãos consanguíneos, na ausência do pretenso pai biológico, recorrendo ao estudo de pretensos familiares paternos.



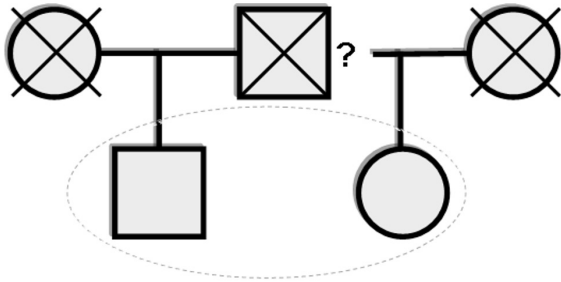
definidos, com maior precisão, com o estudo concomitante dos perfis genéticos mãe/filho, e posterior comparação dos alelos não partilhados.

Na Figura 6, encontra-se exemplificado outro caso de investigação de paternidade de pretensos irmãos consanguíneos, estando implicados outros familiares paternos, na ausência do pretenso pai, de modo a ser possível determinar se o pretenso pai ausente, pode ou não ser o pai biológico do filho assinalado na figura.

Este estudo pode ser realizado pela determinação dos perfis genéticos de todos os implicados para comparação, como os três filhos biológicos do indivíduo ausente e a mãe destes, ou no caso de não ser possível ter acesso a todos os familiares, pode, por exemplo, ser realizado somente com os pretensos irmãos, ou com um dos pretensos irmãos e a respetiva mãe.

Compreende-se, contudo, que quanto maior o número de familiares diretos para estudo genético,

Figura 7. Estudo de pretensos irmãos, sem hipótese de comparação com outros familiares.



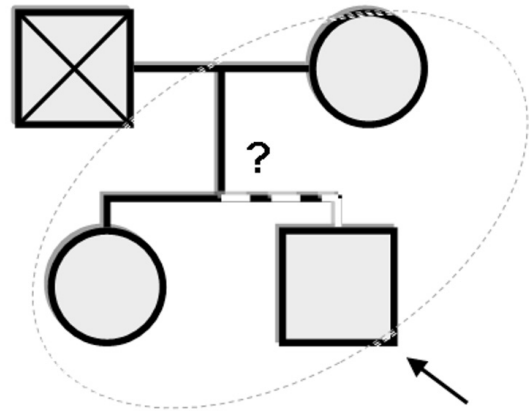
maior será a probabilidade de paternidade que pode ser obtida em casos incompletos, isto é, nos quais não é possível ter os perfis genéticos dos respetivos trios p.pai/mãe/filho(a) para estudo.

Mas uma investigação relativa a dois pretensos irmãos pode também ser efetuada recorrendo, somente, aos dois indivíduos para comparação (Figura 7). Diversos casos, nestas condições, são solicitados aos Laboratórios, como, por exemplo, o estudo de dois pretensos meios-irmãos adultos, sem hipótese de recurso a outros familiares, já falecidos, com o objetivo de averiguar a possibilidade de terem o mesmo pai, como meio de prova a apresentar em ação judicial de reconhecimento de paternidade.

3.7.2 Estudo de pretensos irmãos germanos

Mas os casos mais solicitados aos Laboratórios de Genética Forense, na ausência do pretenso pai, prendem-se com as situações como a exemplificada

Figura 8. Investigação de paternidade somente de um dos filhos, na ausência do pretenso pai.

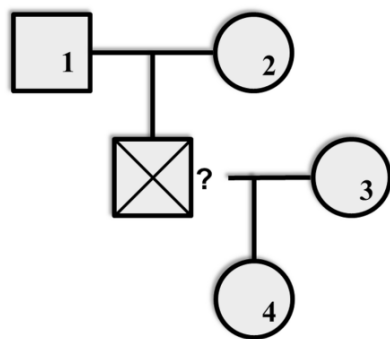


na Figura 8, em que se pretende averiguar a paternidade somente de um dos filhos, sendo que o pretenso pai se encontra ausente.

Encontrando-se estabelecida a maternidade dos dois filhos e a paternidade de um deles (neste caso da filha), pretende-se averiguar se o filho, em questão, pode ou não ter o mesmo pai biológico. Estes casos podem apresentar, consoante o perfil genético dos intervenientes, probabilidades da ordem de 99,999995% dos dois indivíduos terem o mesmo pai biológico, podendo ser considerados como irmãos germanos (verdadeiros).

Podem, também, ser solicitadas investigações relativas a problemas do foro da imigração, como, por exemplo, no pedido efetuado em relação a dois indivíduos de etnia africana, da hipótese de estes poderem ou não ser irmãos germanos. Efetuado o estudo dos respetivos perfis genéticos, e através do *software* específico para o estudo de relações de parentesco, foram

Figura 9. Investigação de paternidade na ausência do pretense pai biológico e com possibilidade de estudo dos pretendos avós paternos.



<i>Locus</i>	1. p.avô pat.	2. p.avô pat.	3. mãe	4. filha
D3S1358	15	14,18	16,18	15,16
TH01	7,8	8,9	7	7
D21S11	29,32.2	30,31.2	30	29,30
D18S51	12,14	13,14	12,16	13,16
PentaE	7,12	12,17	12,16	16,17
D5S818	11,13	11,12	12,13	12,13
D13S317	12	11,13	10,11	10,13
D7S820	10	10,11	10,11	10,11
D16S539	11	12	8,12	11,12
CSFIPO	10,12	10,14	10	10,14
PentaD	10,15	12,14	10,11	11,15
vWA	17,20	17	15	15,20
D8S1179	13	13	11,12	12,13
TPOX	8	9,10	9,12	8,12
FIBRA	22,23	20,21	19,21	19,21
D2S1338	17,23	23,24	16,2	20,23
D19S433	15	12,13	14,2	12,14,2

introduzidas as hipóteses de irmandade / ausência de relação de parentesco, verificando-se, para este caso, uma probabilidade de paternidade superior a 99,9% de os dois indivíduos serem irmãos verdadeiros.

3.7.3 Estudo de pretendos avós paternos

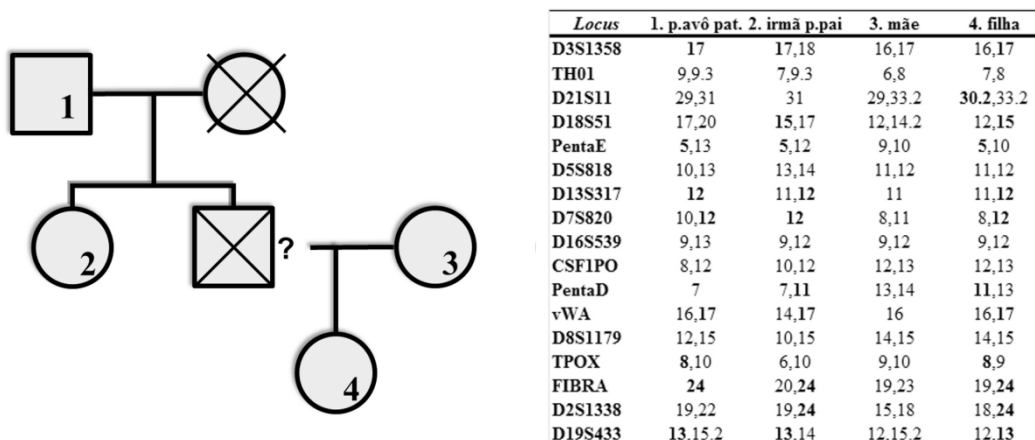
Um dos tipos de processos mais solicitados no caso da ausência do pretense pai, refere-se ao estudo de pretendos avós paternos e/ou de pretendos tios paternos, que configuram cerca de 70% das investigações de paternidade na ausência de pretense pai.

Nos casos de estudo dos pretendos avós paternos, será estudada a probabilidade de um filho dos pretendos avós paternos poder ser o pai biológico do indivíduo em investigação. Verifica-se na Figura 9, que os alelos não partilhados com a mãe, são detetados nos perfis genéticos do pretense avô paterno e/ou da pretense avó paterna.

De salientar que em vários *loci*, podem ser detetados os dois alelos nos pretendos avós: por exemplo, no *locus* D5S818, a mãe pode passar à filha o alelo 12 ou o alelo 13, sendo que ambos estes alelos se encontram presentes nos perfis dos pretendos avós. O mesmo acontece com o *locus* D7S820. Ao nível do Fibrá (FGA), em que o par mãe/filha apresenta o perfil 19,21, não se sabendo qual destes alelos será transmitido pela mãe, verifica-se que a pretense avó paterna apresenta o alelo 21, não havendo, portanto qualquer tipo de incompatibilidade neste estudo. Efetuado o cálculo estatístico correspondente, obteve-se, em relação à filha, uma probabilidade de paternidade de 99,82%, considerando, como pretense pai, um indivíduo filho dos pretendos avós.

Os perfis genéticos são efetuados, normalmente através do estudo de STRs autossómicos, podendo ser complementados com STRs do cromossoma Y, no caso do indivíduo em estudo ser

Figura 10. Investigação de paternidade, na ausência do pretense pai biológico, mas com possibilidade de estudo do pretense avô paterno e de uma irmã do pretense pai.



do sexo masculino, ou STRs do cromossoma X, no caso de ser do sexo feminino.

Do mesmo modo, outras investigações com pretensos familiares paternos, e na ausência do pretense pai, podem ser efetuadas, como exemplificado na Figura 10, com recurso ao estudo do pretense avô paterno e à irmã do pretense pai. Considerando o par mãe/filha como um par verdadeiro, todos os alelos não partilhados com a mãe, são provenientes do pai biológico.

Na maioria dos *loci*, os alelos não partilhados são detetados no pretense avô ou na irmã do pretense pai, alelos que neste caso foram transmitidos pela pretensa avó paterna. Em *loci*, como D21S11 e D5S818, não se observaram nenhum dos alelos que, necessariamente, são transmitidos pelo pai biológico — alelo 30.2 no *locus* D21S11 e alelos 11,12 no *locus* D5S818, sendo que estes alelos devem ter sido transmitidos pela pretensa avó.

Apesar de não serem observados todos os alelos da filha, esta situação não configura, por

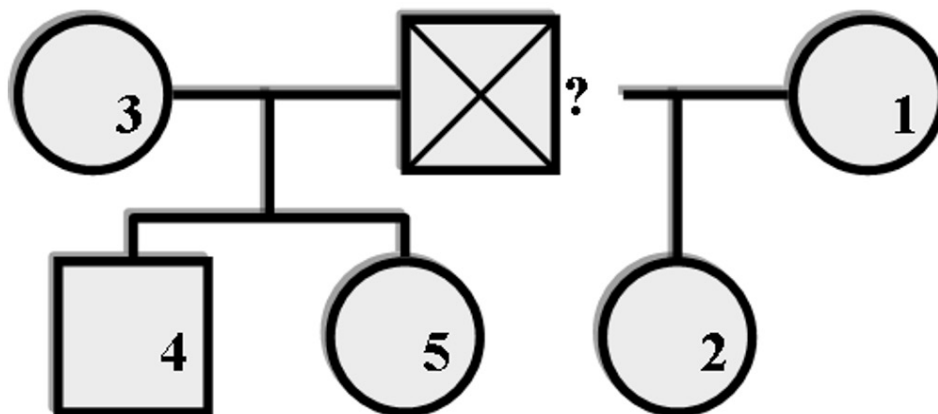
si, uma situação de incompatibilidade genética, pois este tipo de investigação não é efetuado num trio, mas sim num caso incompleto de parentesco.

O cálculo estatístico da probabilidade de paternidade, em relação à menor, de um indivíduo filho de 1 (pretense avô) e irmão de 2 (pretensa tia paterna) é de 99,75%, cálculo efetuado através de um programa estatístico de estabelecimento de parentesco.

4. FAMÍLIAS – SOFTWARE ESTATÍSTICO PARA RELAÇÕES DE PARENTESCO

Diversos programas informáticos são utilizados nos Laboratórios Forenses, quer para o estudo estatístico das relações de parentesco, quer para os cálculos estatísticos nos casos de identificação. De entre estes programas, o programa *Familias*, desenvolvido por Petter Mostad e Thore Egeland

Figura 11. Árvore genética para estudo da relação de parentesco.



do Centro Computacional Norueguês, em cooperação com Bjørnar Olaisen, Margrethe Stenersen e Bente Mevåg do Instituto de Medicina Forense de Oslo, tem sido um dos mais utilizados, ao nível dos Laboratórios Forenses, para a determinação dos cálculos de paternidade em casos incompletos e/ou complexos, nos quais se podem incluir os casos com incompatibilidades genéticas (Egeland et al., 2000).

Este *software* é usado, por exemplo, para o cálculo das probabilidades no caso de se conhecer o perfil genético dos intervenientes, pretendendo-se, porém, determinar a sua relação familiar. Dado um grupo de indivíduos para estudo, o cálculo estatístico é efetuado tendo por base as diversas árvores familiares (*pedigrees*), que podem ser estabelecidas, sendo conhecidos alguns dos perfis genéticos individuais. Para estes cálculos é fundamental o conhecimento da genética populacional, relativamente às frequências dos alelos dos diversos *loci* estudados. Deste modo, o programa

Familias indicará qual o *pedigree* mais provável, e qual a sua probabilidade de ocorrência, em comparação com os outros *pedigrees*.

O caso mais simples de estudo será, efetivamente, o estudo de um trio p.pai/mãe/filho(a), de modo a determinar se o indivíduo é ou não o pai biológico do filho/a. O programa irá calcular a hipótese do pretense pai ser na realidade o pai biológico, através do estudo dos perfis genéticos e introdução destes no programa informático. Nestes casos, haverá duas hipóteses alternativas, isto é, dois *pedigrees* alternativos — o indivíduo é o pai biológico *versus* o indivíduo não é o pai biológico.

Mas este programa torna-se mais aliciante, nas investigações complexas de parentesco, pois, nestes casos, os cálculos manuais seriam bastante complicados. Um exemplo destas situações é apresentado na Figura 11, em que o pretense pai faleceu, e pretende-se determinar se a filha (2) é ou não irmã consanguínea (meia-irmã) dos filhos do pretense pai, e portanto filha do pretense pai falecido.

Após o estudo do perfil genético de STRs autossómicos dos indivíduos implicados, introduzem-se os respetivos perfis no programa *Familias*, assim como a indicação das relações familiares estabelecidas e conhecidas: Carlota (1) é mãe da Maria (2); a Ana (3) é mãe do André (4) e da Luísa (5). Por outro lado, o André e a Luísa têm o mesmo pai biológico, o qual foi designado por Extramale 1, mas do qual não se conhece o perfil genético. O programa estabelecerá todos os *pedigrees* possíveis com os intervenientes para estudo, e indicará o valor da probabilidade obtido para cada *pedigree*, sendo então excluídos os *pedigrees* que não se relacionem com a hipótese de estudo em questão.

Assim, dos diferentes *pedigrees* desenhados pelo programa, pretende-se saber a hipótese de um indivíduo do sexo masculino, pai do André e da Luísa, ambos filhos da Ana, ser, também, o pai biológico da Maria, filha da Carlota (Tabela VIII).

Tabela VIII. *Pedigree* da relação familiar que se pretende estudar.

Pedigree: Ped32

Probability: **0,999275622022711**

Parent:	Child:
Carlota (1)	Maria (2)
ExtraMale1	Maria (2)
Ana (3)	Luísa (5)
ExtraMale1	Luísa (5)
Ana (3)	André (4)
ExtraMale1	André (4)

Um dos *pedigrees* dados pelo programa (Ped32) é, na realidade, a relação familiar que se pretende estabelecer, tendo-se obtido um valor

de probabilidade de 99,927%, para a hipótese de o pai do André e da Luísa ser, também, o pai da Maria, filha da Carlota, dada a base de dados populacional das frequências dos respetivos alelos STRs estudados neste caso.

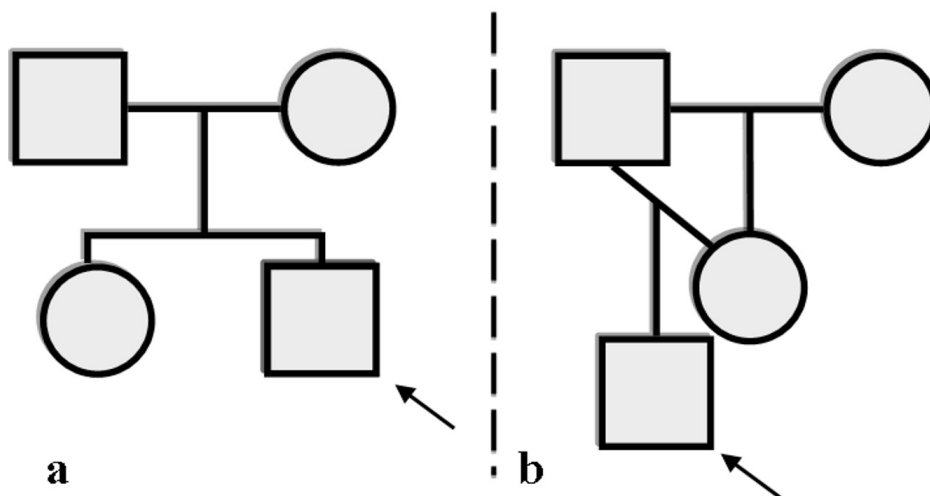
Os casos complexos de investigação de parentesco serão analisados com base no programa *Familias*, sendo que as investigações de paternidade simples, com base no estudo do trio p.pai/mãe/filho(a), podem, também, ser analisadas do mesmo modo, pois a base de dados de frequências alélicas de STRs será a mesma para os diversos tipos de investigação.

5. CASOS COMPLEXOS DE ESTABELECIMENTO DE PARENTESCO

As investigações de parentesco podem, por vezes, ter implicações sociais que extravasam o âmbito de um simples estabelecimento de parentesco. Algumas das solicitações efetuadas aos Laboratórios de Genética Forense prendem-se, por exemplo, com casos de imigração, que se podem tornar casos bastante complexos do ponto de vista social.

Mas outras situações existem, das quais os próprios meios de comunicação são eco, pela situação intrínseca aos mesmos. De entre os diversos exemplos que se podiam apontar, são apresentados dois casos: a) estabelecimento de parentesco entre recém-nascidos, com ausência de pai e mãe; b) hipótese de incesto, fenómeno que atualmente se tem verificado ser frequente, em vários países, e que tem uma repercussão social, não só sobre todos

Figura 12. Árvore genética para estabelecimento de maternidade (a); árvore genética após o estudo do perfil genético dos intervenientes (b).



os indivíduos implicados, como também na comunidade alvo.

No primeiro caso, dado o perfil genético de dois recém-nascidos, pode determinar-se, através do programa *Familias*, se estes têm algum tipo de relação de parentesco, tal como irmãos consanguíneos ou uterinos (meios irmãos), irmãos germanos (verdadeiros) ou se não têm nenhuma relação de parentesco.

Por outro lado, os casos de incesto solicitados para estudo podem ter diversas índoles. Num dos primeiros casos estudados pelo Laboratório, o Tribunal solicitava a investigação da hipótese de um menor ter sido concebido por uma relação de incesto pai/filha, sendo que o pai se encontrava ausente e o estudo só seria possível com base no perfil genético da avó, do tio do menor, da mãe e do menor. Com base nestes dados, foi possível reconstruir o perfil genético do pai da mãe, isto

é, avô do menor, e estudar o trio em questão — avô da menor (p.pai)/mãe/filho, tendo-se obtido uma probabilidade muito elevada do menor ter sido concebido através de uma relação de incesto pai/filha.

Outro tipo de investigação realizada, solicitava a confirmação da maternidade de um adolescente, sendo que os indivíduos enviados para estudo, referiam uma árvore genética como a apresentada na Figura 12.a.

Após os estudos genéticos efetuados, verificou-se a impossibilidade da árvore genética dada ser a verdadeira, pois o adolescente tinha como mãe a “própria irmã” (Figura 12.b). Este é mais um dos exemplos de casos de relações de incesto que vão sendo detetados e que fazem parte do tecido da nossa Sociedade, provocando danos psicológicos irreversíveis, em qualquer estrutura familiar e na comunidade envolvente.

6. COLHEITA E ENVIO DAS AMOSTRAS PARA ESTUDO

Relativamente à realização de perícias no INML, e de acordo com a legislação (Portaria n.º 522/2007, de 30 de Abril), os Serviços de Genética devem assegurar, entre outros, a realização de perícias e exames de investigação biológica de parentesco, no âmbito das atividades da delegação e dos Gabinetes Médico-Legais que se encontrem na sua dependência, a solicitação das autoridades e entidades para o efeito competentes e do Presidente do Conselho Diretivo.

Assim sendo, os Serviços de Genética recebem solicitações para a realização de perícias de investigação biológica de parentesco dos diversos serviços das delegações do INML (e.g. Patologia Forense, para identificação de desconhecidos), dos Gabinetes Médico-Legais e das Forças de Segurança, incluindo a Polícia Judiciária (nesse último caso, por exemplo, para averiguar a paternidade de menor cuja conceção possa ter sido fruto do crime de violação). O Ministério dos Negócios Estrangeiros pode, também, solicitar perícias de parentesco, em casos de pedidos de vistos para reunião familiar, mas, a maioria das perícias de investigação biológica de parentesco é solicitada pelos Tribunais, incluindo, principalmente, as averiguações oficiosas de paternidade.

Tal como nos restantes exames genéticos, a recolha, o acondicionamento e a preservação das amostras são fatores cruciais para a realização das perícias de investigação biológica de parentesco, pois se aquelas não forem corretamente executadas, o exame poderá ficar comprometido. Poderão mesmo não ser obtidos os perfis genéticos necessários para o estudo, mesmo que

tudo o trabalho seja realizado pelos melhores especialistas e usando as técnicas mais avançadas.

Como em qualquer outra perícia de investigação genética, a importância de uma adequada recolha e preservação de amostras na investigação biológica de parentesco não deve ser subestimada. Quer por questões de standardização das amostras, quer para tornar as perícias mais rápidas e o menos invasivas possível para os envolvidos, as amostras de referências utilizadas consistem, principalmente, em amostras de saliva, mais propriamente de células do epitélio da mucosa bucal, recolhidas com zaragatoa bucal e, sempre que possível, em amostras de sangue obtidas por punção digital.

O primeiro passo para a recolha de amostras consiste em identificar o(s) indivíduo(s) presente(s) a exame e obter o seu consentimento, por escrito, para a realização da perícia. Assim, é realizado um auto de identificação e colheita de amostras biológicas, o qual deverá ser dado a ler ao(s) interveniente(s) e após o seu consentimento, o mesmo deverá assinar em como autoriza a realização da recolha das amostras e a realização do respetivo exame.

Durante a recolha deve ser tido algum cuidado, quer para evitar a contaminação das amostras, quer para garantir a sua correta identificação e a manutenção da cadeia de custódia. As zaragatoas e os cartões para manchas de sangue devem ser devidamente identificados com o nome do interveniente do processo e o seu grau ou pretensão grau de parentesco genético (ex.: pretensão pai, mãe, avó materna, etc...), a data e hora da recolha e a assinatura do responsável pela mesma. Se possível, o número de processo também deve ser identificado.

Durante a recolha das amostras é de evitar a contaminação destas com outro material biológico. Para tal é aconselhado o uso de material descartável, como luvas de *latex*, tendo o cuidado de as mudar para a colheita de diferentes indivíduos.

Apesar da recolha das amostras propriamente dita ser uma operação muito simples, existem sempre algumas precauções que devem ser levadas em conta. A recolha de saliva é realizada pela passagem da zaragatoa bucal na parte lateral da cavidade bucal, sendo a zaragatoa pressionada, num movimento alternado de cima para baixo, entre 6 a 8 vezes, em cada um dos lados da cavidade bucal.

A recolha de amostra de sangue faz-se, normalmente, com recurso a punção digital, usando uma lanceta apropriada para o efeito, sendo depositada uma mancha de sangue em papel Whatman, especificamente desenvolvido para esse efeito. No caso de menores, até um ano de idade, a punção digital deve ser substituída pela punção da superfície plantar lateral ou medial do calcanhar, por esta ser uma área de menor risco para a criança.

Caso exista necessidade de preparar o transporte de amostras de referência, para enviá-las do ponto de recolha para o laboratório onde irá decorrer a análise, as amostras deverão ser mantidas em ambiente seco e se possível, frio, devendo ser enviadas com a maior brevidade possível.

7. SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE

Conscientes da necessidade de constante implementação de medidas destinadas a garantir e a melhorar a qualidade das suas atividades,

a maioria dos Laboratórios Forenses considera importante a comprovação da sua competência por uma terceira parte e de acordo com normas internacionais de referência, ou seja, a acreditação dos seus ensaios.

Esta decisão decorre do Council Framework Decision 2009/905/JHA, de 30 de Novembro de 2009, que estabelece a necessidade de acreditação dos serviços forenses que procedem a atividades laboratoriais. A acreditação deverá ser realizada pelo respetivo organismo nacional de acreditação, em Portugal, o Instituto Português de Acreditação, I.P. (IPAC).

O reconhecimento do impacto que os serviços prestados, pelos Laboratórios Forenses, tem para a Sociedade, em geral, encontra-se expresso na Decisão de 2009, que estabeleceu a obrigatoriedade, até 30 de Novembro de 2013, dos Laboratórios de Genética Forense da União Europeia procederem à acreditação dos ensaios de determinação de perfis de ADN.

Para a implementação da acreditação, os Laboratórios de Genética Forense, nomeadamente os Serviços de Genética e Biologia Forense do INML, I.P., entre outros, avançaram para a implementação de um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ), baseado na norma ISO/IEC 17025, com o qual se pretende assegurar a qualidade das atividades desenvolvidas e o cumprimento da legislação aplicável na área da Genética Forense. Este sistema apoia-se, entre outros, num conjunto de documentos, com os quais os Serviços documentam e organizam as suas atividades, baseando-se, quer nos mais recentes desenvolvimentos do conhecimento científico, quer na validação interna e externa (internacional) das metodologias usadas nos ensaios.

Existem cuidados específicos que devem ser tidos não só na realização dos exercícios interlaboratoriais mas, principalmente, na resolução de casos reais, tais como a determinação dos perfis genéticos em duplicado e a utilização de mais do que um sistema multiplex para a determinação de um perfil de ADN. Pretende-se, deste modo, um processo de segurança com o objetivo de impedir uma troca de amostras, a incorreta determinação de perfis genéticos a partir destas, um erro no próprio ensaio ou na transcrição dos seus resultados.

Como referido anteriormente, aquando da colheita de amostras de referência, nos casos de investigação biológica de parentesco, são, normalmente, colhidas duas amostras de natureza diferente. Estas serão, posteriormente, analisadas por dois técnicos diferentes, de modo a garantir que as amostras não sofram qualquer troca.

A norma 17025 impõe, também, participação internacional em exercícios interlaboratoriais, com os quais se pretende conhecer a capacidade do Laboratório para a resolução de determinado tipo de ensaio. Embora seja relativamente recente a decisão da União Europeia acerca da obrigatoriedade da adoção da norma ISO/IEC 17025 pelos Laboratórios Forenses, já desde 2002, que a Comissão de Testes de Paternidade da Sociedade Internacional de Genética Forense recomenda a adoção desta por parte dos laboratórios que fazem este tipo de perícias (Morling et al., 2002).

Também por isso, desde há alguns anos, que vários grupos de trabalho da Sociedade Internacional de Genética Forense, sendo de destacar o Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa (GHEP) e o Grupo de Trabalho de Língua Inglesa (ESWG), têm promovido, anualmente, a realização

de exercícios interlaboratoriais, os quais incluem uma prova de investigação de parentesco biológico, normalmente de maior complexidade que o simples caso envolvendo o trio p.pai/mãe/filho(a) (Hallenberg et al., 2001; Thomsen et al., 2009; Friis et al., 2009)

Nestes exercícios são testados, não só a capacidade técnica dos laboratórios na produção dos respetivos perfis genéticos dos indivíduos envolvidos, mas também a capacidade científica na resolução dos exercícios, pela determinação das relações de parentesco envolvidas e do cálculo das probabilidades de estas serem ou não verdadeiras.

Com esta atuação, os Laboratórios de Genética Forense conseguem garantir a manutenção das suas capacidades técnicas e científicas, bem como a qualidade dos ensaios e dos resultados apresentados nas perícias efetuadas.

8. PERSPETIVAS FUTURAS

O estudo do Genoma Humano, aprofundado pelos Projetos de Sequenciação, iniciados nos finais do século passado, permitiu a descoberta de novos marcadores genéticos de pequenas dimensões, mas com elevado potencial para diversas áreas da Genética (Venter et al., 2001), nomeadamente para a área forense.

De entre estes, os polimorfismos INDELS (de *INsertion/DEletion*, também designados por DIPs de *Deletion Insertion Polimorphisms*), mas, em especial, os SNPs (de *Single Nucleotide Polymorphisms*, polimorfismos de um único nucleótido), representam a classe mais abundante de polimorfismos humanos e têm sido alvo de um elevado número

de estudos. Para se perceber como estes marcadores são abundantes, foi inicialmente estimada a ocorrência de 1 SNP por cada 1000pb do genoma humano (Venter et al., 2001). Contudo, na base de dados de SNPs dbSNP, pode verificar-se que já se encontram descritos cerca de 20 milhões de SNPs, 18 milhões dos quais validados, número que, a ser validado, indica a possibilidade da existência de um SNP por cada 150pb (Phillips, 2009).

Estes marcadores genéticos, para além de serem muito abundantes no genoma, permitem facilidade na análise, pelo facto de, na sua grande maioria, serem marcadores bialélicos, isto é, possuírem apenas dois alelos. Tal acontece porque a sua taxa de mutação é muitíssimo baixa (10^{-8} vs. 10^{-3} nos STRs), sendo, em média, no caso dos SNPs, de uma mutação por cada 100 milhões de gerações (Butler, 2005). Assim, é extremamente improvável que duas mutações pontuais ocorram numa mesma posição.

Esta característica torna-os muito úteis na análise de casos em que existam incompatibilidades genéticas nos sistemas STRs autossómicos e em casos envolvendo indivíduos que não se encontram geneticamente próximos, como nos trios p.pai/mãe/filho. Quanto mais afastados geneticamente estiverem os indivíduos em estudo, maior será a probabilidade de terem ocorrido mutações nos sistemas STRs estudados, dando origem a incompatibilidades genéticas entre indivíduos. Estas incompatibilidades, a somarem ao já de si pequeno número de alelos partilhados entre indivíduos geneticamente afastados, pode dificultar a resolução do caso, tornando-o mesmo inconclusivo. A análise dos SNPs permitirá a obtenção de informação genética adicional.

Todavia, o facto de estes marcadores apresentarem uma baixa taxa de mutação, é também

responsável pela sua principal desvantagem relativamente aos STRs: são pouco polimórficos! Deste modo, para obter o poder discriminativo de 10-15 *loci* STR, para serem usados, por rotina, a nível laboratorial em investigação forense, serão necessários cerca de 50 a 100 SNPs com segregação independente, isto é, sem fenómenos de *linkage* (Gill, 2001; Amorim et al., 2005).

Em 2003, foi criado o Consórcio Internacional — SNPforID — com o objetivo de estudar e avaliar o uso de cerca de 50 *loci* SNP para análise forense, os quais teriam um poder de discriminação próximo dos 13 STRs do CODIS. Este Consórcio desenvolveu um multiplex de 52 SNPs (Sanchez et al., 2006), baseado na tecnologia SNaPshot, tendo sido validado para uso forense (Musgrave-Brown et al., 2007). Com base neste multiplex, foram efetuados vários estudos, quer com a totalidade dos 52 SNPs, quer apenas com alguns SNPs, verificando-se a utilidade destes na resolução de simples casos de paternidade, assim como em casos mais complexos (Ballard et al., 2009; Borsting et al., 2011; Borsting et al., 2008; Dario et al., 2009; Dario et al., 2011a; Dario et al., 2011b).

Também os INDELS demonstraram ser úteis na investigação de parentesco biológico (Friis et al., 2011; Neuvonen et al., 2011; Manta et al., 2012; Zidkova et al., 2011; Pereira et al., 2012), tendo para isso contribuído o multiplex Investigator DIPplex, recentemente comercializado, para determinação de um perfil genético destes marcadores (Pereira et al., 2009).

Os INDELS permitem a obtenção de fragmentos de ADN mais pequenos que os obtidos pela amplificação de *loci* STR, possibilitando melhores resultados a partir de amostras degradadas, como, por exemplo, de restos cadavéricos (Manta et al.,

2012; Romanini *et al.*), que, devido ao estado de degradação, podem não permitir a obtenção de um perfil genético de STRs para estudos de parentesco.

Contudo, o principal obstáculo à implementação da análise de marcadores bialélicos, na rotina forense, prende-se com o limitado número de marcadores possíveis de serem analisados, simultaneamente, com a tecnologia existente nos laboratórios, pois esta tecnologia permite a análise simultânea de poucas dezenas de SNPs, dificilmente ultrapassando a meia centena de marcadores, devido a questões técnicas.

Todavia, os SNPs podem ser analisados através de uma grande variedade de tecnologias de processamento em larga escala, com análise de dados automatizada, de dezenas, centenas, ou mesmo milhares destes marcadores, fornecendo um elevado poder de informação para análise genética, o que seria muito útil na investigação de parentesco biológico. Como exemplos, referem-se os equipamentos de *Microarrays* (*microchips*) e de espectroscopia de massa MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption/ Ionization Time-Of-Flight*).

Foi já realizado um estudo sobre o uso de SNPs, analisados com *microchips* de ADN, na investigação de um caso muito complexo de parentesco biológico, nomeadamente, na investigação de presumíveis primos em segundo grau (Lareu *et al.*). Este tipo de investigação, por recorrer a um elevado número de marcadores, dificilmente poderia ser realizado apenas através da análise de STRs, mesmo conjuntamente com os multiplex de SNPs e INDELS analisados por eletroforese capilar. Estas tecnologias dificilmente serão implementadas nos laboratórios forenses, pelo facto de serem tecnologias muito dispendiosas.

Por outro lado, o surgimento das novas tecnologias de sequenciação NGS (*Next Generation Sequence*) de segunda e terceira geração, de que são exemplos o 454 e o ION Torrent, respetivamente, permitem uma rápida sequenciação de grandes segmentos do genoma humano ou da sua totalidade, a custos cada vez menores. Deste modo, permitem a rápida determinação de um grande número de *loci* SNP, a partir dos quais se poderá obter um aumento no poder de análise genética nos casos de investigação biológica de parentesco (Berglund *et al.*, 2011).

Porém, existem ainda problemas que terão de ser ultrapassados para a utilização destas tecnologias, nomeadamente os problemas de análise estatística e informática, derivados de fenómenos de *linkage* entre SNPs que se encontrem próximos e os problemas tecnológicos e computacionais derivados da grande quantidade de ADN a analisar e da ainda elevada taxa de erro na leitura da sequenciação do ADN (Berglund *et al.*, 2011).

Apesar dos SNPs e dos INDELS não virem a substituir os STRs, pelo menos nos tempos mais próximos, estes marcadores, assim como as tecnologias desenvolvidas nos últimos anos para a sua deteção e análise, poderão vir a desempenhar, no futuro, um papel fundamental nas perícias mais complexas de investigação biológica de parentesco.

9. CONCLUSÃO

As perícias de investigação biológica de paternidade, no caso dos trios p.pai/mãe/filho(a), são realizadas nos Laboratórios de Genética Forense, essencialmente, através do estudo de 15 ou 17

STRs pelos sistemas PowerPlex® 16 (/HS) System e/ou AmpFℓSTR® Identifiler® (/Direct/Plus).

Embora estes sejam os casos mais comuns, são, também, solicitadas investigações biológicas de paternidade em casos com dois ou mais pretensos pais, ou com dois ou mais pretensos filhos, sendo que, também nestes casos, a base de estudo será sempre o trio p.pai/mãe/filho(a).

Mas nem sempre há a possibilidade do estudo de um trio, pelo que as investigações serão de casos incompletos, o que muitas vezes torna os casos bastante mais complexos. Nestas situações, recorre-se à investigação de paternidade com familiares do pretenso pai, o que levará ao estudo dos pretensos avós, de pretensos tios ou de filhos do pretenso pai, com possibilidade ou não do estudo das respetivas mães.

Mas a realidade com que o Laboratório se depara, por vezes, é bastante complexa, e embora dispondo de tecnologia adequada para as investigações biológicas de parentesco, pode ser necessário proceder a novas avaliações dos dados familiares fornecidos ao Laboratório. Em certas situações, por impossibilidade de estudo dos familiares do pretenso pai falecido, pode, por ordem do Tribunal, ter de se proceder à exumação do cadáver para recolha de material biológico disponível (ossos, dentes), de modo a realizar uma investigação de paternidade direta.

Embora os 17 STRs autossómicos sejam os marcadores, por excelência, para este tipo de investigações, por vezes, em casos mais complexos, pode ser necessário aumentar o número destes marcadores, recorrendo a outros sistemas multiplex utilizados nas perícias forenses - AmpFℓSTR® NGM™, um multiplex de nova geração, complementado com o sistema PowerPlex® SE.

Por outro lado, todos os Laboratórios de Genética Forense possuem idêntica tecnologia, necessária para o estudo daqueles marcadores, o que facilitará o intercâmbio de dados do ponto de vista nacional e internacional, mesmo neste tipo de investigações.

Porém, podem, também, ser utilizados, em investigações biológicas de parentesco mais complexas, outros marcadores genéticos. Consoante o caso, pode recorrer-se ao estudo de Y-STRs para estabelecimento da linha paterna, ao estudo de ADN mitocondrial no caso de ser necessário o estabelecimento da linha materna ou, em casos especiais, ao estudo dos STRs do cromossoma X, que são passados intactos de pais para filhas, podendo, assim, estabelecer-se uma hipótese de relação de irmandade.

Os SNPs autossómicos que usam a tecnologia de sequenciação e determinação de perfis de STRs, são os marcadores que, atualmente, começam a ser utilizados, com muito êxito na prática forense, assim como o estudo de INDELS, para complementar investigações complexas de parentesco.

Têm, também, sido implementadas bases de dados populacionais de perfis genéticos de STRs para estudo das respetivas frequências alélicas, a aplicar nos cálculos estatísticos realizados através do programa *Familias*, considerando a dinâmica populacional do respetivo Laboratório, que varia, consoante o fluxo populacional imergente e emergente, que se vai estabelecendo a nível das diversas Comunidades.

O surgimento das novas tecnologias de sequenciação NGS (*Next Generation Sequence*) de segunda e terceira geração, como o 454 e o ION Torrent, respetivamente, irão permitir uma

rápida sequenciação de grandes segmentos do genoma humano, a custos cada vez menores, o que contribuirá para aumentar o poder de análise genética nos casos de investigação biológica de parentesco.

BIBLIOGRAFIA

- Amorim, A. e Pereira, L. (2005). Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: a comparative analysis with STRs. *Forensic science international* 150 (1), 17-21.
- Ballard, D. J., Musgrave-Brown, E., Khan, L., Harrison, C., Phillips, C., Thacker, C. R. e Court, D. S. (2009). Supplementary markers for deficient immigration cases: Additional STRs or SNPs? *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2* (1), 153-154.
- Berglund, E. C., Kiiialainen, A. e Syvanen, A. C. (2011). Next-generation sequencing technologies and applications for human genetic history and forensics. *Investigative Genetics*, 2, 23.
- Borsting, C. e Morling, N. (2011). Mutations and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary markers. *Forensic Science International: Genetics* 5 (3), 236-241.
- Borsting, C., Sanchez, J. J., Hansen, H. E., Hansen, A. J., Bruun, H. Q. e Morling, N. (2008). Performance of the SNPforID 52 SNP-plex assay in paternity testing. *Forensic Science International: Genetics*, 2 (4), 292-300.
- Butler, J. M. 2005. *Forensic DNA Typing - Biology, Technology, and Genetics of STR Markers*: Elsevier Academic Press. Código Civil Português. Diário da República.
- Dario, P., Ribeiro, T., Dias, D., Corte-Real, F. e Geada, H. (2011a). Complex casework using single nucleotide polymorphisms. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 3 (1), e379-e380.
- Dario, P., Ribeiro, T., Espinheira, R. e Geada, H. (2009). SNPs in paternity investigation: The simple future. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2 (1), 127-128.
- Dario, P., Ribeiro, T., Espinheira, R., Dias, D., Geada, H. e Corte-Real, F. (2011b). 20 SNPs as supplementary markers in kinship testing. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 3 (1), e508-e509.
- Egeland, T., Mostad, P. F., Mevag, B. e Stenersen, M. (2000). Beyond traditional paternity and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic science international*, 110 (1), 47-59.
- Friis, S. L., Borsting, C., Rockenbauer, E., Poulsen, L., Fredslund, S. F., Tomas, C. e Morling, N. (2011). Typing of 30 insertion/deletions in Danes using the first commercial indel kit-Mentype((R)) DIPplex. *Forensic Science International: Genetics*.
- Friis, S. L., Hallenberg, C., Simonsen, B. T. e Morling, N. (2009). Results of the 2009 Paternity Testing Workshop of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2, 91-92.
- Geada, H. e Flores, M. (1990-91). Exames de Sangue e Estabelecimento da Paternidade. Textos. Centro de Estudos Judiciários.
- Geada, H., Ribeiro, T., Brito, R. M., Espinheira, R., Rolf, B., Hohoff, C. e Brinkmann, B. (2001). A STR mutation in a heteropaternal twin case. *Forensic science international*, 123 (2-3), 239-242.
- Gill, P. (2001). An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. *International Journal of Legal Medicine* 114 (4-5), 204-210.
- Gjertson, D. W., Brenner, C. H., Baur, M. P., Carracedo, A., Guidet, F., Luque, J. a., Lessig, R., Mayr, W. R., Pascali, V. L., Prinz, M. et al. . (2007). ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Science International: Genetics*, 1, 223-231.
- Hallenberg, C. e Morling, N. (2001). A report of the 1997, 1998 and 1999 paternity testing workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic science international*, 116, 23-33.
- Jeffreys, A. J., Brookfield, J. F. e Semeonoff, R. (1985). Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature*, 317 (6040), 818-819.
- Landsteiner, K. e Levine, P. (1928). On individual differences in human blood. *Journal of Experimental Medicine*, 47 (5), 757-775.

- Lareu, M. V., García-Magariños, M., Phillips, C., Quintela, I., Carracedo, Á. e Salas, A. Analysis of a claimed distant relationship in a deficient pedigree using high density SNP data. *Forensic Science International: Genetics* (em impressão).
- Manta, F., Caiafa, A., Pereira, R., Silva, D., Amorim, A., Carvalho, E. F. e Gusmao, L. (2012). Indel markers: Genetic diversity of 38 polymorphisms in Brazilian populations and application in a paternity investigation with post mortem material. *Forensic Science International: Genetics*.
- Morling, N., Allen, R., Carracedo, A., Geada, H., Guidet, F., Hallenberg, C., Martin, W., Mayr, W. R., Olaisen, B., Pascali, V. *et al.* . (2002). Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics. Recommendations on genetic investigations in paternity cases. *Forensic science international*, 129, 148-157.
- Musgrave-Brown, E., Ballard, D., Balogh, K., Bender, K., Berger, B., Bogus, M., Borsting, C., Brion, M., Fondevila, M., Harrison, C. *et al.* . (2007). Forensic validation of the SNPforID 52-plex assay. *Forensic Science International: Genetics*, 1 (2), 186-190.
- Neuvonen, A. M., Palo, J. U., Hedman, M. e Sajantila, A. (2011). Discrimination power of Investigator DIPplex loci in Finnish and Somali populations. *Forensic Science International: Genetics*.
- Oliveira, G. d. (1983). Critério Jurídico da Paternidade (Tese de Doutorado). Coimbra: Universidade de Coimbra.
- Pereira, R. e Gusmao, L. (2012). Capillary electrophoresis of 38 noncoding biallelic mini-Indels for degraded samples and as complementary tool in paternity testing. *Methods in Molecular Biology*, 830, 141-157.
- Pereira, R., Phillips, C., Alves, C., Amorim, A., Carracedo, A. e Gusmao, L. (2009). A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. *Electrophoresis*, 30 (21), 3682-3690.
- Phillips, C. (2009). SNP databases. In Komar, A. A., (Ed.), *Methods in Molecular Biology*. (pp. 43-71). Clifton, N.J.: Wiley Online Library.
- Romanini, C., Catelli, M. L., Borosky, A., Pereira, R., Romero, M., Salado Puerto, M., Phillips, C., Fondevila, M., Freire, A., Santos, C. *et al.* . Typing short amplicon binary polymorphisms: Supplementary SNP and Indel genetic information in the analysis of highly degraded skeletal remains. *Forensic Science International: Genetics* (em impressão).
- Sanchez, J. J., Phillips, C., Borsting, C., Balogh, K., Bogus, M., Fondevila, M., Harrison, C. D., Musgrave-Brown, E., Salas, A., Syndercombe-Court, D. *et al.* . (2006). A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification. *Electrophoresis* 27 (9), 1713-1724.
- Santos, H. G., Pereira, A. G. D. e Vieira, L. M. (2010). Normas de bioética e questões jurídicas na realização de testes de paternidade fora de um processo judicial em Portugal Parecer da Comissão de Bioética da Sociedade Portuguesa de Genética Humana (SPGH).
- Thomsen, A. R., Hallenberg, C., Simonsen, B. T., Langkjaer, R. B. e Morling, N. (2009). A report of the 2002-2008 paternity testing workshops of the English speaking working group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Science International: Genetics*, 3, 214-221.
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., Holt, R. A. *et al.* . (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291 (5507): 1304-1351.
- Zidkova, A., Horinek, A., Kebrdlova, V. e Korabecna, M. (2011). Application of the new insertion-deletion polymorphism kit for forensic identification and parentage testing on the Czech population. *International Journal of Legal Medicine* (em impressão).

Capítulo 5

ALGUNS CONCEITOS DE GENÉTICA POPULACIONAL
COM RELEVÂNCIA EM GENÉTICA FORENSE

Luís Souto

Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

CENCIFOR - Centro de Ciências Forenses

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_5](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_5)

RESUMO

A Genética Forense não faz sentido sem a Genética das Populações, pois é nesse ramo da Biologia que radica a validade da aplicação das suas metodologias. A amostra forense ao ser analisada revela uma informação que tem que ser enquadrada no contexto de uma população à qual pertencerá o indivíduo ou indivíduos que produziram uma tal amostra, seja ela de referência (para comparação) ou a *amostra-problema* de um caso. Atribuir um maior ou menor peso à informação obtida analiticamente implica a compreensão de alguns princípios basilares da genética populacional entre os quais o de Hardy-Weinberg, as causas de desvios a esse princípio e as formas de o detetar.

PALAVRAS-CHAVE

Genética forense; genética populacional; Hardy-Weinberg.

SUMMARY

Forensic Genetics makes no sense without the Population Genetics, because it is the branch of biology where lies the validity of the application of its methodologies. The forensic sample analysis reveals information that has to be framed in the context of a population to which belong the individual or individuals who have produced such a sample, either reference (for comparison) or unknown samples. Assign a greater or smaller weight to information obtained analytically implies the understanding of some basic principles of population genetics including the Hardy-Weinberg, the causes of deviations from this principle and ways to their detection.

KEYWORDS

Forensic genetics; Population genetics; Hardy-Weinberg.

1. INTRODUÇÃO

1.1 DE VOLTA AOS GRUPOS SANGUÍNEOS

A noção de “grupo sanguíneo”, a percepção de que podemos agrupar os humanos de acordo com a sua pertença a uma determinada classe dita pelo seu grupo A, B, AB ou O (ou ainda Rh + ou Rh -) é algo (quase) do domínio do cidadão comum. Talvez menos popular será a noção de que essas classes não ocorrem com igual frequência, que há tipos sanguíneos mais raros e outros “vulgares”.

Na verdade há muito que são reconhecidas as diferenças na frequência destas classes e o padrão de distribuição é variável de população para população. A título de exemplo, compare-se a distribuição do sistema ABO para a população portuguesa e chinesa:

Tabela 1 – Distribuição dos Grupos Sanguíneos (sistema ABO) em duas populações, portuguesa e chinesa (em percentagem)

	A	O	B	AB
Portugal ¹	47	42	8	3
China (Han) ²	29	28	34	9

Este exemplo permite-nos elucidar dois pontos: primeiro, existem pesos diferentes a atribuir à informação obtida do marcador “grupo sanguíneo”. Por exemplo, em Portugal, uma coincidência de resultado em que a amostra-problema tem o grupo AB e um dado suspeito tenha também esse grupo AB, tem um peso muito superior ao que

teria uma conjugação de resultados em que um suspeito e amostra-problema são identificados como pertencentes ambos ao grupo A, dada a “raridade” do grupo AB na população portuguesa.

Por outro lado o exemplo mostra-nos ainda que não é indiferente considerarmos nessa ponderação, a origem étnica ou a população de referência de suspeito e amostra-problema.

Atualmente os grupos sanguíneos, que estão na base da genética forense, estão afastados da panóplia de marcadores polimórficos em uso pelos laboratórios qualificados. Hoje são os vários “polimorfismos de ADN”, com relevo para os microsatélites (ou STRs, do inglês, *Short Tandem Repeats*), os marcadores-padrão. Isto não invalida que os grupos sanguíneos possam ser eles próprios “marcadores de ADN”, tudo depende do nível de análise.

A determinação dos grupos sanguíneos ABO (ou Rh) feita pelas tradicionais reacções de antígeno-anticorpo, enquadra-se no que em genética chamamos de *Fenótipo*, ou seja aquilo que é expresso, que resulta de um produto celular (geralmente uma proteína). Já quando se trata dos “polimorfismos de ADN”, estamos a pretender analisar informação contida no próprio ADN sem que esteja em causa a produção de algo detetável (uma proteína), situamo-nos no âmbito do *Genótipo*. Esta perspetiva é no entanto uma simplificação. O genótipo não determina por si só totalmente o fenótipo. Desde que se obteve a sequenciação do genoma humano em 2001 que as estimativas do número de genes para a espécie humana revelaram uns “humildes” 20 000 a 25 000 genes³

¹ Distribuição para Portugal continental, arredondada à unidade para efeitos comparativos. Fonte: Duran, (2007).

² Zhu, et al. (2010).

³ Não há um número certo para a contagem de genes, mesmo com os dados mais refinados sobre a sequenciação do genoma. O leitor mais interessado sobre este tópico pode consultar Perlea e Salzberg (2010).

(contra cerca de 30 000 da videira por exemplo). Esta constatação abriu novas e entusiasmantes avenidas de pesquisa laboratorial e até de reflexão filosófica, a ponto de alguns falarem mesmo num “eclipse do dogma genótipo-fenótipo” (Lock e Nguyen 2010).

Em genética forense, não se pesquisa a informação genética, genótipos que possam permitir inferir fenótipos (como doenças, características físicas etc). No entanto este é também um “dogma” em vias de desconstrução. Por outro lado, enquanto no caso dos grupos sanguíneos, algumas variantes dos genes (os *Alelos*) dominam sobre outras, (dominância/recessividade), nos polimorfismos do ADN como os microssatélites, a informação que recebemos por via paterna (alelo paterno) e por via materna (alelo materno) têm a mesma “força”, situação já anteriormente conhecida como alelos codominantes.

Fiquemos porém no âmbito deste texto, no contexto dos marcadores polimórficos codominantes e sem (pelo menos aparente) relação com a expressão fenotípica de características, ou seja no contexto da definição da Lei nº 5/2008⁴.

2. AS FREQUÊNCIAS DOS ALELOS E DOS GENÓTIPOS: O EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Um dos princípios mais importantes em genética de populações, o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi curiosamente descoberto em

simultâneo por um matemático inglês e um médico alemão, de forma independente, em 1908. Esse princípio estabelece a constância das frequências dos alelos e dos genótipos, geração após geração, sob determinados pressupostos (particularmente exigentes) e permite, no caso particular da genética forense, assumir a independência estatística usada nos cálculos com perfis genéticos, nomeadamente quando existe uma coincidência de perfis.

É também a observância desse princípio que permite que um geneticista forense utilize as tabelas de frequências (génicas e genotípicas) publicadas para a população de referência. De contrário, haveria necessidade de realizar uma amostragem a cada determinação, o que não faria sentido.

As frequências genotípicas podem ser previstas a partir das frequências alélicas, pressupondo o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Um caso de suposta violação na ilha de *Lupagaso*

Consideremos um caso forense de violação numa ilha em que foi analisado um marcador STR hipotético, o D007.

D007 é um sistema pouco polimórfico, uma vez que apenas tem dois alelos possíveis: 2 unidades de repetição (alelo 2) ou 4 unidades de repetição (alelo 4):

Alelo 2: GATA GATA

Alelo 4: GATA GATA GATA GATA

Consideremos então a seguinte tabela de resultados obtidos após genotipagem do marcador D007 nas amostras do caso:

⁴ A Lei N°5/2008 de 12 de Fevereiro. Lei que aprova a criação de uma base de dados de perfis de ADN para fins de identificação civil e criminal, na alínea e) do artigo 2°.

Tabela 2 – Genotipagens no marcador D007 numa violação em *Lupagaso*.

Amostra	Genótipo no marcador D007
Zaragatoa poscoital	2 – 4
Vítima	4 – 4
Suspeito	2 – 2

Parece óbvia a “incriminação” do suspeito dado que, sendo a vítima homocigótica para o alelo 4, a presença do alelo 2 na zaragatoa poscoital não só é compatível com o genótipo identificado no suspeito como, sendo este homocigótico para esse alelo, essa informação se traduz num peso acrescido.

Torna-se porém imperativo avaliar até que ponto é frequente encontrar esse alelo 2 na população de referência, neste caso a população residente em *Lupagaso*.

Os cientistas recorrem a tabelas de frequências obtidas previamente através da genotipagem de amostras representativas e formadas aleatoriamente, sem qualquer grau de parentesco entre os indivíduos.

Consultada a tabela de distribuição de frequências para o sistema D007, encontra-se um valor de $p = \text{frequência do alelo 2} = 0.02$ e de $q = \text{frequência do alelo 4} = 0.98$.

Desde logo constatamos a raridade do alelo 2. Aliás essa variante encontra-se no limiar mínimo para que seja considerado um alelo e não uma mutação (frequência superior a 1 %).

Os valores das frequências alélicas como vemos, têm uma importância decisiva na forma como valoramos a informação (laboratorial) das genotipagens obtidas.

Importa agora esclarecer como se podem obter essas frequências alélicas inscritas nas referidas tabelas de frequências.

2.1. CONTAGEM DE GENES

Consideremos agora que se pretende conhecer a distribuição do nosso marcador hipotético D007 na população da ilha (hipotética também) de *Lupagaso*. Para tal os cientistas genotiparam um número de 100 de indivíduos cujos resultados se encontram na tabela:

Tabela 3 – Genotipagem de 100 indivíduos no sistema D007 na população da ilha de *Lupagaso*

	Genótipos			Totais
	2 - 2	2 - 4	4 - 4	
Número de Indivíduos	30 (N_{2-2})	60 (N_{2-4})	10 (N_{4-4})	100
Frequência dos genótipos em F0	0.30	0.60	0.10	1

Podemos calcular as frequências dos alelos 2 (p) e alelo 4 (q) pela contagem de genes:

Cada indivíduo com genótipo 2 – 2 produz potencialmente dois gâmetas com alelo 2 (uma vez que quer no cromossoma de origem paterna quer no de origem materna a informação é a mesma); cada indivíduo com genótipo 2 – 4 apenas tem o potencial de transmitir um alelo 2 (e um alelo 4); cada indivíduo com genótipo 4 – 4 tem o potencial de produzir dois gâmetas com alelo 4.

Por outro lado, num sistema bialélico como D007, cada indivíduo tem o potencial de transmissão de dois alelos (quaisquer que eles sejam), logo para N indivíduos temos 2N alelos.

Ou seja, contando os genes a partir dos genótipos observados teremos:

$$p = \text{Frequência do alelo 2} = \text{Contagem genes 2} = (2N_{2-2} + N_{2-4}) / 2N$$

$$q = \text{Frequência do alelo 4} = \text{Contagem genes 4} = (2N_{4-4} + N_{2-4}) / 2N$$

[Expressão 1]

Podemos rearranjar matematicamente a expressão 1...

$$p = 2N_{2-2} / 2N + N_{2-4} / 2N$$

$$p = 2N_{4-4} / 2N + N_{2-4} / 2N$$

[Expressão 2]

Reconhecendo agora na expressão 2 as frequências dos genótipos f (2-2), f (2-4) e f (4-4) poderemos usar as frequências relativas de cada

genótipo observado para determinar a frequência alélica:

$$p = f(2-2) + f(2-4) / 2$$

$$q = f(4-4) + f(2-4) / 2$$

[Expressão 3]

Aplicando ao exemplo da Tabela 3 obtém-se então a seguinte estimativa das frequências alélicas na geração F0 pela contagem génica:

$$p = \text{Frequência do alelo 2} = (30/100) + \frac{1}{2} (60/100) \\ p = 0.60$$

$$q = \text{Frequência do alelo 4} = (10/100) + \frac{1}{2} (60/100) \\ q = 0.40$$

A soma das duas frequências, como temos apenas dois alelos neste sistema hipotético, será $p + q = 1$.

A metodologia exposta é conhecida como contagem de genes e é o método corrente, sobretudo a partir do momento em que a genética forense passou a utilizar marcadores codominantes em que todos os genótipos são identificáveis tecnicamente, não havendo alelos “escondidos”, ou seja recessivos, que não se expressam e outros dominantes, que mascaram a manifestação dos recessivos.

Os valores das frequências alélicas obtidos por esta contagem de genes, a partir dos genótipos observados, constituem uma *estimativa* para as frequências alélicas e genotípicas da população e não o valor real dos *parâmetros* na população. Esta é uma noção fundamental neste contexto.

Sem nos determos na complexidade do tema, importa realçar que não há um método único para estimar as frequências génicas e podemos obter por exemplo três estimativas de frequências baseando-nos numa mesma amostra da população. À medida que o tamanho da amostra aumenta e se aproxima do tamanho da população, as frequências dos genótipos observados irão ser tendencialmente mais próximas das verdadeiras frequências na população e independentemente do método utilizado para estimar, a frequência génica assim calculada será próxima da frequência génica real na população.

Estes desenvolvimentos mostram claramente a diferença entre estimativas das frequências (na prática o que é viável obter com amostragem necessariamente finita) e as (verdadeiras) frequências génicas e genotípicas na população em estudo.

É demonstrável que o método de contagem de genes pode ser considerado como uma “estimativa natural” o que em termos estatísticos será contextualizado no quadro dos métodos de estimativa por *Máxima Verosimilhança* (ML).

O método de Máxima Verosimilhança em Estatística é uma das (várias) estratégias de estimação de parâmetros, com larga aplicação, mas outras existem entre as quais as abordagens *bayesianas* que alguns autores defendem como mais apropriadas por acolherem a possibilidade de alelos não previstos.

Utilizando uma abordagem como a contagem de genes (ou máxima verosimilhança) obtemos um *estimador pontual*, ou seja um valor específico para estimativa do verdadeiro valor do parâmetro populacional. Precisamos ainda de uma ferramenta estatística que permita avaliar a qualidade da nossa estimativa e isso pode conseguir-se com recurso a intervalos de confiança, cuja

metodologia de cálculo admite por si também distintas abordagens.

Cada vez que efetuarmos uma nova amostragem, um novo estudo genético-populacional em *Lupagaso* (ou... em Timor-Leste ou Portugal) iremos encontrar amostras com características diferentes e obteremos novos valores de estimativa das frequências, pelo que a estimativa, como se compreende, está associada a determinada incerteza.

Se p a verdadeira frequência de um alelo A , a variância da frequência alélica estimada pelo método de contagem génica é dada pela expressão $p(1-p) / (2n)$, sendo n o tamanho da amostra. O desvio padrão é por sua vez a raiz quadrada da variância.

O intervalo de confiança de 95% para o verdadeiro valor da frequência alélica p é cerca de duas vezes o valor do desvio padrão em cada lado do intervalo. Quanto maior a amostragem (n) menor serão variância e desvio padrão e mais precisa será a estimativa obtida para uma dada frequência alélica, algo que conhecemos em múltiplas aplicações da Estatística.

Se o cálculo das frequências génicas e genotípicas relevante para a genética forense, persiste discussão científica em torno da pertinência da inclusão dos intervalos de confiança no reporte da informação ao poder judicial⁵.

2.2. EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Podemos então considerar que os dois alelos 2 e 4 do sistema D007 se juntarão aleatoriamente

⁵ A este propósito consulte-se Charles Brenner em <http://dna-vie.com/noconfid.htm#challenge>.

e com as proporções definidas pelas frequências p e q respetivamente.

Na situação de um organismo diplóide (ou seja com dois conjuntos de cromossomas homólogos, um de origem paterna e outro de origem materna) como é o caso da espécie humana, num sistema bi-alelício, com dois alelos com frequências p e q , podemos recorrer a um tradicional “quadrado de Punnet”, um diagrama onde se equacionam todas as possibilidades de combinações entre os gâmetas (paterno e materno) e os respetivos resultados probabilísticos.

Note-se que o entendimento do quadrado de Punnet se baseia num princípio da estatística segundo o qual a probabilidade de dois acontecimentos simultâneos e não mutuamente exclusivos se obtém pela multiplicação das probabilidades de cada um desses acontecimentos independentes.

Tabela 4 -Quadrado de Punnet para um sistema bialélico com dois alelos 2 e 4 com frequências p e q respetivamente na geração inicial F0. A sombreados os genótipos esperados pelas diferentes combinações alélicas na geração F1

		Gâmetas masculinos (espermatozóides)	
		Alelo 2 (p)	Alelo 4 (q)
Gâmetas femininos (ovócitos)	Alelo 2 (p)	2-2 (p^2)	2-4 (pq)
	Alelo 4 (q)	2-4 (pq)	2-4 (q^2)

Seguindo a Tabela 4, espermatozóides com o alelo 2, têm probabilidade p , igual à frequência desse alelo na população, de fecundar ovócitos com probabilidades p e q respetivamente, consoante estes ovócitos tenham o alelo 2 ou 4.

Teremos para as frequências dos vários genótipos possíveis (frequências genotípicas esperadas na geração F1) respetivamente:

$$f(\text{Alelo 2- Alelo 2}) = p^2$$

$$f(\text{Alelo 2- Alelo 4}) = 2pq$$

$$f(\text{Alelo 4- Alelo 4}) = q^2$$

A matemática reconhece estas quantidades como a expansão binomial $(p+q)^2$, cuja soma é a unidade.

$$\text{Ou seja: } (p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1.$$

A expressão binomial permite prever as frequências dos vários genótipos (frequências genotípicas) numa dada geração a partir das frequências p e q dos gâmetas produzidos pela geração anterior. A distribuição binomial, em termos da estatística, é um caso particular da “distribuição multinomial”, que descreve a probabilidade de obter uma amostra com um número determinado de objetos em cada uma de diversas classes, o que na binomial se traduz em duas classes.

Voltando ao exemplo considerado e substituindo p e q , pelos respetivos valores teríamos as frequências genotípicas esperadas na geração seguinte (geração F1):

$$f(\text{Alelo 2 /Alelo2}) = p^2 = (0.6)^2 = 0.36$$

$$f(\text{Alelo 2 /Alelo 4}) = 2pq = 2 \times 0.6 \times 0.4 = 0.48$$

$$f(\text{Alelo 4 / Alelo 4}) = q^2 = (0.4)^2 = 0.16$$

Aplicando estas frequências a uma nova amostra de 100 indivíduos da nossa ilha de *Lupagaso*, teríamos agora os seguintes valores esperados para os três genótipos:

Tabela 5 – Frequência esperada dos vários genótipos na geração F1.

Genótipos do sistema D007	Frequência Esperada
2-2	36
2-4	48
4-4	16

Segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg estas frequências genotípicas obtidas após uma geração de panmixia (F1), isto é, em que os cruzamentos são feitos ao acaso, irão permanecer constantes em subseqüentes gerações.

Com os valores na geração F1 retomávamos o mesmo valor inicial das **frequências alélicas** calculado para a geração parental inicial F0, ou seja 0.6 e 0.4 respectivamente. No entanto como se vê na Tabela 5, a distribuição genotípica esperada em F1 difere da inicial. Pode-se provar porém que a partir desta primeira geração panmítica F1, a distribuição genotípica iria permanecer constante.

Este princípio exemplificado para um sistema de dois alelos pode ser matematicamente demonstrado também para um sistema de n vários alelos como na realidade acontece com os marcadores microssatélites.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg diz-nos *que quer as frequências dos genes (frequências alélicas) quer as frequências genotípicas se irão manter com certo valor indefinidamente se se mantiver um conjunto de condições e tal é passível de demonstração matemática.*

Outra forma de enunciar o equilíbrio de Hardy-Weinberg é dizer que a expressão $p^2+2pq+q^2=1$

prevê de forma precisa as frequências genotípicas a partir dos valores p e q das frequências alélicas.

2.3.1. CONDIÇÕES E UTILIDADE DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Para que a previsibilidade e constância do equilíbrio de Hardy-Weinberg se concretizem há um conjunto de pressupostos. A população tem que ser panmítica como referido, ou seja os cruzamentos devem ocorrer de forma aleatória. A fertilidade deve ser idêntica. Não se admite sobreposição de gerações, mutações, nem seleção natural, nem fatores que alterem o fundo genético inicial (não há movimentos migratórios).

Estas condições como é óbvio, não se observam nas populações humanas e nem tão pouco noutros seres vivos. No entanto mantém-se a sua utilidade e observa-se até um surpreendente grau de concordância.

A utilidade do formalismo de Hardy-Weinberg consiste no fato de ele servir como modelo, como *hipótese nula* (um termo caro à estatística), que nos permite prever as frequências dos genótipos na ausência de fatores perturbadores da simples e aleatória combinação dos gametas portadores dos vários alelos. A comparação com aquela situação ideal, em que apenas a hereditariedade contribui para os valores das frequências génicas, permite-nos em cada situação real, evidenciar e avaliar as forças evolutivas (e até eventuais causas de erro técnico ou amostral) ao comparar a distribuição genotípica e as frequências génicas obtidas com o esperado segundo o modelo (teórico, não existente nas populações que estudamos) do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

2.3.2. TESTANDO O EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

A comparação entre os resultados das genotipagens obtidas com uma dada amostra da população e a hipótese nula (a do equilíbrio de Hardy-Weinberg) faz-se recorrendo a testes estatísticos como o de χ^2 de Pearson:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O-E)^2}{E}$$

No teste χ^2 obtém-se o valor χ^2 pelo somatório dos quadrados das diferenças entre os genótipos observados e esperados divididos pelos genótipos esperados. Note-se que o numerador da expressão nos fornece a diferença entre valores observados e esperados em cada classe genotípica mas esta diferença é computada em termos absolutos ou seja não nos interessa em que sentido ocorre essa diferença, se a mais ou a menos, e daí se elevar ao quadrado. Essa diferença absoluta é dividida pelos valores esperados pois temos que relativizar em relação a um valor esperado (uma diferença de 4 em 100 tem um peso muito diferente de uma diferença de 4 em 8, respetivamente 4% e 50%). Cada uma destas diferenças ponderadas calculadas em cada classe genotípica é somada às restantes previstas de acordo com as combinações possíveis em cada marcador genético atendendo ao seu polimorfismo.

O teste χ^2 irá fornecer a probabilidade de obtermos o valor encontrado (ou maior ainda) para a diferença entre os valores observados

e os esperados segundo o modelo teórico (hipótese nula do equilíbrio de Hardy-Weinberg) apenas pelo acaso (e não por qualquer fator evolutivo ou experimental).

Se as diferenças entre os valores de distribuição dos nossos genótipos e os valores que seriam de esperar na situação de equilíbrio de Hardy-Weinberg forem muito grandes, então haverá razões para suspeitar que essas diferenças não se devem ao acaso apenas.

A analogia com o lançamento de uma moeda ao ar é evidente: se as diferenças entre o número de caras e coroas esperado pelo mero fator sorte e o número de caras e coroas efetivamente obtido se traduzir numa diferença grande, *significativa*, então suspeitamos de alguma viciação da moeda uma vez que partimos do modelo (hipótese nula) de que as duas faces da moeda teriam à partida a mesma probabilidade de sair.

Mas até que ponto esse valor de probabilidade é suficiente para tomarmos uma decisão sobre se a nossa distribuição segue ou não o equilíbrio de Hardy-Weinberg?

Torna-se necessário comparar o valor de χ^2 obtido com uma distribuição de χ^2 . À medida que o valor de χ^2 cresce, a probabilidade de uma diferença entre os valores observados e esperados ser devida apenas ao acaso diminui (quanto maiores as diferenças entre valores observados e esperados, menos provável é a nossa hipótese nula, isto é, o equilíbrio de Hardy-Weinberg). Por convenção em geral adota-se o critério de um patamar de probabilidade 0.05 ou menos para as diferenças obtidas em χ^2 para rejeitar a hipótese nula. Significa que se o acaso apenas explica as diferenças obtidas em 5% ou menos,

então é de rejeitar que a população se encontre em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Note-se ainda que ao estimar a estatística χ^2 temos que ter em conta os “graus de liberdade”, a quantidade de informação usada no respetivo cálculo. No exemplo do marcador DS007 para prever os três genótipos esperados (3 classes) utilizamos duas informações: o número de indivíduos e uma das frequências alélicas (com dois alelos, uma vez determinada uma das frequências, p a outra é função da primeira, $q=1-p$). O número de graus de liberdade é dado pelo número de classes menos o número de informações usadas para o cálculo das várias proporções esperadas. No exemplo teríamos $3-2 = 1$ grau de liberdade.

Dado que, com os marcadores de ADN atualmente utilizados, muitas classes de genótipos esperados (segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg) resultariam em valores baixos, recorre-se antes a uma adaptação do teste exato de Fisher, sendo usual a metodologia desenvolvida por Guo e Thompson (Guo e Thompson 1992) de tipo Monte Carlo ou em alternativa de tipo Cadeias de Markov.

O método de Fisher assenta no uso da probabilidade condicionada que resulta de agregação de todas as possíveis combinações genóticas que seriam tão ou menos prováveis que os genótipos observados (seriam pelo menos tão raras quanto a distribuição genotípica encontrada) empregando as mesmas frequências alélicas.

Como verificámos o enunciado do equilíbrio de Hardy-Weinberg implica conhecimento de uma das frequências num sistema bialélico (no exemplo hipotético a frequência de um dos alelos, 2 ou 4, p ou q).

A dedução dessa frequência assenta em amostragens de uma dada população de referência (os referidos estudos populacionais). Ora sabendo que usaremos essas frequências para vários cálculos, na verdade praticamente todos, aplicáveis no contexto da genética forense e designadamente o cálculo da “raridade de um dado perfil genético”, então percebemos como o grau de maior ou menor incerteza na determinação dessas frequências afeta imediatamente o grau de incerteza sobre os nossos cálculos de âmbito forense.

O erro é minimizável (não eliminável) pelo alargamento da amostragem. Desde que assegurado que esta amostragem é constituída por indivíduos representativos da população de referência, não relacionados entre si, obtida de forma aleatória, não há um número ideal ou sequer um número N de indivíduos na amostra que se possa recomendar com base em critérios objetivos. No entanto alguns autores referem as $N=100$ como um valor aceitável (Butler 2012).

Este alargamento da amostra é controlável pelo investigador, ou seja temos ao nosso alcance minimizar o erro associado a esta “amostragem estatística”. A estatística fornece-nos as técnicas de avaliação desse erro de amostra (da “amostragem estatística”). Note-se que esse erro é meramente estatístico e nada tem a ver com possíveis erros laboratoriais ou outras causas de âmbito genético ou demográfico.

Porém, na “amostragem genética”, a sorte de gâmetas transportando as suas combinações alélicas, está fora do controle do investigador, sendo determinada pelo processo evolutivo subjacente à diferenciação das populações referido anteriormente.

3. SUBESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL

3.1. A POPULAÇÃO

A população, como bem lembrado por Lock e Nguyen (Lock e Nguyen 2010) é um conceito abstrato que “não existe na natureza antes definido formalmente por entidades nacionais e estatais”. Nos Estados Unidos, o FBI utiliza como suporte ao seu sistema de base de dados CODIS, estudos genético-populacionais em que as populações de referência são grandes grupos étnico-populacionais no mínimo discutíveis como afro-americanos; caucasianos; hispânicos. Eis-nos pois com a possibilidade de “inventar” as populações humanas consoante o nosso critério, os nossos objetivos.

É atualmente praticamente consensual que as atuais populações humanas resultarão de um processo de expansão e diversificação a partir de África há cerca de 100 000 anos, um período de tempo muito curto se comparado com os milhões de anos que foram consumidos na evolução que conduziu à nossa espécie, o *Homo sapiens*.

Nesta caminhada a partir de África (“out of África”), os grupos humanos encontraram (terão eventualmente até se cruzado embora tal seja matéria de controvérsia científica), com outros homínidos com menor capacidade cognitiva, como os Neandertais existentes em zonas como a Europa ocidental. Estes novos *Homo sapiens* terão vencido pela sua inteligência, pelo seu valor “cultural” e foram-se fixando pelos distintos continentes e em função de barreiras geográficas e por força destas, barreiras socioculturais e linguísticas, foram-se também diferenciando em “populações”, mas não em

subespécies a tal ponto que a unidade se mantém, ou seja a inter-reprodutibilidade entre os humanos independentemente do grupo e localização geográfica a que pertencem. Como seria de esperar a diversidade proporcionada pela informação genética, a diversidade genética, é consideravelmente superior no continente africano e decresce com o afastamento deste. Na Europa temos uma grande “monotonia genética”.

3.2. DERIVA GENÉTICA E FLUXO GENÉTICO

As populações humanas apresentam graus variáveis de diferenciação, consequência de processos como migração, mutação e deriva.

A deriva genética traduz o fato de as frequências génicas apresentarem uma flutuação ao longo do tempo apenas por força do acaso. É algo que não podemos controlar por melhor que seja a nossa amostragem aleatoriamente retirada da população. No limite as frequências podem chegar a extremos, ou seja termos um único alelo presente na população (fixação) e a eliminação de alelos (um alelo que ocorra com baixa frequência numa população de tamanho reduzido a probabilidade de esse alelo se perder em cada geração é considerável). Num sistema bi-alelístico isso equivaleria termos frequência $p=1$, $q=0$.

Em cada geração se tivermos dois alelos com frequências p e q as mesmas iriam se manter constantes segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg se a totalidade dos gâmetas presentes numa geração estivesse presente na seguinte nas respetivas proporções. No entanto em cada geração, nem todos os indivíduos vão contribuir para a reprodução e assim apenas uma sub-amostra (aleatória) da população real é usada nas combinações dos gâmetas

masculino e feminino para a geração seguinte. Este “erro de amostra genético” é tanto maior quanto menor for o tamanho do efetivo populacional (as populações reais também não são infinitas como exigem os pressupostos do equilíbrio de Hardy-Weinberg). O mecanismo da deriva genética é um fator que tende a homogeneizar geneticamente uma população, reduz a diversidade genética.

Quanto maior o desvio padrão das frequências alélicas (provocado pelo erro de amostra genético), maior a diversidade genética e menor a deriva genética.

Se duas populações forem geneticamente distantes isso reflete-se numa grande diferença entre as respectivas frequências génicas.

Segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg, teríamos uma população panmítica mas, sobretudo quando consideramos populações grandes, verifica-se que os “cruzamentos não são ao acaso”, havendo uma maior facilidade em, por exemplo, um homem português de Trás-os-Montes vir a ter filhos com uma transmontana do que com uma algarvia. Isto significa que uma dada população (a população portuguesa no exemplo) pode em certas circunstâncias, compreender subunidades atuando já de forma independente, significa que uma tal população se encontra *subestruturada*. Essas subunidades serão tanto mais distintas quanto menor for a taxa de mistura genética, quanto menor for o fluxo genético entre ambas. Um acidente geográfico como uma cadeia montanhosa pode ser o elemento causal de uma diminuição de fluxo genético e consequente subestruturação populacional de uma população.

Se as duas subunidades ou duas populações tiverem características genéticas muito distintas,

um aumento do fluxo genético irá contribuir para o aumento da diversidade genética da população e será mais evidente o impacto desse fluxo genético. Por exemplo as linhagens femininas (mitocondriais) provenientes da África subsaariana atualmente integrantes do “património genético” português, são claramente reconhecíveis e vice-versa dado o ponto de partida tão geneticamente divergente (Pereira e Ribeiro, 2009).

As frequências de alguns genes mostram uma distribuição “clinal” ou seja, apresentam uma variação contínua desde um ponto de frequência mais elevada até zonas de frequência mais rara, à medida que nos distanciamos. Isto acontece como consequência de ser mais provável um cruzamento com indivíduos geograficamente próximos do que com pessoas localizadas mais longinquamente e portanto menos acessíveis. Este padrão clinal tem sido observado para alguns polimorfismos humanos, sendo um exemplo clássico o grupo sanguíneo B (Cavalli-Sforza 1996). Apesar da recente tendência para a facilitação da mobilidade populacional, continua a ser possível identificar esse gradiente na distribuição de algumas das frequências génicas humanas. Uma boa parte das pessoas continua a realizar uniões num certo (embora cada vez maior) raio de proximidade.

Recentemente os estudos de grande magnitude envolvendo um conjunto de até 300000 SNPs (algo inimaginável há poucos anos) e recorrendo à estratégia de WGP (*Whole Genome Polymorphisms*) vieram a corroborar os trabalhos já clássicos de Cavalli-Sforza (uma das grandes referências na genética das populações humanas), evidenciando por técnicas de tratamento de dados PCA (*Principal Component Analysis*) uma notável correlação entre a posição de um

dado indivíduo no “espaço genético” com a sua posição no espaço geográfico (McCoy, 2009).

Por outro lado, uma diminuição do fluxo genético deixa, a prazo, maior potencialidade para a atuação do mecanismo aleatório da deriva genética, diferenciando cada vez mais as (agora) subpopulações a ponto de elas serem já geneticamente distinguíveis.

A situação com consequências do ponto de vista forense é a de termos duas “subpopulações” sob uma população *a priori* considerada, o que obriga então a utilizar uma diferente base de dados de distribuição de frequências na hora de aplicar ao cálculo da raridade/vulgaridade de um dado perfil genético coincidente.

O cromossoma Y, com a sua especificidade (na porção não recombinante com o cromossoma X) aliado à prática frequente da patrilocalidade (i.e. a mobilidade para a constituição do casal é assegurada pela mulher permanecendo o homem no seu local original) tem sido objeto da maior atenção pelos cientistas forenses numa perspetiva da subestruturação populacional, inclusive a um nível “microgeográfico” (Brion 2004).

Quando a diminuição do fluxo genético é resultante da decrescente probabilidade de cruzamentos em função do aumento da distância entre indivíduos ou populações, estamos no conceito do *isolamento por distância*, formulado por Sewall Wright.

3.2.1. Avaliação do grau de subestruturação: da heterozigotia aos índices *Fst*.

Wright (Wright 1951) desenvolveu o primeiro de uma longa série de índices que permitem avaliar o grau de subestruturação populacional de

uma população. Genericamente designados por *Fst*, estes índices assumiram posteriores desenvolvimentos a que correspondem sucessivas nomenclaturas: GST (Nei 1973); θ (Weir e Cockerham 1984); RST (Sltakin 1995).

Quando os membros de uma população são aparentados, então a probabilidade de obterem descendentes homozigóticos é maior do que na situação de cruzamentos ao acaso (a probabilidade de parentes partilharem um mesmo alelo é obviamente superior à da população em geral). Na natureza temos casos extremos, de *autogamia*, em que a reprodução se faz com hermafroditismo (ambos os sexos no mesmo indivíduo) como certas espécies de plantas.

Uma medida da diversidade genética numa população é a heterozigotia (em cada marcador ou locus).

A heterozigotia pode ser obtida pela contagem do número de heterozigotos numa população (HO, heterozigotia observada) ou a partir das frequências génicas (HE, Heterozigotia esperada⁶, dada pela expressão $H_e = 1 - \sum p_i^2$ (p_i é a frequência de um alelo *i* num dado locus). Quando maior o número de heterozigotos maior a diversidade genética. A noção de heterozigotia num dado locus pode ser aplicada a múltiplos loci⁷.

6 Esta expressão corresponde ao termo “diversidade genética de Nei”. A este respeito consulte-se por exemplo Hamilton, M. (2009).

7 A extensão a múltiplos (*k*) alelos da heterozigotia esperada obtém-se somando todos os possíveis homozigóticos e subtraindo da unidade: $H_e = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$ enquanto a heterozigotia observada será o somatório de todos os heterozigóticos observados na amostra populacional para *k* alelos: $H_o = \sum_{i=1}^h H_i$ em que H_i é a frequência observada em cada genótipo e *h* o número de heterozigotos possíveis num sistema de *k* alelos (sendo que esse número possível é dado pela expressão $h = k(k-1)/2$).

O índice de fixação F^8 (ou F_{IS} na notação original de Wright) compara ambas as heterozigotias (a observada e a esperada caso houvesse cruzamentos ao acaso) considerando uma única população: $F = He - Ho / He$, em que He é a frequência esperada de heterozigotos a partir das frequências alélicas da população de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg e Ho é a frequência de heterozigotos observados na população.

O índice de fixação para dada população (até que ponto os seus membros cruzam ao acaso ou pelo contrário há diminuição de heterozigotia face ao esperado) pode ser explorado no contexto de várias subpopulações.

Na realidade as populações humanas não são panmíticas e assim a estimativa das frequências génicas e genotípicas deve acautelar a estratificação das populações. Nem sempre é viável dispor de bases de dados de distribuição de frequências para todas as populações. No contexto forense, alguns indivíduos podem não estar representados nas bases de dados de frequências disponíveis para uma dada população pela sua especificidade étnico-racial ou geográfica. Por exemplo imagine-se o cenário de um crime perpetrado em Portugal

por um indivíduo pertencente a uma tribo índia do interior da Amazónia.

No âmbito da subestruturação populacional (da população em subpopulações) os F_{ST} s surgem na perspetiva da comparação da diversidade genética de cada subpopulação com a diversidade genética total da população, pois, como exposto acima, a subestruturação acarreta incremento da diversidade genética.

A alteração na heterozigotia (face à frequência esperada de heterozigotos segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg) situa-se agora por um lado dentro de cada subpopulação (devida ao fato de os cruzamentos não serem ao acaso) e por outro entre as subpopulações de uma população, devido à subestruturação desta última.

Entre os vários coeficientes que visam avaliar o grau de subdivisão de uma população consideremos θ , F e f (F_{ST} , F_{IT} e F_{IS} , respectivamente na nomenclatura de Wright).

F_{IS} (I , Indivíduos; S , Subpopulações) representa a média da diferença entre a heterozigotia observada e a esperada (segundo HW) **dentro de cada subpopulação** como consequência de os cruzamentos não serem ao acaso. Este coeficiente corresponde a correlação entre dois alelos num genótipo ao acaso em qualquer das subpopulações, ou seja trata-se do índice acima descrito para uma única população, F , mas agora como média de várias subpopulações. F_{IS} ou f traduz o “coeficiente de inbreeding” ou “consanguinidade” dentro de cada subpopulação. De acordo com Holsinger e Weir (Holsinger e Weir 2009), nas populações humanas os desvios intra-populacionais em relação às proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg serão pequenos, algo avaliado pelo índice F_{IS} que compara as frequências

8 Este índice pode ser encarado como uma generalização à escala populacional do “coeficiente de inbreeding” (notação f) ou de consanguinidade calculado família a família e significa determinar a probabilidade de dois alelos num dado indivíduo serem “idênticos por descendência” (IBD, *Identical By Descendnt*), o que implica que haverá um ancestral comum aos dois alelos presentes. Quando os membros de um casal têm parentes em comum (por exemplo são primos em segundo grau) a probabilidade de transportarem alelos idênticos por descendência no seu genótipo é aumentada o que origina uma tendência para excesso de homozigotos (e diminuição da heterozigotia).

genotípicas observadas em relação às esperadas (segundo HW) dentro de uma população⁹.

Por sua vez, o $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$ traduz a redução na heterozigotia devido a diferença nas frequências alélicas **entre** subpopulações. Corresponde à diferença entre a heterozigotia média esperada das subpopulações e a heterozigotia esperada da população total. Este coeficiente mede pois o **grau de diferenciação entre subpopulações** e interessa sobretudo aquando da decisão de considerar ou não uma dada base de dados populacionais para fins forenses como adequada ao caso em apreço. O valor de F_{ST} varia entre 0.0 (não diferenciação) e 1.0 (subpopulações totalmente diferenciadas com alelos fixados).

Finalmente o terceiro índice, F_{IT} , $F_{IT} = H_T - H_I / H_T$ representa a comparação entre a heterozigotia média observada nas subpopulações com a heterozigotia esperada para a população total.

Os índices de fixação conheceram sucessivamente desenvolvimentos desde a definição inicial de Wright que fora formulada no contexto de um locus com dois alelos. Assim, por exemplo, o termo G_{ST} já referido resulta da aplicação a alelos múltiplos e loci múltiplos (Wright 1978, Nei 1973).

Os índices de fixação podem alternativamente ser encarados numa perspectiva de análise de variância, comparando a variância das frequências alélicas face à variância da população total.

Se considerarmos uma dada população e várias sub-amostras dessa população então podemos

⁹ Representando H_i a heterozigotia média observada por indivíduo dentro das subpopulações; H_S a heterozigotia média esperada dentro de subpopulações nas condições de cruzamento aleatório; H_T a heterozigotia esperada nas condições de cruzamentos aleatórios para a totalidade da população (sem considerar subpopulações) temos (por analogia com a expressão de F acima): $F_{IS} = (H_S - H_i) / H_S$.

usar a *variância* [σ] para avaliar até que ponto os valores observados se afastam dos valores médios, da *média*.

Dado que se considera que as subpopulações humanas partilham um mesmo passado evolutivo, por mais longínquo que seja, então as respetivas frequências génicas partilham a mesma média variando por força do efeito de “amostragem genética” mencionado.

De facto podemos ter duas distribuições de frequências alélicas com a mesma média mas distintas variâncias, ou seja o espectro de observações ser menos ou mais disperso.

Nesta perspetiva F_{ST} passa a ser a proporção da variância genética dentro de uma subpopulação (S) relativa à variância genética total. O equivalente do coeficiente de *inbreeding* F_{IS} , será agora a proporção da variância de uma subpopulação contida num indivíduo. Surgem assim novos índices de subestruturação como sejam os coeficientes θ ou θ_{ST} (Weir 1996), Φ_{ST} (Excoffier 1992), este para dados haplotípicos (análise AMOVA, análise de variância molecular).

Com o advento dos marcadores microsatélites foram introduzidos índices (como R_{ST}) baseados nas diferenças no número de repetições entre alelos em cada locus microsatélite¹⁰.

¹⁰ Este método assenta num modelo mutacional, designado SMM, “stepwise mutation” em que cada mutação cria um novo alelo por adição/deleção de uma unidade de repetição, com igual probabilidade, pelo que os alelos com uma grande diferença de tamanho entre dois alelos traduz uma menor proximidade de relação). Assim compreende-se que estes métodos de avaliação da subestruturação sejam adequados quando a mutação tenha sido o mecanismo decisivo de diferenciação entre populações, enquanto os métodos “tradicionais” de avaliação do grau de estruturação (mas não totalmente postos de parte) se baseavam nas diferenças entre as frequências génicas de subpopulações.

Um exemplo da importância da subestruturação no contexto forense pode ser o da população australiana onde “escondidas” no seio de importantes aglomerados populacionais cosmopolitas coexistem minorias de populações indígenas aborígenes, com pequenos núcleos dispersos com baixos efetivos e forte tendência endogâmica e até neste caso, poligâmica (Taylor 2012; Walsh 2007). Na Austrália a quantificação dos perfis de DNA é feita com recurso a três bases de dados de frequências, Aborígenes, Europeus e Asiáticos, realizando-se frequentemente cálculos em diferentes bases alternativas incluindo a base de dados associada à origem étnica do réu caso este declare a sua afiliação étnica (Taylor 2012), em substituição do sistema inicial em que se recorria a uma única base de dados representativa de cada estado federado australiano dado que por exemplo os aborígenes poderiam estar sub-representados nessa amostragem (recorde-se o que atrás dissemos sobre a amostragem em estudos populacionais).

Para os marcadores autossómicos está previsto desde há muito um fator de correção θ para os efeitos da subestruturação populacional. A SWGDAM¹¹, seguindo o *National Research Council* (NRCII) recomenda as seguintes correções:

Para homocigotos em lugar de p^2 deve-se entrar com a expressão: $p^2 + p(1-p)\theta$, mantendo a expressão $2pq$ para os heterocigotos.

Em populações grandes há um menor número de homocigóticos do que nas subpopulações que a constituem (“efeito Wahlund”). Assim introduz-se um fator de correção para prevenir a subestimativa de homocigóticos devida a

subestruturação. As entidades internacionais citadas propõem o uso de valores de θ de 0.01 para populações em geral e de 0.03 para pequenas populações (mais endogâmicas) (Council 1996).

A consideração do fator θ aquando da estimativa da probabilidade de ocorrência de um perfil genético coincidente (entre suspeito e amostra-evidência) traduz-se numa redução do valor em favor do suspeito. Quanto maior o valor de θ , maior será a probabilidade de obter uma coincidência por mero acaso (Holsinger 2009). Estudos com o conjunto de marcadores STRs recomendados atualmente pelas entidades europeias (Budowle 2011) mostram por exemplo valores de F_{ST} para 15 STRs de $F_{ST}=0.0161$, pelo que a aplicação dos valores dos coeficientes θ recomendados é “conservativa”.

Nos marcadores de linhagem como cromossoma Y e mitocondrial, são esperados efeitos de subestruturação ainda maiores. No entanto apesar de haver recomendações por instâncias internacionais como a *DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics* (ISFG) no sentido de os efeitos de subestruturação populacional serem tidos em consideração neste tipo de marcadores de ADN, a metodologia para tal não está ainda definida e deve-se ter em conta a pertinência ou não do uso de tal fator de correção sobre as frequências, pois se as circunstâncias do caso não apontarem para uma especificidade étnica ou geográfica ou se as populações não estiverem subestruturadas tal não fará sentido (Cockerton 2012).

Com os marcadores polimórficos SNPs, que justificam um crescente interesse entre a comunidade científica forense, acontece que as diferenças entre as frequências de distintas populações humanas podem ser muito grandes (a frequência de

11 *Scientific Working Group on X Analysis Methods*, grupo que representa laboratórios forenses ao nível federal, estatal e local nos EUA e Canadá.

um dado alelo pode ir desde 0 numa população a 1 noutra, ou seja a fixação de um alelo e perda do outro é verosímil). Este dado torna pertinente o conhecimento da distribuição de frequências em múltiplas bases de dados populacionais quando se pretende utilizar tais tipos de marcadores na rotina forense embora haja estudos orientados no sentido da obtenção de um painel “universal” de marcadores SNPs (Pakstis 2007).

Por outro lado essa diferença de frequências tão marcada entre distintas populações (um elevado F_{st}) pode ser utilizada com vantagens: o marcador torna-se então um possível AIM (*Ancestral Informative Marker*) um marcador de ancestralidade e/ou origem biogeográfica o que pode ser muito útil nas aplicações forenses. Muitas vezes não há acesso a dados que informem a origem biogeográfica nomeadamente quando lidamos com amostras de vestígios (sangue, saliva) e esses marcadores AIM podem fornecer algum grau de indicação quanto à origem biogeográfica do indivíduo que produziu tais vestígios (teria sido um europeu? um africano?) o que permite estreitar o âmbito das investigações policiais quando não há uma coincidência de perfis de ADN com os suspeitos considerados ou ainda auxiliando na procura de desaparecidos.

4. PARA ALÉM DA DERIVA GENÉTICA: OUTROS FATORES DA DINÂMICA POPULACIONAL

A aplicação de um certo valor de θ é discutível: não só os distintos marcadores apresentam uma considerável variação de F_{st} s (pela sua história genealógica) como não são de excluir

efeitos de outro fator evolutivo determinante, a *seleção natural*.

Os marcadores aprovados para genética forense são-no com base num modelo neutral ou seja admite-se que não estejam sob efeito da *seleção natural*, a qual se iria traduzir em marcadas diferenças nas frequências em certas subpopulações sujeitas a esse mecanismo. Este é um tema ainda pouco explorado mas a possibilidade aberta por trabalhos com conjuntos de altas densidades de SNPs junto a marcadores do sistema CODIS vem alertar para essa possibilidade (Anderson e Weir 2006).

Também a independência entre os vários loci é outra questão relevante no contexto da genética forense. Alguns marcadores polimórficos podem residir em loci que se apresentam em “desequilíbrio de ligação” e como tal tendem a ser transmitidos em conjunto e não de forma independente como consequência da sua proximidade num mesmo cromossoma o que se vai refletir numa menor frequência de recombinação¹².

Na situação de desequilíbrio de ligação, dois alelos em diferentes loci (note-se bem que agora estamos a considerar distintos loci e não dois alelos num dado locus como acima) tendem a ser co-herdados com maior frequência do que a esperada (se fossem verdadeiramente independentes um do outro). Daqui pode resultar uma

12 A recombinação genética ocorre de forma aleatória quando dois cromossomas homólogos trocam partes do seu ADN constitutivo como acontece no processo de formação dos gâmetas (na meiose). Quanto maior a distância entre dois segmentos de ADN maior a probabilidade de a recombinação ocorrer, pelo que a medida da recombinação entre dois *loci* é também uma medida da distância genética. Uma percentagem de 1% de recombinação corresponde a 1 centimorgan (cM) que por sua vez se pode relacionar com a distância física entre dois loci uma vez que 1cM se traduz em cerca de 1Mb (um milhão de pares de bases de ADN).

sobre-estimativa da força da evidência aquando dos respetivos cálculos forenses.

Esta possibilidade tem sido muito menos estudada pois exige uma abordagem populacional complementada com estudos familiares. Nos estudos populacionais (i.e. com base em indivíduos não relacionados) o desequilíbrio de ligação não é facilmente detetável, pelo que há necessidade de obtenção de famílias para esse efeito.

No painel de marcadores STRs adotados para fins forenses os marcadores *loci* vWA e D12S391 estão situados no mesmo cromossoma 12 e com proximidade física. Estes marcadores têm sido alvo de estudos sobre desequilíbrio de ligação (Budowle 2011; Oconnor 2011; Gill 2012), que apontam para que não devam ser considerados como *loci* independentes e como tal tratados de forma diferente dos restantes marcadores aquando dos cálculos de probabilidade de coincidência de perfis genéticos ou em testes de parentesco.

O conceito de desequilíbrio de ligação (LD, *Linkage Disequilibrium*) não se confunde com *Ligação (linkage)*, uma vez que dois *loci* podem apresentar um LD sem que estejam em *linkage*. Além do *desequilíbrio de ligação* resultante da proximidade física de marcadores, vários fatores da dinâmica populacional como a substruturação populacional e em particular a deriva genética, podem concorrer para a observação de *desequilíbrio de ligação* entre *loci* não (fisicamente) ligados. O fluxo genético entre populações geneticamente distintas tende a criar desequilíbrio de ligação por mistura populacional (ALD, *Admixture Linkage Disequilibrium*) entre *loci* (ligados e não ligados) com frequências alélicas distintas nas populações originais (Pfaff 2001).

Enquanto a deriva genética constitui fator de redução da diversidade genética, outros processos contribuem para a dinâmica populacional, como as mutações ou as migrações ou a *mistura genética* os quais atuam em sentido contrário.

A *mistura genética* resulta na obtenção de uma população com características híbridas a partir da contribuição de duas ou mais populações ancestrais as quais se encontravam inicialmente isoladas (o que distingue do termo fluxo genético, em que há um contato prolongado e troca de genes entre duas populações).

A maior ou menor diversidade genética e como tal a compreensão da atual configuração das populações humanas, abrange o âmbito da mistura genética populacional (um exemplo claro foram as movimentações de grandes efetivos populacionais africanos para a América) se bem que não possam ser ignorados os efeitos dos processos de deriva genética, mutação, seleção ou migração ou ainda o efeito das próprias alterações nos efetivos populacionais¹³ como os “efeitos de gargalo” (*bottleneck*) em que por força de um acontecimento sociopolítico (uma grande catástrofe, uma guerra) ou geodinâmico (dependendo da escala de tempo em que nos situamos para análise), há uma redução drástica de forma significativa do efetivo populacional o que se traduz em diminuição da diversidade genética.

13 Importa fazer a distinção entre o tamanho da população e o tamanho efetivo da população, compreendendo este último a porção da população que de fato participa da reprodução contribuindo com gâmetas para a geração seguinte. Trata-se de algo difícil de determinar pelo que se considera como o tamanho de uma população idealizada com as mesmas características (quanto a deriva genética) que a população real em estudo e independentemente do censo populacional ou seja da contagem de indivíduos na população.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, A.D., Weir, B.S. (2006). An assessment of the behavior of the population structure parameter, θ , at the CODIS loci. *International Congress Series*, 1288, 495–497.
- Brion, M., Quintans, B., Zarrabeitia, M., Gonzalez-Neira, A., Salas, A., Lareu, V., Tyler-Smith, C., Carracedo, A. (2004). Micro-geographical differentiation in Northern Iberia revealed by Y-chromosomal DNA analysis. *Gene*, 329, 17-25.
- Budowle, B., Ge, J. Y., Chakraborty, R., Eisenberg, A. J., Green, R., Mulero, J., Lagace, R., Hennessy, L. (2011). Population genetic analyses of the NGM STR loci. *International Journal of Legal Medicine*, 125 (1), 101-109.
- Cavalli-Sforza, L.L. (1996). *Genes Povos e Linguas*. Lisboa, Instituto Piaget. ISBN: 9789727712632
- Cockerton, S., McManus, K., Buckleton, J. (2012). Interpreting lineage markers in view of subpopulation effects. *Forensic Science International-Genetics*, 6 (3), 393-397.
- Duran, J.A., Chabert, T., Rodrigues, F., Pestana, D. (2007). Distribuição dos Grupos Sanguíneos na População Portuguesa. *ABO Número 29 Jan/Mar*
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-91.
- Gill, P., Phillips, C., McGovern, C., Bright, J., Buckleton, J. (2012). An evaluation of potential allelic association between the STRs vWA and D12S391: Implications in criminal casework and applications to short pedigrees. *Forensic Science International: Genetics*, 6, 477–486.
- Guo, S.G., Thompson E.A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48, 361-372.
- Hamilton, M.B. (2009). *Population Genetics*. Wiley-Blackwell.
- Holsinger, K.E., Weir, B.S. (2009). Fundamental Concepts in Genetics. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F-ST. *Nature Reviews Genetics*, 10 (9), 639-650.
- Lock, M., Nguyen, V. (2010). *An Anthropology of Biomedicine*. Oxford, Wiley-Blackwell.
- McEvoy, B.P., Montgomery, G.W., McRae, A.F., Samuli, R., Perola, M., Spector, T.D. ...Visscher, P. (2009). Geographical structure and differential natural selection among North European populations. *Genome Research*, 19 (5), 804-814.
- Nei M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70, 3321–3323.
- O'Connor, K. L., Tillmar, A.O. (2012). Effect of linkage between vWA and D12S391 in kinship analysis. *Forensic Science International-Genetics*, 6 (6), 840-844.
- Pakstis, A.J.; Speed, W.C.; Kidd, J.R.; Kidd, K.K. (2007). Candidate SNPs for a universal individual identification panel. *Human Genetics*, 121, 304–317.
- Pereira, L., Ribeiro, F.M. (2009). O Património Genético Português, a história humana preservada nos genes. Lisboa, Gradiva.
- Pertea, M., Salzberg, S.L. (2010). Between a chicken and a grape: estimating the number of human genes. *Genome Biology*: 11:206.
- Pfaff, C.L., Parra, E.J., Bonilla, C., Hiester, K., McKeigue, P.M., Kamboh, M.I. ...Shriver, M.D. (2001). Population Structure in Admixed Populations: Effect of Admixture Dynamics on the Pattern of Linkage Disequilibrium. *American Journal of Human Genetics*, 68:198–207.
- Slatkin M. (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 457–462.
- Taylor, D., Nagle, N., Ballantyne, K.N., Van Oorschot, R.A.H., Wilcox, S., Henry, J., Turakulov, R., Mitchell, R.J. (2012). An investigation of admixture in an Australian Aboriginal Y-chromosome STR database. *Forensic Science International-Genetics*, 6 (5), 532-538.
- Walsh, S.J., Mitchell, R.J., Torpy, F., Buckleton, J.S. (2007). Use of subpopulation data in Australian forensic DNA casework. *Forensic Science International-Genetics*, 1(3-4), 238-246.
- Weir, B. S. (1996). *Genetic Data Analysis II*. Sinauer Associates.
- Weir B.S., Cockerham C.C. (1984) Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358–1370.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15:159–171
- Zhu, F., Tao, S., Xu, X., Ying, Y., Hong, X., Zhu, H., Yan, L. (2010). Distribution of AB0 blood group allele and identification of three novel alleles in the Chinese Han population. *Vox Sanguinis*, 98, 554-559.

Capítulo 6

BASE DE DADOS DE PERFIS DE ADN

Francisco Corte-Real

Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P.

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_6](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_6)

RESUMO

Decorridos seis anos desde a publicação da lei que aprovou a criação da base de dados de perfis de ADN e quatro anos desde a inserção do primeiro perfil importaria fazer uma análise retrospectiva sobre o processo que levou à publicação da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro, à entrada em funcionamento da base de dados, bem como descrever a situação actual. Assim, neste texto é feita uma descrição das iniciativas que originaram a publicação da lei e dos aspectos que suscitaram mais controvérsia. São apresentadas as especificidades da base de dados Portuguesa, comparando-a, de forma sucinta, com algumas outras bases de dados europeias, descrevendo-se os problemas actualmente existentes. São abordados os pressupostos previstos para a cooperação internacional nesta matéria, tal como os principais desafios que se perspectivam.

PALAVRAS-CHAVE

Base de dados; ADN; legislação; cooperação internacional.

ABSTRACT

Six years after the publication of the law that approved the creation of the DNA profiles database and four years after the insertion of the first profile it's important to do an analysis of the process that led to the publication of Law No. 5/2008, of 12 February, the entry into operation of the database, as well as describing the current situation. Thus, this text is a brief description of the initiatives that led to the publication of the law and the issues that prompted the most controversy. The specificities of the Portuguese database are presented succinctly, comparing it with some other European databases, describing the existing problems. The assumptions provided for international cooperation in this area are discussed, as the main challenges that lie ahead.

KEYWORDS

Database; DNA; legislation; international cooperation.

1. INTRODUÇÃO

Acompanhando o avanço científico e tecnológico característico do final do século XX, também a Genética Forense sofreu, nas duas últimas décadas, um desenvolvimento muito significativo. Esse desenvolvimento permitiu não apenas uma maior sensibilidade nos resultados analíticos como também uma diversificação do tipo de marcadores genéticos à disposição da investigação. A vulgarização internacional das análises genéticas com fins forenses originou um elevado volume de informação, cuja comparação pode ser pertinente para, por exemplo, se saber se o mesmo indivíduo está implicado em diferentes crimes ou para se identificar o cadáver de uma pessoa desaparecida. Tal facto levou a que muitos países instituíssem bases de dados de perfis de ADN a partir de 1995.

Este objectivo foi oficializado na Europa através da Resolução do Conselho de 9 de Junho de 1997, relativa ao estabelecimento de bases de dados nacionais de ADN, e da Resolução do Conselho de 25 de Junho de 2001, relativa à partilha de perfis de ADN entre os diversos estados membros. A necessidade de partilha de informação entre os diferentes países foi protocolada pelo Acordo de Prüm¹ e, posteriormente,

1 Celebrado na cidade alemã de Prüm, a 27 de Maio de 2005, entre o Reino da Bélgica, a Alemanha, a Espanha, a França, o Luxemburgo, os Países Baixos e a Áustria, com vista a aprofundar a cooperação policial transfronteiras nomeadamente nos domínios da luta contra o terrorismo, a criminalidade organizada e a imigração ilegal e lançando as bases para uma cooperação avançada entre estados membros da União Europeia. Nos termos do Acordo de Prüm, o intercâmbio de informações abrange, para efeitos de prevenção e investigação de infracções penais e de manutenção da ordem e segurança públicas, as matérias relativas, nomeadamente, aos perfis de ADN, aos dados dactiloscópicos, a outros dados pessoais com aqueles relacionados, e aos dados relativos aos registos de matrícula de veículos.

pela Decisão do Conselho 2008/615/JAI, em 23 de Junho de 2008, referente ao aprofundamento da cooperação transfronteiras, em particular no domínio da luta contra o terrorismo e a criminalidade transfronteiras.

Em Portugal, até à criação da base de dados de perfis de ADN, a comparação entre diferentes processos só era possível em casos isolados, mediante uma indicação expressa da autoridade judiciária. Se ocorresse um determinado crime e se conseguisse colher um vestígio biológico no local, só após a presença de um suspeito ou arguido se poderia fazer um estudo comparativo entre o perfil de ADN do vestígio e o perfil de uma amostra conhecida. A base de dados de perfis de ADN veio permitir a comparação entre o perfil do vestígio e os perfis já existentes nessa base, possibilitando a identificação da pessoa envolvida ou a obtenção de dados informativos relativos à participação noutras situações anteriores. Este aspecto é extremamente relevante no caso de crimes com tendência repetitiva, em que possa existir uma probabilidade significativa da perpetração de um novo crime, o que pode acontecer, por exemplo, nos homicídios dolosos ou nos crimes de natureza sexual.

O nosso País possui, desde há muito, as condições técnicas e científicas necessárias ao estabelecimento de uma base de dados de perfis de ADN. As metodologias seguidas por vários laboratórios Portugueses encontram-se harmonizadas com as estabelecidas em muitos outros laboratórios estrangeiros. Os seus elementos pertencem a sociedades científicas comuns (nomeadamente a Sociedade Internacional de Genética Forense) que, periodicamente, promovem reuniões, congressos e exercícios de controlo de qualidade. Tal

facto, associado à escolha dos mesmos marcadores genéticos na constituição de uma base de dados, é extremamente importante para que seja possível a troca de informações entre os vários países, dada a actual fácil mobilidade de pessoas, designadamente no espaço Europeu.

2. PROCESSO LEGISLATIVO

No ano 2000 foi criado o Instituto Nacional de Medicina Legal (INML)², resultante da fusão dos Institutos de Medicina Legal de Lisboa, Porto e Coimbra. Nesse mesmo ano, considerando o facto de que muitas amostras obtidas em locais de crime não eram sujeitas a comparação por inexistência de qualquer suspeito ou arguido, bem como a criação de bases dados de perfis de ADN em diversos países europeus funcionando com sucesso, este Instituto defendeu publicamente a criação em Portugal de uma base de dados de perfis de ADN.

Um levantamento à data realizado, considerando apenas os casos analisados no INML, revelou que aproximadamente 20% dos perfis obtidos de amostras colhidas no âmbito de investigações criminais nunca foram identificados, pela circunstância de não ter sido presente qualquer suspeito ou arguido para comparação ou, no caso de tal ter ocorrido, pelo facto de o perfil não ter coincidido com o(s) suspeito(s) ou arguido(s) presente(s) a exame. Apesar de este valor não representar a totalidade nacional, pois duas instituições realizam

perícias oficiais na área da criminalística biológica³, evidencia bem o quanto uma base de dados poderia apoiar os processos de investigação criminal. Mesmo que essa proporção de amostras não identificadas fosse substancialmente inferior justificar-se-ia a criação de uma base de dados de perfis de ADN em Portugal.

A circunstância de haver uma Resolução do Conselho da Europa de 9 de Junho de 1997⁴, instando os estados membros a estabelecerem bases de dados de perfis de ADN, constituiu também um argumento a favor da criação de uma base de dados no nosso País. Esta resolução aconselhava os estados membros a criar as suas bases de dados de acordo com os mesmos parâmetros e de forma compatível. Salientou ainda, entre outros aspectos, que a possibilidade de partilha de dados se deveria limitar à parte não codificante do ADN, considerada como não contendo informação relativa a características hereditárias específicas.

A Resolução do Conselho da União Europeia de 25 de Junho de 2001 relativa ao intercâmbio de resultados de análises de ADN⁵ reforça a exigência de os estados membros limitarem a análise do ADN às “*zonas cromossómicas sem expressão genética, ou seja, que, ao que se sabe, não contenham informação sobre características hereditárias específicas*”. Acrescenta ainda a recomendação da cessação da utilização de marcadores genéticos em que venha a ser possível a obtenção de informação

3 Instituto Nacional de Medicina Legal e Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária.

4 Resolução 97/C 193/02, publicada no Jornal Oficial das Comunidades Europeias: N.º C 193, de 24/06/1997, pp. 0002-0003.

5 Resolução 2001/C 187/01, publicada no Jornal Oficial das Comunidades Europeias: N.º C 187, 03/07/2001, pp. 0001-0004.

2 Pelo Decreto-Lei n.º 146/2000, de 18 de Julho. Passou a ser designado por Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P., a partir da publicação do Decreto-Lei n.º 166/2012, de 31 de Julho.

sobre tais características. A Resolução propõe um conjunto de sete marcadores para inclusão nas bases de dados nacionais⁶.

Em 19 de Junho de 2001 o INML organizou, na Universidade de Aveiro, o primeiro seminário sobre bases de dados genéticos, intitulado “Genética ao serviço da Justiça”, que contou com a presença de inúmeras personalidades oriundas não apenas do campo científico, mas também das áreas jurídica, ética e sociológica. Não obstante a inexistência de consensos sobre a matéria, o então Ministro da Justiça⁷, como também o Secretário de Estado da Justiça⁸, salientaram a intenção do Governo no sentido de se avançar para a criação de uma base de dados genéticos em Portugal.

Dezenas de intervenções públicas, palestras, reuniões e seminários ocorreram nos anos que se seguiram, tendo este tema merecido um particular destaque por parte da comunicação social.

Em 2003, a Polícia Judiciária e o INML apresentaram projectos de lei ao Ministério da justiça, com vista à criação de uma base de dados de perfis de ADN.

Contudo, apenas em 2005 e pela primeira vez, o Programa do XVII Governo Constitucional estabeleceu a intenção de criar uma base de dados em Portugal, referindo o seguinte: “... será criada uma base geral de dados genéticos para fins de identificação civil, que servirá igualmente fins de investigação criminal (assegurando-se que a respectiva custódia não competirá a órgão de polícia criminal)”. Conhecendo-se a autoria do Programa do Governo nesta área, não se

estranhou a intenção da criação de uma base de dados geral. Contudo, várias foram as vozes críticas que se levantaram, a nível nacional e internacional, questionando a necessidade, a capacidade e as condições financeiras do País para ter uma base de dados que incluísse a generalidade da população Portuguesa. No entanto, o Governo apressou-se a esclarecer, por intermédio do então Secretário de Estado da Justiça⁹, que se pretendia uma base de dados tendencialmente geral, construída de uma forma faseada e gradual. O segundo pressuposto referido no Programa do Governo estabeleceu que a custódia da base de dados não competiria a órgão de polícia criminal, sem qualquer outra referência, designadamente quanto a motivos para tal condição ou quanto à entidade que tutelaria a base de dados.

Por despacho do Ministro da Justiça¹⁰, de 19 de Janeiro de 2006¹¹, foi criada uma comissão com a incumbência de apresentar até ao final desse ano uma proposta de lei que permitisse a criação da base de dados de perfis de ADN. No que se refere à metodologia proposta e com o intuito de clarificar a interpretação do previsto no Programa do Governo foi estabelecido que, na perspectiva da progressiva e gradual generalização da base de dados, a proposta deveria perspectivar o seguinte:

- a) Constituição e funcionamento de uma base de dados genéticos com fins de investigação criminal;

6 Designados por “European Standard Set”.

7 Dr. António Costa.

8 Dr. Diogo Lacerda Machado.

9 Dr. Tiago Silveira.

10 Dr. Alberto Costa.

11 Publicado em Diário da República, 2.ª série, n.º 24, em 2 de Fevereiro de 2006.

- b) Constituição e funcionamento de uma base de dados genéticos com fins de identificação civil.

A comissão foi constituída por um representante do Ministro da Justiça¹², um representante do Conselho Nacional de Medicina Legal¹³, um representante do Conselho Nacional de Ética e Ciências da Vida¹⁴, uma representante do Laboratório de Polícia Científica (LPC) da Polícia Judiciária¹⁵, uma representante do Centro de Direito Biomédico da Faculdade de Direito da Universidade de Coimbra¹⁶ e um representante do INML¹⁷, que coordenou. Apesar de o despacho ministerial que criou a comissão ter previsto a presença de um elemento da Comissão Nacional de Protecção de Dados, esta entidade entendeu não indicar representante pelo facto de ter de vir a pronunciar-se posteriormente, após a elaboração da proposta.

Uma das questões prévias levantadas referiu-se à aplicabilidade, neste âmbito, da Lei n.º 12/2005, de 26 de Janeiro, relativa a informação genética pessoal e informação de saúde, dado que o seu artigo 1.º estabelece que a referida lei *“define o conceito de informação de saúde e de informação genética, a circulação de informação e a intervenção sobre o genoma humano no sistema de saúde, bem como as regras para a colheita e conservação de produtos biológicos para efeitos de testes genéticos ou de investigação”*. Apesar de diversas normas e pressupostos da referida

lei poderem ser aplicáveis às perícias de genética forense, as especificidades de uma base de dados com fins forenses bem como a multiplicidade de questões próprias desta área justificavam a aprovação de uma lei nesta matéria. Esse terá sido o entendimento do legislador ao referir, no n.º 19 do artigo 19.º da referida lei, que *“os bancos de produtos biológicos constituídos para fins forenses de identificação criminal ou outros devem ser objecto de regulamentação específica”*.

Entre os diversos diplomas tomados em consideração pela comissão salienta-se a Lei de Protecção de Dados Pessoais¹⁸. Os conceitos de dados pessoais, ficheiros de dados pessoais, normas relativas ao consentimento e aspectos relacionados com o tratamento e interconexão dos dados foram assimilados da referida lei, procurando-se que o projecto em nada contrariasse as orientações estabelecidas nesse diploma.

Também os pressupostos estabelecidos no Código de Processo Penal foram amplamente considerados, designadamente no que se refere às questões relativas à sujeição a exame e ao despacho que ordena a perícia, entre outros aspectos. Salienta-se que não houve qualquer indicação no sentido da articulação entre os trabalhos da comissão que preparou o projecto relativo à criação da base de dados e da que procedia à revisão do Código de Processo Penal.

A comissão elaborou o projecto durante o ano de 2006, tendo solicitado e tomado em consideração o parecer de múltiplas entidades e personalidades de algum modo ligadas a este tema, através de um inquérito elaborado para esse

12 Dr. Diogo Lacerda Machado.

13 Prof. Doutor André Pereira.

14 Prof. Doutor Jorge Soares.

15 Dr^a. Saudade Nunes.

16 Prof^a. Doutora Helena Moniz.

17 O autor do presente capítulo.

18 Lei n.º 67/98, de 26 de Outubro.

efeito, elencando as questões mais problemáticas e controversas.

Foi realizado o levantamento nacional e internacional de estudos, artigos de opinião e resultados das bases de dados genéticos em funcionamento, o que permitiu à comissão a análise comparada das questões suscitadas por esta matéria.

Em 27 de Outubro de 2006, o INML organizou, conjuntamente com o Centro de Direito Biomédico da Universidade de Coimbra, um seminário internacional¹⁹ em que foram apresentadas e discutidas, por representantes de diversos países, as principais bases de dados em funcionamento.

A proposta de diploma foi concluída pela comissão, tendo sido entregue ao Ministro da Justiça no dia 18 de Dezembro de 2006.

No início de 2007, o Governo colocou em discussão pública o projecto²⁰.

Foi solicitado parecer à Comissão Nacional de Protecção de Dados que se pronunciou²¹ manifestando preocupação pela possibilidade da obtenção de outro tipo de informação a partir do ADN não codificante, além da necessária para a identificação genética individual. O parecer considerou positiva a criação da base de dados para fins de investigação criminal, defendendo contudo a inadmissibilidade da coercibilidade física para submissão ao exame e a obrigatoriedade da existência de decisão judicial fundamentada. No

que se refere ao critério temporal da inserção do perfil, considerou excessiva a inserção de perfis de condenados a penas concretas de 3 anos de prisão, referindo dever ser substituída pela pena concreta de 10 ou, no máximo admitido, de 5 anos de prisão efectiva. No que se refere à vertente da identificação civil²² considerou não ser necessária e ser excessiva, *“dada a sua obrigatória universalidade, por um lado, e dada a excepcionalidade da finalidade da sua criação”*, apenas se concebendo *“no contexto de catástrofes e acidentes imprevisíveis e absolutamente excepcionais”*.

O Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida pronunciou-se²³ considerando justificável a criação de uma base de dados de perfis de ADN, desde que salvaguardados os princípios de transparência, independência e qualidade. O parecer orientou-se no sentido de a base poder conter perfis de pessoas condenadas por crimes graves ou inimputáveis perigosos, no que se refere à vertente criminal, bem como perfis para identificação de vítimas e de pessoas desaparecidas e seus familiares. Chamou a atenção para a necessidade da eliminação dos dados, no caso de algum dos marcadores vir a demonstrar uma associação a uma doença ou um traço comportamental. Além da obtenção do consentimento informado, escrito e revogável por parte de voluntários, familiares de pessoas desaparecidas e profissionais, defendeu que se deveria obter também o assentimento das pessoas condenadas. Foi defendida a destruição das amostras biológicas identificadas, após a obtenção dos perfis, tendo sido peremptória a recusa

19 Decorreu na Faculdade de Direito da Universidade de Coimbra.

20 Apesar de se ter procurado uma participação pública alargada e de o Ministério da Justiça ter colocado o projecto, durante cerca de três meses, na sua página electrónica, com relevo na página de abertura, não houve um único comentário, sugestão ou crítica que tivesse sido apresentado.

21 Através dos seus pareceres n.º 18/2007, de 19 de Abril de 2007, e n.º 41/2007, de 16 de Julho de 2007.

22 Apesar do registo de que o fundamento da sua criação se destinava à identificação de desaparecidos.

23 Através do seu parecer n.º 52/CNECV/2007, de 12 de Junho de 2007.

da possibilidade de recurso, para fins criminais, a bancos de material biológico pré-existentes criados com fins médicos ou de investigação. Foi considerado que tanto a custódia das amostras como da base de dados deveria estar a cargo de uma entidade independente, pluridisciplinar e que não fosse parte interessada na investigação. Quanto a aspectos relativos à segurança dos dados, referiu-se a necessidade de uma separação entre o ficheiro dos dados pessoais e o ficheiro dos perfis de ADN, bem como a limitação da cooperação internacional à partilha de perfis de ADN e não de amostras biológicas.

Em 8 de Junho de 2007 a proposta de Lei 144/X deu entrada na Assembleia da República. Foi aprovada na generalidade, no dia 27 de Setembro de 2007²⁴. A aprovação final global ocorreu no dia 6 de Dezembro de 2007²⁵.

A lei que aprovou a criação em Portugal da base de dados de perfis de ADN foi finalmente publicada em 12 de Fevereiro de 2008 (Lei n.º 5/2008).

No que se refere ao funcionamento da base de dados, alguns pontos foram acrescentados à versão entregue pela comissão que preparou a proposta, entre os quais:

- artigo 8º: acrescentado o n.º 6;
- artigo 19º: a proposta previa, no n.º 1, que a comunicação dos dados pudesse ser feita “... aos magistrados do processo,

- aos órgãos de polícia criminal e ao INML”, passando a redacção final a permitir a comunicação dos dados “ao juiz competente consoante o tipo ou fase do processo, mediante requerimento fundamentado”;
- artigo 26º: acrescentados a alínea e) no n.º 1 e o n.º 2;
- artigo 34º: o n.º 2 passou a limitar a utilização como meio probatório das amostras colhidas ao abrigo do disposto no n.º 1 do artigo 8.º ao respectivo processo.

Nos termos do artigo 39.º da Lei n.º 5/2008, o regulamento de funcionamento da base de dados seria aprovado pelo conselho médico-legal do INML, no prazo de seis meses após a publicação da lei. O referido regulamento foi elaborado, discutido e aprovado pelo conselho médico-legal na sua reunião de 15 de Julho de 2008²⁶.

O conselho de fiscalização da base de dados, estabelecido pelo artigo 29.º da Lei n.º 5/2008, após eleição, foi designado pela Assembleia da República em 26 de Fevereiro de 2009²⁷.

Elementos do INML foram aos Estados Unidos da América fazer formação no laboratório do FBI na Virginia²⁸, tendo ficado habilitados a trabalhar com o programa CODIS²⁹. O programa CODIS foi instalado no INML em Março de 2009³⁰, tendo

²⁴ Com votos a favor do PS e do PSD, votos contra do PCP, do BE, de Os Verdes e de dois Deputados do PSD e a abstenção do CDS-PP.

²⁵ Com votos a favor do PS e do PSD, votos contra do PCP, do BE, de Os Verdes, de 2 Deputados do PSD e de uma Deputada não inscrita e a abstenção do CDS-PP.

²⁶ Vindo a ser publicado em Diário da República, 2.ª série, n.º 234, de 3 de Dezembro de 2008.

²⁷ Constituído pelo Conselheiro Manuel Simas Santos, pela Prof.ª Doutora Helena Moniz Falcão de Oliveira e pela Prof.ª Doutora Paula Ribeiro de Faria, nos termos da Resolução da Assembleia da República n.º 14/2009.

²⁸ Em Fevereiro de 2009.

²⁹ *Combined DNA Index System*.

³⁰ Instalação concretizada entre 16 e 18 de Março de 2009, pelo Dr. Kenneth Walker, CODIS International Installation

sido modificado no sentido da sua adaptação à Lei n.º 5/2008.

Tal como previsto no artigo 12.º da Lei n.º 5/2008, a portaria conjunta dos Ministérios da Justiça e da Saúde relativa aos marcadores de ADN a integrar a base de dados foi publicada em 17 de Março de 2009³¹.

Na sequência de candidatura a programa da Comissão Europeia³², o INML conseguiu obter financiamento que lhe permitiu adaptar os seus laboratórios às exigências periciais acrescidas relacionadas com a criação e entrada em funcionamento da base de dados de perfis de ADN.

De acordo com o estabelecido pelo artigo 16.º do regulamento de funcionamento da base de dados de perfis de ADN, foi elaborado um manual de procedimentos relativo às regras técnicas do seu funcionamento, com vista a assegurar a qualidade, a segurança e a confidencialidade da base. O manual de procedimentos foi elaborado por elementos do INML e do LPC³³.

Face à necessidade de serem observados critérios rígidos relativos à colheita das amostras, tanto a nível dos laboratórios que procedem à realização das análises como pelos restantes serviços médico-legais e por autoridades policiais, foram elaboradas normas específicas de recolha de amostras no âmbito da base de dados de perfis de ADN³⁴, por elementos do INML e do LPC,

Coordinator, e pelo Eng.º César Ferreira, Coordenador Técnico designado pelo INML para a base de dados.

31 Portaria n.º 270/2009.

32 *“Prevention of and Fight against Crime 2007”*, da anterior Direcção-Geral da Justiça, Liberdade e Segurança.

33 Aprovado em reunião do Conselho Directivo do INML em 16 de Novembro de 2009.

34 Aprovadas em reunião do Conselho Directivo do INML em 26 de Abril de 2010.

tendo sido divulgadas pelas entidades referidas que procedem a colheitas.

O primeiro perfil de ADN foi inserido na base de dados no dia 12 de Fevereiro de 2010, ou seja, dois anos após a publicação da Lei n.º 5/2008.

Por Resolução de 7 de Junho de 2013, na sequência de eleição, foi designado pela Assembleia da República o novo Conselho de Fiscalização da base de dados de perfis de ADN³⁵.

A Lei n.º 40/2013, de 25 de Junho, veio aprovar a organização e funcionamento do conselho de fiscalização da base de dados de perfis de ADN³⁶, bem como proceder à primeira alteração deste diploma. Previa a Lei n.º 5/2008, no seu artigo 5.º, n.º 2, que *“Sob proposta de uma das entidades referidas no número anterior [LPC ou INML], e com autorização do Ministério da Justiça e do ministério que tutela o laboratório proposto, a análise dos perfis de ADN pode ser realizada por outros laboratórios”*. A nova redacção do referido n.º 2 passou a dizer apenas que *“Análise dos perfis de ADN pode ser realizada por outros laboratórios, mediante autorização do Ministério da Justiça e do ministério que exerça tutela sobre eles”*³⁷.

35 Constituído pelo Desembargador António Casebre Latas, pelo Médico e Deputado Dr. Ricardo Baptista Leite e pela Advogada Dr.ª Maria Helena Terra Brandão de Sousa, nos termos da Resolução da Assembleia da República n.º 81/2013.

36 De acordo com o previsto no artigo 30.º da Lei n.º 5/2008.

37 O enunciado existente justificava-se pelo facto de ter sido entendido que no caso de excesso de determinações judiciais de inserção de perfis, que ultrapassassem as capacidades dos laboratórios do LPC e do INML, estas entidades públicas poderiam solicitar apoio a outros laboratórios que oferecessem garantias de qualidade, o que estariam em condições de comprovar dado ser a área em que exercem actividade.

3. CARACTERÍSTICAS DA BASE DE DADOS

3.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

No que se refere aos critérios de inclusão, várias questões e hipóteses foram equacionadas e amplamente discutidas, entre as quais as seguintes:

- a) Criar uma base de dados geral ou inserção dirigida a um determinado grupo?
- b) Limitar a base de dados à vertente da investigação criminal ou incluir também a vertente da identificação civil?
- c) No âmbito criminal, inserir apenas perfis de condenados ou incluir também perfis de suspeitos ou arguidos?
- d) Ter como critério de inserção a medida da pena ou estabelecer um catálogo de crimes?
- e) Que medida de pena estabelecer?

3.1.1. Várias foram as propostas no sentido de ser criada uma base de dados geral, que incluísse toda a população Portuguesa. Tal proposta foi apresentada, sobretudo, por juristas, pois as pessoas com formação na área científica defendiam, de forma quase consensual, a existência de uma base de dados mais limitada. O principal argumento jurídico apresentado sustentava-se no fundamento de que estaria mais conforme à Constituição a criação de uma base de dados geral em vez de uma outra que incluísse apenas um determinado grupo da população, embora tal não tivesse sido também consensual entre os juristas consultados. Defendia-se essa posição

com a justificação de que uma lei deve ser geral e abstracta, não podendo ser aplicável apenas, no caso, a um predeterminado grupo de pessoas condenadas. Foram apresentadas algumas sugestões sobre como poderia ser construída essa base de dados geral, entre as quais a da possibilidade da recolha sistemática de amostras aos recém-nascidos ou a colheita a todos os cidadãos aquando da renovação do bilhete de identidade. Foi dado o exemplo do projecto da identificação dos cerca de 270 000 habitantes da Islândia³⁸, apesar de se saber que essa base de dados teve finalidades essencialmente clínicas.

No entanto, vários argumentos relevantes foram apresentados contra tais propostas. Desde logo a inexequibilidade da sua concretização em breve prazo. Portugal não possuía, nem possui, laboratórios com capacidade suficiente para proceder a centenas de milhares de análises anuais e seria extremamente dispendioso e moroso ter de criar novos laboratórios e formar recursos humanos que pudessem dar resposta a essas exigências. Salienta-se que a comunidade científica internacional considera que um perito poderá subscrever autonomamente um relatório pericial apenas após três anos de exercício de actividade pericial. E, além disso, seria uma opção menos segura a de que novos laboratórios e pessoas recentemente contratadas para o efeito assumissem a responsabilidade da determinação de perfis de ADN para inserir numa base de dados, em comparação com laboratórios e peritos com anos de experiência no exercício pericial.

Por outro lado, tal solução apresentaria uma taxa proporcional de sucesso no apoio à

³⁸ *DeCode Genetics.*

investigação criminal muito inferior à verificada para a generalidade dos países. Dado que apenas uma determinada proporção de indivíduos de uma população comete crimes, se analisássemos os perfis de ADN de toda a população em vez de somente os que estão envolvidos em actividades criminosas, a taxa proporcional de sucesso seria naturalmente inferior. O número de sucessos seria superior, mas a proporção de resultados positivos relativamente ao total analisado seria seguramente muito inferior. Em resumo, seria uma solução muito mais dispendiosa, com uma taxa proporcional de sucesso inferior, portanto mais difícil de defender, além de ser inexecutável a breve prazo em Portugal. Não sendo uma solução rejeitada pela maioria dos que se pronunciaram quanto a este aspecto, entendeu-se que seria mais adequado avançar por etapas: elaborar, em primeiro lugar, uma proposta dirigida aos processos de investigação que pudessem beneficiar das potencialidades de uma base de dados e, futuramente, perspectivar o seu alargamento à população em geral³⁹.

Assim, apesar de ter os seus defensores e de constituir uma proposta com argumentos muito válidos, a solução da criação de uma base de dados geral a curto prazo acabou por ser preterida.

3.1.2. No que se refere à questão de limitar a base de dados à vertente da investigação criminal ou incluir também a vertente da identificação civil, foi praticamente consensual a aceitação das potencialidades que a inclusão de perfis de ADN com fins de identificação civil poderia trazer. Não obstante o facto de a maioria dos países europeus

privilegiar a vertente criminal nas suas bases de dados, alguns incluem também o âmbito da identificação civil. Uma base de dados de perfis de ADN poderá ser útil para a identificação de corpos, não apenas em situações de catástrofes, mas também para apoiar os casos isolados com que se confrontam os serviços médico-legais no decurso da sua actividade pericial diária. Aliás, as bases de dados de âmbito nacional servem essencialmente este último propósito e não o primeiro, ao contrário do que foi defendido pela generalidade dos que justificavam não serem necessárias as finalidades de identificação civil da base de dados, referindo que em Portugal não ocorriam muitas catástrofes. Se ocorrer uma catástrofe no nosso País, quer se trate de uma situação usualmente chamada de catástrofe fechada⁴⁰ (como pode ser a queda de avião) ou de uma catástrofe aberta⁴¹ (como, por exemplo, um terramoto), existe usualmente uma investigação concertada, sob a coordenação de um magistrado do Ministério Público. Mesmo na ausência de lei própria para uma base de dados perfis de ADN, nada impediria que fosse criada uma base de dados específica para investigação do caso concreto, com o objectivo de comparar os perfis obtidos das vítimas com os dos familiares das pessoas envolvidas ou outras amostras de referência. Tal aconteceu por diversas ocasiões, sempre que necessário e determinado pela autoridade judiciária. Nunca foi aí que residiu o problema, porque a legislação possuía mecanismos de responder a essa necessidade da investigação pericial.

39 Uma solução semelhante às propostas que têm sido feitas no Reino Unido, face à constatação de que a base de dados inclui já a generalidade dos cidadãos criminosos.

40 Em que é conhecido o número de vítimas.

41 Em que pode não ser conhecido o número e a identidade das vítimas.

O problema colocava-se no caso dos corpos não identificados que iam dando entrada nos serviços médico-legais e que, após o recurso a todas as outras metodologias de identificação possíveis, eram inumados por identificar. Simultaneamente existiam pedidos de familiares de pessoas desaparecidas e de autoridades policiais no sentido de se saber se determinados corpos teriam dado entrada nalgum dos serviços médico-legais do País. Havendo alguma suspeita de que um determinado corpo pudesse pertencer a uma pessoa específica, mesmo que surgido em local distinto do que seria de esperar ou mesmo que muito tempo após o seu desaparecimento, nada impedia que o magistrado responsável pelo processo mandasse proceder à comparação genética. A maior dificuldade colocava-se quando não havia qualquer suspeita. Nessas circunstâncias sempre foi entendimento do INML (apesar de ser um instituto com abrangência de actuação a todo o território nacional e de ser tecnicamente possível a confrontação entre os diferentes casos isolados) que não lhe era permitido estar a comparar distintos processos, sob a alçada de diferentes (ou até dos mesmos) tribunais, sem uma determinação de um magistrado nesse sentido. Este foi o objectivo principal que justificou a necessidade da vertente de identificação civil da base de dados e não o problema das catástrofes, como erroneamente se interpretou.

Mas acrescenta-se, no que se refere às grandes catástrofes, nomeadamente às catástrofes abertas, que por vezes nem todos os corpos são identificados nem aparecem todas as pessoas desaparecidas. Nessas circunstâncias, o processo de identificação das vítimas poderá prolongar-se por muitos anos sem que o processo seja encerrado.

A questão que aqui se poderia colocar seria a da opção entre uma base de dados para cada uma das catástrofes que pudessem ocorrer ou ter apenas uma única base de dados nacional que integrasse estes diferentes processos. Não temos dúvidas em defender que é vantajosa a existência de apenas uma única base de dados nacional. Existindo mais do que uma grande catástrofe, em que nem todas as vítimas tenham sido localizadas e identificadas, seria possível o aparecimento posterior de corpos cujos perfis teriam de ser comparados com as diversas bases de dados até à sua identificação. Seria um processo complexo e desnecessário face à alternativa da existência de apenas uma única base de dados nacional que permita a comparação entre os perfis de todos os corpos não identificados que apareçam (independentemente do local e do tempo) com todos os perfis de familiares de pessoas desaparecidas ou de outras amostras de referência.

3.1.3. No que diz respeito à vertente criminal da base de dados de perfis de ADN colocou-se a questão de inserir apenas perfis de condenados ou incluir também perfis de suspeitos ou arguidos.

O facto de o processo de criação da base de dados nacional ter sido iniciado quando a maioria dos países europeus possuía já experiência de vários anos de funcionamento das suas bases de dados permitiu ter em consideração os respectivos resultados. Nesse âmbito, constatou-se uma taxa de sucesso superior para suspeitos⁴² em comparação com condenados, no que se refere a coincidências obtidas. A inclusão de perfis de

⁴² Tradução de *suspects*, o que pode incluir o correspondente a suspeitos e a arguidos, dependendo dos ordenamentos jurídicos de cada país.

suspeitos foi observada em países como o Reino Unido, a Áustria, a Alemanha, a Finlândia ou a Suíça, entre outros. Além disso, foi consensual, entre os investigadores criminais consultados, a opinião de que seria útil a inclusão de perfis de ADN de suspeitos na base de dados nacional.

No entanto, foi também praticamente consensual, entre os juristas que se pronunciaram relativamente a este aspecto, que a previsão de um ficheiro de suspeitos ou arguidos na base de dados levaria a que a proposta pudesse ser inconstitucional, com o argumento de que esses cidadãos são inocentes até prova em contrário.

Neste aspecto, como em diversos outros, a comissão que elaborou a proposta optou pela posição mais cautelosa, sempre no pressuposto de que seria mais benéfico para o País ter uma base de dados mais restritiva mas que pudesse ser aprovada, do que apresentar uma proposta mais arrojada que não conseguisse obter o consenso suficiente para a sua aprovação e que levaria, provavelmente, a mais alguns anos de discussão e de atraso na criação desta importante ferramenta. A experiência observada em diversos outros países mostrou também que muitos começaram com bases de dados restritivas e que, progressivamente e à medida que os receios iniciais foram desaparecendo e a sociedade passou a conhecer melhor e a ter mais confiança neste instrumento, alargaram a sua abrangência. Assumidas voluntariamente, as opções foram no sentido referido, deixando para uma fase posterior os aperfeiçoamentos que a experiência viesse a demonstrar necessários.

No entanto, e para de algum modo se poder satisfazer as necessidades legítimas da investigação criminal, foi prevista a possibilidade de interconexão de perfis de arguidos com os perfis de

amostras problema existentes na base de dados. Essa possibilidade pode ser exercida sempre que for entendido necessária, nos termos da lei aprovada. Por essa via não se equipararam os arguidos aos condenados, no sentido da permanência dos seus perfis na base de dados, mas não se retirou à investigação criminal uma ferramenta que lhe pode ser extremamente útil, salvaguardados os direitos daqueles cidadãos.

3.1.4. Quanto à questão de ter como critério de inserção a medida da pena ou um catálogo de crimes, observou-se não serem uniformes as opções seguidas nos diversos estados europeus. Países como a Holanda, a Suécia, a Dinamarca ou a Suíça optaram por ter como critério a medida da pena. França, Finlândia ou Noruega, entre outros, definiram um catálogo de crimes como critério de inclusão.

Esta foi uma das questões em que não houve unanimidade de opiniões, nem no seio da comissão que preparou a proposta legislativa, nem nas pessoas consultadas sobre a matéria. Acabou por prevalecer o critério da medida da pena. Um dos argumentos que mais pesou consistiu na constatação de que a genética forense pode cada vez mais fornecer resultados não apenas nos crimes contra a vida e as pessoas, em que com maior probabilidade pode existir material biológico facilmente identificável, mas também noutro qualquer tipo de crime, em que pode ser possível a identificação de um perfil genético num documento manuseado ou num objecto agarrado. Não haveria, assim, qualquer critério científico sólido que constituísse um argumento irrefutável para escolher alguns crimes em detrimento de outros. Não havendo argumento científico irrefutável,

com que justificação se escolheriam alguns crimes relativamente a outros? Que outro critério, melhor do que o da gravidade do crime cometido poderia ser considerado? Fixando o Código Penal a mesma medida de pena para dois tipos de crime distintos, com que fundamento se incluiria um deles e se excluiria o outro? Assim, apesar de não ter existido unanimidade no seio da comissão, a opção pelo critério da medida da pena foi a posição maioritária e que acabou por ser apresentada na proposta final.

3.1.5. A questão que se colocou em seguida foi a de qual a medida da pena a considerar. Não havia um padrão uniforme entre os diversos países que tinham optado pelo critério da medida da pena: a Suíça estabeleceu como critério um ano, a Dinamarca um ano e meio, a Suécia dois anos, a Holanda quatro anos, etc. Através dos resultados observados em vários países, concluiu-se que não apenas crimes muito graves ou graves obtinham coincidências identificativas nas diversas bases de dados, mas também crimes de menor gravidade. Por exemplo as situações em que tinha ocorrido o crime de roubo caracterizavam-se por uma taxa de identificação muito elevada dos seus supostos autores. Além disso, foram tomados em consideração dados que apontavam para a utilidade da inserção precoce do perfil de ADN de um indivíduo que se inicie em actividades criminosas. Investigadores criminais consultados referiram não apenas a observação de uma tendência repetitiva no cometimento de alguns tipos de crime, mas principalmente a circunstância de que é comum o início das actividades criminosas com crimes de pequena gravidade, com evolução posterior para crimes de maior gravidade. A título de exemplo,

dados da Grã-Bretanha tomados em consideração afirmavam que menos de um quarto das detenções se referiam a novos indivíduos, 85% dos criminosos tinham a sua primeira condenação entre os 14 e os 19 anos de idade, a probabilidade de um indivíduo de 14 anos reincidir no crime era de 77% e que 20% dos criminosos cometiam 80% dos crimes⁴³.

Contudo, um dos aspectos a observar teria necessariamente de ser a exequibilidade da proposta legislativa. Foi entendido que não deveria ser apresentada uma proposta que não fosse possível de concretizar com os meios laboratoriais ao dispor do País ou, pelo menos, que não implicasse investimentos muito avultados para as capacidades financeiras nacionais.

Com base nos dados estatísticos disponibilizados pelo Ministério da Justiça, foi feito um levantamento sobre o número de condenações existentes de acordo com a medida da pena aplicada. Verificou-se, no que diz respeito a condenações com pena igual ou superior a três anos, que havia cerca de seis mil condenações por ano em Portugal. Admitindo-se que, no limite, todas as condenações implicassem a determinação do perfil genético, tal acréscimo de exames laboratoriais seria possível de suportar pelos quatro laboratórios perspectivados para a realização das perícias (os três laboratórios do INML e o LPC), com o eventual apoio de outro laboratório nacional cumpridor dos requisitos de qualidade, se se viesse a revelar necessário.

43 BUSHYER, L. — The use of the UK National DNA Database to support an intelligence-led approach to the investigation of crime. *Journal de Médecine Légale Droit Médical*. (2002), p. 21-25.

Apesar de ter sido defendida uma maior abrangência da base de dados, por exemplo estabelecendo como critério de inserção uma condenação com uma pena igual ou superior a dois anos ou até igual ou superior a um ano (à semelhança de outros países), tal facto originaria a necessidade de realizar dezenas ou centenas de milhares de exames laboratoriais o que seria absolutamente impossível de concretizar a breve prazo com os recursos actualmente existentes. E se fosse necessário criar novos laboratórios e formar muito mais pessoas, o nosso País iria ter de aguardar alguns anos até que fosse possível ter todas essas condições, além do investimento avultado que teria de ser feito. Mais uma vez se introduziria um risco acrescido para a segurança dos resultados se fosse atribuída a responsabilidade da determinação de perfis de ADN para inserção numa base de dados a pessoas recentemente contratadas ou a laboratórios sem experiência consolidada de exames de genética forense.

A perspectiva da determinação do perfil de ADN na generalidade dos casos em que ocorresse uma condenação com pena concreta de prisão igual ou superior a três anos teve como pressuposto a automaticidade da inserção, desde que verificados os requisitos legais confirmados por magistrado judicial⁴⁴.

Face ao enunciado da Lei, a defesa da automaticidade da inserção, no caso da condenação em pena concreta de prisão igual ou superior a três anos, é apontada por Inês Ferreira Leite⁴⁵ e

44 O que não se veio a verificar, pelo número de perfis inseridos após quatro anos de funcionamento da base de dados.

45 A nova base de dados de perfis de ADN», Boletim Informativo da FDUL-IDPCC, Ano 1, Ed. 5, Outubro-Novembro 2009 (nota 16).

Paulo P. Albuquerque⁴⁶, sendo defendida uma “quase automaticidade” por Jorge Reis Bravo⁴⁷. A jurisprudência divide-se entre a propensão para a automaticidade⁴⁸ e o entendimento contrário⁴⁹.

Em suma, a proposta contemplou a possibilidade de inserção de perfis para investigação criminal (amostras problema e condenados), perfis para identificação civil (amostras problema e amostras referência), perfis de voluntários (com as duas finalidades) e perfis de profissionais (para detecção de contaminações).

A Lei n.º 5/2008 veio estabelecer a criação dos seguintes ficheiros, de acordo com as respectivas alíneas do seu artigo 15º:

- a) ficheiro de voluntários;
- b) ficheiro de amostras problema para identificação civil;
- c) ficheiro de amostras referência para identificação civil;

46 Comentário do Código de Processo Penal à luz da Constituição da República e da Convenção Europeia dos Direitos do Homem, 3.º. ed. actualiz. Universidade Católica Ed., Lisboa, 2009, p. 467.

47 Perfis de ADN de arguidos-condenados (o art. 8.º, n.ºs 2 e 3, da Lei n.º 5/2008, de 12-02, Revista Portuguesa de Ciência Criminal - Ano 20, N.º 1, 2010 e I. O aprofundamento da cooperação transnacional em matéria de intercâmbio de prova genética. II. A ordem de recolha de amostras em condenados, para análise e inserção na Base de Dados de Perfis de ADN. Abordagens preliminares. Encontro de trabalho. Conselho de Fiscalização da Base de Dados de Perfis de ADN -Procurador-Geral da República e P. G. Distritais. Aspetos Práticos e Teóricos do Funcionamento da Base de Dados de ADN e da Obtenção da Prova por ADN em Processo Penal. Coimbra, 07 de março de 2014.

48 Acórdãos da Relação de Évora de 13.12.2011 (relator Desembargador Alberto João Borges) e de 15.05.2012 (relator Desembargador António J. Latas).

49 Acórdão da Relação de Lisboa de 11.10.2011 (relator Desembargador Agostinho Torres).

- d) ficheiro de amostras problema para investigação criminal;
- e) ficheiro de condenados;
- f) ficheiro de profissionais.

No seu artigo 18.º, a Lei n.º 5/2008 definiu quem possui legitimidade para mandar inserir os perfis de ADN:

- os perfis relativos a voluntários, a parentes de pessoas desaparecidas ou a profissionais são inseridos mediante o seu consentimento livre, informado e escrito⁵⁰;
- os perfis relativos a amostras problema para investigação criminal ou para identificação civil são inseridos mediante despacho do magistrado competente no respectivo processo⁵¹;
- os perfis relativos a condenados são inseridos mediante despacho do juiz de julgamento⁵².

3.2. CRITÉRIOS DE INTERCONEXÃO

A interconexão de perfis deve estar sujeita a regras estritas, no sentido de garantir que apenas é possível a sua utilização para os fins que motivaram a respectiva colheita. Cada nova inserção origina a realização das interconexões previstas na lei, sem necessidade de qualquer determinação suplementar. A lei estabelece a necessidade de um despacho de magistrado para a inserção de um perfil de uma amostra problema

ou de um condenado nos respectivos ficheiros da base, não exigindo um despacho autónomo para a interconexão. Assim, cada inserção origina as interconexões previstas na lei, que são realizadas pelo programa informático que foi adaptado à Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

Os perfis de parentes de pessoas desaparecidas bem como de outras amostras referência de pessoas desaparecidas apenas são cruzados com os perfis relativos às amostras problema para identificação civil⁵³.

Os perfis dos voluntários são cruzados com todos os ficheiros da base de dados⁵⁴.

Os perfis de amostras problema para investigação criminal e os perfis de condenados são cruzados com todos os ficheiros, excepto com os perfis relativos às amostras referência para identificação civil⁵⁵.

No que se refere aos perfis dos arguidos⁵⁶, apesar de não poderem ser inseridos na base de dados de perfis de ADN, pois não existe ficheiro de arguidos, poderão ser comparados com os perfis das amostras problema para investigação criminal e amostras problema para identificação civil, além de com os perfis dos profissionais⁵⁷.

O facto de ter sido proposto que o artigo 8º n.º1, da Lei n.º 5/2008, se limitasse à possibilidade de interconexão de perfis de indivíduos com o estatuto processual de arguido e excluísse que tal pudesse ser concretizado no caso de meros suspeitos deveu-se à circunstância de se saber que

50 Alíneas a) e b) do nº 1 do artigo 18º.

51 Nº 2, do artigo 18º.

52 Nº 3, do artigo 18º.

53 Artigo 20º, nº 2, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

54 Artigo 20º, nº 3, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

55 Artigo 20º, nº 4, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

56 Amostras colhidas ao abrigo do artigo 8º, nº 1, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

57 Artigo 20º, nº 1, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro.

à medida que a base de dados vai aumentando em número de perfis maior a possibilidade de ocorrer uma coincidência fortuita entre o perfil de uma amostra referência e um perfil de uma amostra problema que não estando relacionada com um crime foi colhida no respectivo exame do local. É sabido que nem todas as amostras colhidas em locais de crime estão relacionadas com esse crime. Pessoas que de forma fortuita tenham estado presentes nesse local, antes ou após a ocorrência de um crime, poderão deixar involuntariamente uma amostra biológica que não está relacionada com o crime. Assim, para evitar essas “falsas” coincidências, elevou-se o grau de exigência para a possibilidade de interconexão de perfis de indivíduos em processo de investigação criminal, exigindo-se o estatuto de arguido. Este estatuto tem como pressuposto a existência prévia de fundadas suspeitas no envolvimento em determinado crime e, além disso, confere garantias processuais e constitucionais que o mero suspeito não possui. A opção assumida pretendeu deixar ao critério do magistrado judicial a verificação da necessidade da realização da recolha, tendo em conta o direito à integridade pessoal e à reserva da intimidade do arguido.

Existindo uma coincidência, os respectivos magistrados que determinaram a inserção são informados desse facto, consoante os casos, e, se assim for determinado, a comunicação dos dados será feita aos juízes titulares dos processos.

Em processos individuais, sempre que necessário e nos termos do Código de Processo Penal, poderão ser realizadas comparações entre suspeito(s) e amostra(s) recolhida(s) em local de crime, como sucedia antes da entrada em vigor da Lei n.º 5/2008 e continua a suceder após a

sua entrada em vigor. Salienta-se que nunca foi perspectivado ou discutido, pela comissão que preparou o projecto, a aplicação deste diploma às perícias em geral, na área da criminalística biológica. A comissão sempre teve o entendimento de que a proposta que estava a elaborar se aplicaria apenas à base de dados de perfis de ADN, pois apenas para tal estava mandatada, aliás como veio a ficar explícito na designação da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro, que “Aprova a criação de uma base de dados de perfis de ADN para fins de identificação civil e criminal”.

3.3. CRITÉRIOS DE REMOÇÃO

Antes de ser discutido este assunto, a comissão que elaborou a proposta legislativa fez também um levantamento da realidade europeia, no que diz respeito aos critérios de remoção dos perfis de ADN das bases de dados. Se no que se refere aos perfis das amostras problema não foram observadas grandes questões que originassem discordâncias, seguindo-se um critério utilitarista, com os perfis a permanecerem na base de dados enquanto forem necessários, o mesmo não foi observado relativamente aos perfis dos condenados e dos suspeitos/arguidos. Quanto a estes últimos, não foram observados critérios de remoção uniformes nos diversos países europeus.

Constatou-se, por exemplo, que a Alemanha remove os perfis dos adultos após 10 anos de inserção e dos adolescentes após 5 anos. A extensão desse período é possível se houver um perigo de repetição da ofensa, podendo não haver remoção no caso de homicídio ou de crimes sexuais.

Na Suíça os perfis são removidos após 30 anos, podendo também ser removidos após a

morte. Podem ainda ser removidos mais cedo, aos 20 anos, em determinadas circunstâncias favorecedoras.

Em França, os perfis dos condenados são removidos após 40 anos desde a última sentença ou quando os indivíduos atingem os 80 anos de idade.

No caso da Suécia, os perfis são removidos 10 anos após a sentença cumprida.

Na Bélgica removem-se os perfis 10 anos após a morte do condenado.

No Reino Unido é permitida a retenção dos perfis de forma intemporal. Inicialmente, apenas os perfis das pessoas não condenadas eram removidos, após o que se determinou a não remoção mesmo das pessoas não condenadas. Tal facto motivou a apresentação de duas queixas⁵⁸ no Tribunal Europeu dos Direitos Humanos, que concluiu ter esse procedimento sido violador do artigo 8 da Convenção para a Protecção dos Direitos do Homem e das Liberdades Fundamentais.

Observa-se, assim, uma grande disparidade de critérios de remoção de perfis, não parecendo existir qualquer fundamento uniforme, sob o ponto de vista da investigação criminal, que tenha orientado as decisões dos diversos países.

Não existindo tal critério fundamentado em argumentos relacionados com a investigação criminal, a comissão que preparou o projecto de legislação sentiu a necessidade de propor o que entendeu melhor se adequar à realidade Portuguesa. Tal como havia sido anteriormente defendido por Helena Moniz⁵⁹, a comissão aprovou a proposta

⁵⁸ *S. and Marper v. The United Kingdom*: 30562/04 e 30566/04

⁵⁹ Os problemas jurídico-penais da criação de uma base de dados genéticos para fins criminais, *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 12, 2002.

de fixação dos mesmos prazos previstos para o cancelamento definitivo do registo criminal, como critério para a remoção dos perfis⁶⁰. Tal proposta foi consonante com as finalidades que presidiram aos princípios em vigor desde o século XIX que visavam conceder ao condenado que cumpriu a sua pena a possibilidade de se ressocializar e reintegrar a sociedade na plenitude dos seus direitos, sem qualquer estigmatização pelo facto criminoso anteriormente cometido. Não tendo sido levado ao conhecimento da comissão qualquer fundamento que justificasse o estabelecimento de prazos mais alargados, a proposta apresentada suportou-se numa normativa existente que, não tendo exactamente os mesmos pressupostos, encontrava analogia com os objectivos pretendidos.

Quanto aos perfis das amostras problema para investigação criminal foi definido que a sua remoção ocorrerá no termo do processo-crime ou no prazo máximo de prescrição do procedimento criminal, quando identificados com o arguido, ou 20 anos após a recolha, quando não identificados com o arguido.

No que se refere à identificação civil, o critério estabelecido foi o da permanência dos perfis na base de dados até que ocorra a identificação, pois a partir dessa data não se justificará a sua

⁶⁰ A Lei da Identificação Criminal (Lei n.º 57/98, de 18 de Agosto), estabelece no seu artigo 15.º, n.º 1, alínea a) o seguinte:

Cancelamento definitivo

1 - São canceladas automaticamente, e de forma irrevogável, no registo criminal:

a) As decisões que tenham aplicado pena de prisão ou medida de segurança, decorridos 5, 7 ou 10 anos sobre a extinção da pena ou medida de segurança, se a sua duração tiver sido inferior a 5 anos, entre 5 e 8 anos ou superior a 8 anos, respectivamente, e desde que, entretanto, não tenha ocorrido nova condenação por crime;

manutenção. Quanto aos perfis relativos aos familiares de pessoas desaparecidas, apesar de o princípio ser o mesmo, a inserção e a permanência na base de dados dependem do consentimento livre, informado e escrito, pelo que o perfil se mantém até à identificação, desde que não haja revogação desse consentimento.

Quanto aos perfis dos voluntários, apenas serão removidos se for revogado o consentimento, prestado de forma livre, informada e escrita, aquando da sua inserção.

Em resumo, nos termos do artigo 26º da Lei n.º 5/2008, a conservação de perfis ocorre da seguinte forma:

- a) perfis de voluntários: tempo ilimitado, excepto havendo revogação do consentimento;
- b) perfis de amostras problema para identificação civil: tempo ilimitado, até à identificação;
- c) perfis de amostras referência para identificação civil: tempo ilimitado, até à identificação, excepto havendo revogação do consentimento no que se refere aos perfis de parentes de pessoas desaparecidas;
- d) perfis de amostras problema para investigação criminal:
 - se a amostra for identificada com o arguido: no termo do processo crime ou no fim do prazo máximo de prescrição do procedimento criminal;
 - se a amostra não for identificada com o arguido: 20 anos após a recolha;
- e) perfis de condenados: na data em que se proceda ao cancelamento definitivo no registo criminal;

- f) perfis de profissionais: 20 anos após a cessação das funções.

3.4. CUSTÓDIA DA BASE DE DADOS

A questão da custódia das bases de dados é frequentemente um dos factores que atrasa a concretização desta importante ferramenta, ao motivar conflitos entre instituições que ambicionam ficar responsáveis pelo seu funcionamento. Tal sucedeu em diversos países, especialmente naqueles em que mais do que uma entidade oficial possuía atribuições para a realização de exames de genética forense. Nalguns a custódia da base de dados ficou sob a alçada de um órgão de polícia e noutros de um instituto de medicina legal ou instituto forense⁶¹, embora nalguns casos e por motivos diversos se tenham observado algumas alterações posteriores.

Um dos pressupostos internacionalmente reconhecidos para a aceitação de perícias de genética com fins forenses consiste na garantia de que a defesa possui os mesmos direitos na utilização deste meio de prova, seja através de uma decisão judicial ou através de um perito independente. Este constitui um dos pontos fundamentais da Recomendação do Conselho Europeu N.º R(92)1, de 10/02/1992, relativa à utilização dos exames de ADN no sistema de justiça criminal.

Esta questão é de extrema relevância para alguns países, como no caso da Alemanha, que

⁶¹ Alemanha: Federal Criminal Agency; Áustria: Institute of Legal Medicine; Bélgica: Institut National de Criminalistic; Dinamarca: University Institute of Forensic Genetics; Finlândia: National Bureau of Investigation; Holanda: Netherlands Forensic Institute; Noruega: Institute of Legal Medicine e National Police; Suécia: National Institute of Forensic Science; Suíça: Institut de Médecine Légale.

chegou a estabelecer no seu Código de Processo Penal⁶² que o exame deve ser ordenado por um juiz, a realização de exames deve ser feita por peritos que não pertençam à entidade que está a prosseguir as investigações e os peritos devem ser independentes, quer sob o ponto de vista da organização, quer sob o ponto de vista da área de trabalho.

No caso Português, o programa do XVII Governo veio determinar que a custódia da base de dados não competiria a órgão de polícia criminal⁶³.

3.5. NORMAS PROTECTORAS

Muitas são as normas protectoras estabelecidas na Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro, que resultaram não apenas das propostas elaboradas pela comissão que preparou o projecto, como das alterações posteriormente introduzidas.

Desde logo o artigo 1.º estabelece que a base de dados foi criada para fins de identificação, sendo expressamente proibida a utilização, análise e tratamento de qualquer tipo de informação obtida das amostras para fins diferentes dos da investigação criminal e da identificação civil.

No que diz respeito às amostras biológicas, apenas os laboratórios que cumpram os requisitos científicos, técnicos e organizacionais internacionalmente estabelecidos⁶⁴ poderão realizar

as análises laboratoriais (artigo 5.º). O artigo 10.º obriga a que a recolha das amostras seja realizada através de método não invasivo, como o raspado da mucosa bucal, respeitando a dignidade humana e a integridade física e moral individual. Excepto em situações em que tal seja impossível, deve ser preservada uma parte bastante e suficiente da amostra problema para permitir a realização de uma contra-análise, se necessária (artigo 11.º), repetindo-se os procedimentos técnicos para confirmação de resultados (artigo 13.º). As amostras identificadas referentes aos condenados e aos voluntários são imediatamente destruídas após a obtenção do perfil de ADN, nos termos do artigo 34.º da lei. Apesar de ser permitida a cooperação internacional⁶⁵, é proibida a transferência de material biológico para outros países (artigo 21.º).

A inserção dos perfis de ADN na base de dados é feita após a existência de um despacho do magistrado competente no respectivo processo, no caso das amostras problema, ou do juiz de julgamento, no caso dos condenados (artigo 18.º).

No que se refere ao armazenamento dos dados, tem de existir uma separação lógica e física entre o ficheiro dos perfis de ADN e o ficheiro dos dados pessoais, não podendo haver qualquer elemento identificativo do titular dos dados no ficheiro dos perfis de ADN. Os diferentes ficheiros terão de

62 Parágrafo 81a.º e seguintes.

63 Salienta-se que a questão relativa à custódia da base de dados nacional, após ter sido tomada a decisão de a atribuir ao INML, não motivou obstáculos ao excelente entendimento que tem existido entre as duas entidades que, nos termos da lei, ficaram responsáveis pela realização das perícias para a obtenção dos perfis a inserir.

64 Nos termos da Decisão-Quadro 2009/905/JAI do Conselho da União Europeia, de 30 de Novembro de 2009, relativa

à acreditação de prestadores de serviços forenses que desenvolvem actividades laboratoriais, os estados membros deverão garantir a respectiva acreditação por um organismo de acreditação nacional que certifique a conformidade dessas actividades com a EN ISO/IEC 17025, até 30 de Novembro de 2013.

65 Designadamente no âmbito da Decisão 2008/615/JAI do Conselho da União Europeia, de 23 de Junho de 2008, relativa à partilha de perfis de ADN com finalidades de apoio à investigação.

ser manipulados por utilizadores distintos, mediante acessos restritos, codificados e identificativos dos utilizadores (artigo 15.º). Os dados pessoais apenas são comunicados ao juiz competente, mediante requerimento fundamentado, nos termos do artigo 19.º da lei. É proibido o acesso de outras pessoas à base de dados, além das previstas na lei (artigo 22.º) e qualquer pessoa tem direito a conhecer o conteúdo dos registos que lhe respeitem (artigo 24.º), bem como de exigir a correcção de eventuais inexactidões (artigo 25.º).

Todos os procedimentos relativos ao funcionamento da base de dados de perfis de ADN são controlados pelo Conselho de Fiscalização, que responde apenas perante a Assembleia da República, por quem é designado, e pela Comissão Nacional de Protecção de Dados (artigos 29.º, 30.º e 37.º). A violação do dever de segredo ou das normas relativas a dados pessoais é punida nos termos da Lei de Protecção de Dados Pessoais e do Código Penal (artigos 35.º e 36.º).

Por último, realça-se a livre valorização da prova por parte dos magistrados, referindo-se que não é permitida uma decisão automatizada que produza efeitos na esfera jurídica de uma pessoa, tomada exclusivamente pelos resultados da base de dados de perfis de ADN (artigo 38.º).

Tais normas, por alguns consideradas excessivas e obstaculizadoras de uma maior eficácia da base de dados, permitiram que os mais receosos e críticos sobre os eventuais riscos que poderiam advir da criação da base de dados pudessem aceitar a versão final do diploma. Recorde-se que, apesar de todas as normas protectoras propostas, o projecto teve votos contra na Assembleia da República, designadamente face aos riscos

relativos à salvaguarda dos direitos, liberdades e garantias dos cidadãos.

Entre todas as normas referidas a que mais contestação tem merecido, designadamente pelas autoridades policiais, tem sido a necessidade de obtenção de despacho de magistrado para a inserção de um perfil de uma amostra problema na base de dados. Tal exigência tem sido apontada como a causa do reduzido número de perfis inseridos na base.

3.6. MARCADORES DE ADN

Com o objectivo de salvaguardar e limitar o tipo de informação genética a colocar na base de dados, a comissão que preparou o projecto legislativo entendeu que os marcadores de ADN a analisar no âmbito da base de dados não deveriam ser de livre opção dos laboratórios que procedessem à análise laboratorial das amostras nem da entidade que viesse a assumir a custódia da base de dados, propondo, por isso, que fossem definidos sob a forma de portaria governamental. Assim, o artigo 12.º da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro, veio referir, no seu número 2, que *“os marcadores a integrar no ficheiro de perfis de ADN são fixados, após parecer da Comissão Nacional da Protecção de Dados, por portaria conjunta dos membros do Governo responsáveis pelas áreas da justiça e da saúde, de acordo com as normas internacionais e o conhecimento científico sobre a matéria”*.

Um aspecto fundamental a ter em consideração e que motiva sempre muitas preocupações quando se aborda a temática das bases de dados de perfis de ADN prende-se com a questão da potencial possibilidade de serem obtidas informações de natureza clínica dos dados genéticos presentes nas bases de dados com fins forenses. Esse aspecto

foi abordado na Resolução do Conselho da Europa de 9 de Junho de 1997, relativa ao estabelecimento de bases de dados de ADN⁶⁶, estabelecendo-se que a possibilidade de partilha de perfis deveria limitar-se à parte não codificante da molécula de ADN, não contendo, por isso, informação sobre características hereditárias específicas de uma pessoa. Também a Resolução do Conselho da Europa de 25 de Junho de 2001, relativa à partilha dos resultados das análises de ADN⁶⁷, veio reforçar este aspecto ao referir que os estados membros deveriam limitar os resultados da análise do ADN às regiões cromosómicas sem expressão genética, acrescentando que se algum dos marcadores aconselhados vier a revelar informação sobre características hereditárias específicas, os estados membros deverão deixar de o analisar. Estabeleceu um conjunto de sete marcadores, designados no seu conjunto por *European Standard Set*⁶⁸, a ser analisados pelos diversos estados membros, de modo a que fosse possível a partilha de informações.

Na preparação do projecto que deu origem à Lei n.º 5/2008 foram assumidos os pressupostos referidos nas resoluções do Conselho de 9 de Junho de 1997 e de 25 de Junho de 2001, no que se refere aos marcadores de ADN a utilizar. Nas definições estabelecidas na Lei n.º 5/2008⁶⁹ foi limitada a utilização dos marcadores de ADN àqueles que, segundo os conhecimentos

científicos existentes, não permitem a obtenção de informação de saúde ou de características hereditárias específicas, a que também se chamou, abreviadamente e para maior facilidade de compreensão, "*ADN não codificante*".

O Regulamento de funcionamento da base de dados concretizou de forma mais clara o que havia sido estabelecido na lei referindo, no seu artigo 11.º, que "*no caso de algum dos marcadores de ADN revelar informação relativa à saúde ou a características hereditárias específicas, esse marcador é excluído dos perfis de ADN incluídos na Base de Dados e deixa de ser estudado nas amostras a analisar posteriormente*".

Várias poderiam ser as opções relativas aos polimorfismos de ADN a analisar no âmbito da base de dados. No entanto, deveriam ser tomados em consideração os marcadores definidos na Resolução do Conselho da Europa de 25 de Junho de 2001, pois era importante assegurar a possibilidade de comparação com os perfis inseridos noutras bases de dados europeias.

Mas uma questão mantinha-se ainda por esclarecer: qual o número mínimo de marcadores, com resultados positivos, a estabelecer como critério para a inserção de um perfil na base de dados? Não poderia ser um número muito reduzido, pois correr-se-ia o risco de haver demasiadas falsas coincidências entre perfis, quando fossem feitas comparações. Não poderia ser um número muito elevado, pois tal levaria a que não pudessem ser inseridos muitos perfis, cuja inserção na base de dados seria útil, pelo facto de não ter sido possível a obtenção de resultados positivos em, por exemplo, apenas um ou dois dos polimorfismos obrigatórios. Além disso, se fosse tornado obrigatório um marcador que apenas estivesse contido

66 Resolução 97/C 193/02, publicada no Jornal Oficial das Comunidades Europeias: N.º C 193, de 24/06/1997, pp. 0002-0003.

67 Resolução 2001/C 187/01, publicada no Jornal Oficial das Comunidades Europeias: N.º C 187, 03/07/2001, pp. 0001-0004.

68 VWA, TH01, D21S11, FGA, D8S1179, D3S1358 e D18S51, além da amelogenina.

69 No seu artigo 2.º, alínea e).

num dos sistemas multiplex usualmente utilizados nos laboratórios forenses, Portugal ficaria dependente das condições contratuais impostas pela respectiva empresa produtora do sistema, sempre que necessitasse de fazer aquisições.

Após análise das opções seguidas noutros países, bem como de alguns casos em que ocorreram erros⁷⁰ e, principalmente, da capacidade discriminativa resultante da análise de diversos conjuntos de marcadores, tendo em consideração não apenas a dimensão populacional Portuguesa mas também as populações dos restantes países europeus com as quais se iriam realizar comparações ao abrigo da Decisão 2008/615/JAI do Conselho da União Europeia, foi proposta ao Governo a opção da obrigatoriedade de obtenção de resultados positivos nos sete marcadores do *European Standard Set* como pressuposto para a inserção de um perfil de ADN na base de dados. Este conjunto de marcadores fazia parte dos diferentes sistemas multiplex usualmente utilizados pelo INML e pelo LPC, o que permitiria a inserção de perfis anteriormente determinados por ambas as instituições e a manutenção dos sistemas em uso.

Por outro lado, considerando o facto de haver distintos sistemas multiplex que permitem a obtenção de resultados noutros marcadores, considerando o facto de existirem muitas amostras anteriormente analisadas em que estavam determinados os resultados noutros polimorfismos e considerando o facto de nem todos os países europeus analisarem os mesmos marcadores, foi proposta a possibilidade da inserção dos resultados dos restantes marcadores aceites pela INTERPOL e que incluíam os

polimorfismos contidos nos sistemas multiplex mais comumente utilizados pela comunidade científica internacional. A possibilidade de inserção dos resultados destes marcadores, ainda que não sendo de inserção obrigatória, permitiria elevar o poder de discriminação e uma maior segurança nos resultados comparativos com outras bases de dados europeias, evitando situações de falsas coincidências.

Assim, a Portaria n.º 270/2009, de 17 de Março, dos Ministérios da Justiça e da Saúde, fixou os seguintes marcadores de ADN a integrar no ficheiro de perfis da base de dados:

- a) De inserção obrigatória:
 - vWA
 - TH01
 - D21S11
 - FGA
 - D8S1179
 - D3S1358
 - D18S51
 - Amelogenina
- b) De inserção complementar:
 - TPOX
 - CSF1P0
 - D13S317
 - D7S820
 - D5S818
 - D16S539
 - D2S1338
 - D19S433
 - Penta D
 - Penta E
 - FES
 - F13A1
 - F13B
 - SE33

⁷⁰ Como o conhecido *UK DNA mismatch* ocorrido quando a base de dados inglesa incluía perfis com apenas seis polimorfismos estudados.

CD4
GABA.

A Resolução do Conselho Europeu de 30 de Novembro de 2009, relativa à partilha de resultados analíticos de ADN⁷¹, veio alargar a 12 o número de marcadores incluídos no *European Standard Set*, acrescentando os polimorfismos D1S1656, D2S441, D10S1248, D12S391 e D22S1045. Foi proposta a publicação de nova Portaria que incluía também os referidos polimorfismos, na qualidade de marcadores de inserção complementar.

3.7. MODO DE FUNCIONAMENTO

O regulamento de funcionamento da base de dados de perfis de ADN estabeleceu, no seu artigo 16.º, que o INML deveria criar *“um manual de procedimentos relativo a regras técnicas do seu funcionamento, com vista a assegurar a qualidade, a segurança e a confidencialidade da Base”*. O manual de procedimentos foi elaborado por uma comissão composta por elementos do INML e do LPC, estabelecendo as regras processuais relativas à recolha das amostras, ao envio dos perfis de ADN e dos dados pessoais para a sede do INML, bem como aos procedimentos a realizar com estas informações.

A colheita das amostras para os fins previstos na Lei n.º 5/2008 obriga a procedimentos específicos que têm de ser tomados em consideração pelas entidades responsáveis, encontrando-se claramente definido quem possui legitimidade para requerer a colheita das amostras. No caso dos voluntários e dos parentes de pessoas desaparecidas, a colheita depende do respectivo consentimento

livre, informado e escrito. A recolha de amostras problema, quer suponha fins de identificação civil ou de investigação criminal, segue os termos da legislação aplicável, embora para a inserção do perfil na base de dados dependa do despacho do magistrado competente no respectivo processo. A recolha de amostras em arguidos ou condenados é realizada por despacho do juiz, podendo aqueles também apresentar o pedido da colheita.

Nos termos da Lei n.º 5/2008 é necessário um despacho do magistrado judicial para a recolha da amostra em condenado⁷² e um outro despacho para a inserção do perfil de ADN na base de dados⁷³.

Independentemente da entidade que procede às recolhas, as amostras e os requerimentos ou despachos para a colheita e inserção dos perfis de ADN na base de dados deverão ser encaminhados para uma das entidades competentes para a realização das análises, ou seja, o LPC e o INML. Nos termos de acordo estabelecido entre as duas instituições, os pedidos de colheita de amostra referência recebidos pelo INML serão preferencialmente encaminhados para o LPC, que procederá à colheita e envio para a delegação do INML da respectiva área de actuação. As perícias relativas a voluntários, familiares de pessoas desaparecidas e condenados sem processo de investigação prévia no LPC são realizadas, preferencialmente, pelo INML.

Previamente à realização da recolha de amostra referência o examinado recebe a informação escrita prevista no artigo 9.º da Lei n.º 5/2008⁷⁴.

72 Ao abrigo do disposto no artigo 8.º, n.º 2 e 3.

73 Ao abrigo do disposto no artigo 18.º, n.º 3.

74 O artigo 9.º, da Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro, estabelece o seguinte: “Antes da recolha da amostra, o sujeito passivo da colheita goza do direito de informação, previsto no

71 Resolução 2009/C 296/01.

No caso de indivíduo cego, surdo, mudo, analfabeto, desconhecedor da língua portuguesa, menor de 21 anos, ou se suscitar a questão da sua inimputabilidade ou da sua imputabilidade diminuída que impeça a cabal compreensão do acto, deve ser solicitado ao Tribunal a nomeação de defensor e, se necessário, tradutor para acompanhar a colheita⁷⁵.

Não é realizada a recolha em caso de recusa do fornecimento dos dados ou documentos previstos no n.º 2 do artigo 6.º do Regulamento⁷⁶ (excepto no que se refere à fotografia) ou recusa de autorização de recolha da amostra biológica. Nas situações anteriores, comunica-se por escrito tal facto à entidade requisitante, após obtenção de declaração do examinado ou, não sendo possível, de duas testemunhas.

n.º 1 do artigo 10.º da Lei da Protecção de Dados Pessoais, com as necessárias adaptações, devendo ser informado, por escrito, nomeadamente:

- a) De que os seus dados pessoais vão ser inseridos num ficheiro de dados pessoais, com excepção dos dados relativos às pessoas referidas no n.º 1 do artigo 8.º;
- b) Sobre a natureza dos dados que são extraídos da amostra, isto é, o perfil de ADN;
- c) De que o perfil de ADN é, nos casos admitidos na presente lei, integrado num ficheiro de perfis de ADN, com excepção dos dados relativos às pessoas referidas no n.º 1 do artigo 8.º;
- d) Da possibilidade de cruzamento do perfil recolhido com os existentes na base de dados de perfis de ADN, com menção expressa da possibilidade de utilização dos dados para fins de investigação criminal, quando aplicável;
- e) De que a amostra recolhida pode ser conservada num biobanco, nos casos admitidos na presente lei."

75 Nos termos do artigo 64.º, n.º 1, alínea d), do Código de Processo Penal.

76 "A confirmação da autenticidade da identificação é realizada mediante apresentação de documento de identificação, do qual é feita cópia a integrar no processo, mediante recolha da impressão digital, e fotografia para a qual tenha sido previamente solicitado o consentimento."

Independentemente da constatação da inexistência de consenso na doutrina e na jurisprudência no que se refere à coercibilidade da recolha e inserção dos perfis de ADN na base de dados, designadamente no que diz respeito à aplicação dos artigos 172.º, n.º 1 e 2⁷⁷ (que remete para o artigo 154.º, n.º 3⁷⁸, e artigo 156.º, n.º 6 e 7⁷⁹) do Código de Processo Penal, o INML cumpre a determinação judicial que lhe for apresentada. Pronunciaram-se sobre a questão da coercibilidade, sem posições consensuais, entre outros juristas, Paulo Pinto de Albuquerque⁸⁰, Sónia Fidalgo⁸¹, Maria do Carmo S. Dias⁸², Benjamim

77 Artigo 172.º do CPP. Sujeição a exame.

1 – Se alguém pretender eximir-se ou obstar a qualquer exame devido ou a facultar coisa que deva ser examinada, pode ser compelido por decisão da autoridade judiciária competente.

2 – É correspondentemente aplicável o disposto no n.º 3 do artigo 154.º e nos n.º 6 e 7 do artigo 156.º.

78 Artigo 154.º do CPP. Despacho que ordena a perícia.

3 – Quando se tratar de perícia sobre características físicas ou psíquicas de pessoa que não haja prestado consentimento, o despacho previsto no número anterior é da competência do juiz, que pondera a necessidade da sua realização, tendo em conta o direito à integridade pessoal e à reserva da intimidade do visado.

79 Artigo 156.º do CPP. Procedimento.

6 – As perícias referidas no n.º 3 do artigo 154.º são realizadas por médico ou outra pessoa legalmente autorizada e não podem criar perigo para a saúde do visado.

7 – Quando se tratar de análises de sangue ou de outras células corporais, os exames efectuados e as amostras recolhidas só podem ser utilizados no processo em curso ou em outro já instaurado, devendo ser destruídos, mediante despacho do juiz, logo que não sejam necessários.

80 Comentário do Código de Processo Penal à luz da Constituição da República e da Convenção Europeia dos Direitos do Homem, cit., p. 463.

81 Determinação do perfil genético como meio de prova em processo penal», RPCC, Ano 16.º, N.º 1, Janeiro-Março 2006, p. 135 e (nota 74).

82 Particularidades da prova em processo penal. Algumas questões ligadas à prova pericial, RCEJ, N.º 3 – 2.º Semestre 2005, p. 211.

da Silva Rodrigues⁸³, Inês Torgal Pedroso da Silva⁸⁴, Artur Pereira⁸⁵, Tiago Caiado Milheiro⁸⁶ e Jorge Reis Bravo⁸⁷. A jurisprudência divide-se também quanto a este aspecto, designadamente tendo em consideração as diferentes formulações seguidas no n.º 1 e no n.º 2 do artigo 8.º da Lei n.º 5/2008 (acórdãos do Tribunal da Relação do Porto de 10.12.2008⁸⁸ e de 10.07.2013⁸⁹, do Tribunal da Relação de Évora de 16.12.2008⁹⁰

83 Da Prova Penal T. I – A Prova Científica: Exames, Análises ou Perícias de ADN? Controlo de Velocidade, Álcool e Substâncias Psicotrópicas (à luz do Paradigma da Ponderação Constitucional Codificado em Matéria de Intervenção no Corpo Humano, face ao Direito à Autodeterminação Corporal e à Autodeterminação Informacional Genética), 3.ª Ed. revista, actualizada e aumentada, Rei dos Livros, Lisboa, 2010, pp. 546-547.

84 A (i)legitimidade da colheita coerciva de ADN para efeitos de constituição da base de dados genéticos com finalidades de investigação criminal», *Lex Medicinæ - Revista Portuguesa de Direito da Saúde - Ano 8, N.º 15, 2011, p. 178.*

85 Da Prova. Âmbito, Especificidades e Valor Probatório», *Genética Forense – Perspectivas de Identificação Genética (MARIA DE FÁTIMA PINHEIRO Coord.)*, Ed. Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2010, p. 406 (nota 106).

86 Prova por ADN e o papel do Juiz de Instrução Criminal. Participação no Curso de Especialização “Temas de Direito Penal e Processual Penal”. Centro de Estudos Judiciários - Lisboa, 6 de junho de 2014.

87 I. O aprofundamento da cooperação transnacional em matéria de intercâmbio de prova genética

II. A ordem de recolha de amostras em condenados, para análise e inserção na Base de Dados de Perfis de ADN. Abordagens preliminares. Encontro de trabalho. Conselho de Fiscalização da Base de Dados de Perfis de ADN - Procuradora-Geral da República e P. G. Distritais. Aspectos Práticos e Teóricos do Funcionamento da Base de Dados de ADN e da Obtenção da Prova por ADN em Processo Penal. Coimbra, 07 de março de 2014.

88 Relatora Juíza Desembargadora Maria Elisa da Silva Marques Matos Silva.

89 Relator Juiz Desembargador Joaquim Correia Gomes.

90 Relator Juiz Desembargador Alberto João Borges.

e de 13.12.2011⁹¹ e os Acórdãos do Tribunal Constitucional n.º 155/2007⁹² e 228/2007⁹³).

Se for determinado o uso da força para a realização da recolha da amostra biológica efectuada pelo INML é solicitado à entidade requiriente que convoque órgão de polícia criminal, força de segurança ou prisional para acompanhar a recolha.

A recolha de amostras em pessoas é feita em duplicado, através de raspado de células da mucosa bucal. Está excluída a possibilidade de colheita através de método invasivo, designadamente por punção venosa ou picada capilar⁹⁴, como é usual no âmbito da rotina pericial de muitos laboratórios forenses. Sempre que possível e nos casos previstos na lei deve ser conservada uma parte da amostra que permita a realização de uma contra-análise.

As amostras referência são enviadas para o laboratório que determinará o perfil de ADN preferencialmente em mão ou, em situações excepcionais, por correio, acondicionadas em embalagem de violação detectável. A garantia da

91 Relator Juiz Desembargador Alberto João Borges.

92 De 10.04.2007, relator Juiz Conselheiro Gil Galvão (acórdão anterior à revisão do Código de Processo Penal de 2007).

93 De 28.03.2007, relatora Juíza Conselheira Maria Fernanda Palma (acórdão anterior à revisão do Código de Processo Penal de 2007).

94 Note-se, contudo, o acórdão do TC n.º 155/2007: «Na verdade, a introdução no interior da boca do arguido, contra a sua vontade expressa, de um instrumento (zaragatoa bucal) destinado a recolher uma substância corporal (no caso, saliva), ainda que não lesiva ou atentatória da sua saúde, não deixa de constituir uma “intromissão para além das fronteiras delimitadas pela pele ou pelos músculos” [...], uma entrada no interior do corpo do arguido e, portanto, não pode deixar de ser compreendida como uma invasão da sua integridade física, abrangida pelo âmbito constitucionalmente protegido do artigo 25º da Constituição.»

cadeia de custódia da amostra é pressuposto para a inserção dos respectivos perfil e dados pessoais na base de dados.

As análises são realizadas em duplicado, sempre que possível, por profissionais diferentes, utilizando *kits* de amplificação diversos. No caso de amostras problema poderão ser inseridos perfis de mistura (correspondendo no máximo a dois indivíduos).

Após a análise, o laboratório prepara duas mensagens devidamente identificadas com o número do processo do serviço e o tipo de informação:

- uma com um anexo que contém o perfil de ADN;
- outra com um anexo que contém os respectivos dados pessoais⁹⁵.

As mensagens são encriptadas e enviadas por correio electrónico para um designado Ficheiro Intermédio que se encontra na Sede do INML.

O Ficheiro Intermédio atribui uma codificação que permite relacionar as mensagens, sendo a única entidade que o consegue fazer. De imediato entrega em mão, em suporte digital, as duas mensagens encriptadas, do seguinte modo:

- a mensagem com os dados pessoais ao Ficheiro dos Dados Pessoais;
- a mensagem com o perfil de ADN ao Ficheiro dos Perfis de ADN.

Cada um dos dois grupos, constituídos por profissionais diferentes e em locais distintos, procede à descriptação da respectiva mensagem e à inserção no respectivo ficheiro. Posteriormente imprimem o recibo confirmativo da inserção, que entregam ao Ficheiro Intermédio, e eliminam os anexos recebidos.

Após a recepção dos dois recibos confirmativos das duas inserções, os responsáveis pelo Ficheiro Intermédio enviam uma mensagem confirmativa da inserção com sucesso ao respectivo laboratório.

O laboratório procede à destruição da amostra presente no suporte inicial bem como de todos os seus derivados (no caso de voluntário ou condenado) e envia a respectiva confirmação de destruição para o Ficheiro Intermédio, dando-se por encerrado o processo.

Ocorrendo uma concordância, entre o perfil que está a ser inserido e um outro já existente na base de dados, a equipa do Ficheiro dos Perfis de ADN remete aos responsáveis pelo Ficheiro Intermédio os dois (ou eventualmente mais) códigos referentes aos perfis entre os quais se verificou a concordância. A partir desses códigos o Ficheiro Intermédio localiza os correspondentes identificadores dos dados pessoais, solicitando à equipa do Ficheiro dos Dados Pessoais que lhe seja remetida a respectiva identificação do(s) processo(s). A indicação da existência de uma concordância é comunicada ao(s) tribunal(ais) respectivo(s), referindo-se que, nos termos do artigo 19.º da lei n.º 5/2008, os dados são comunicados ao juiz competente.

95 Cópia do documento de identificação, cópia da fotografia, cópia da impressão digital, cópia do despacho do Tribunal, cópia do Auto de Colheita e, caso necessário, cópia do Auto de Recepção do laboratório que realiza o exame, bem como outros dados relevantes do processo.

O valor a pagar pela realização das perícias encontra-se previsto na tabela⁹⁶ de preços das perícias forenses⁹⁷.

Os procedimentos acima relatados de forma sucinta encontram-se pormenorizadamente detalhados no referido manual que serve de orientação aos diversos profissionais que integram os distintos ficheiros. Salienta-se que, apesar das elevadas normas de segurança, o processo decorre de forma célere, pois cada grupo sabe exactamente os procedimentos que lhe estão atribuídos.

3.8. PROGRAMA INFORMÁTICO

Foram perspectivadas três alternativas na escolha do programa informático que pudesse suportar a criação e o funcionamento da base de dados de perfis de ADN em Portugal: o desenvolvimento de um programa próprio por parte do INML, a compra do programa utilizado pelo *Forensic Science Service* do Reino Unido ou a aceitação da disponibilização do programa CODIS (*Combined DNA Index System*) usado pelo FBI nos Estados Unidos.

96 Actualmente encontra-se em vigor a tabela aprovada pela Portaria n.º 175/2011, de 28 de Abril.

97 Actualmente o valor a pagar pela identificação genética individual em amostra referência no âmbito da base de dados de perfis de ADN (por pessoa) é de 2 UC, quando requerida por tribunais, e 4 UC, quando requerida por outras entidades públicas ou privadas.

A investigação biológica de vestígios criminais incluindo a identificação genética de vestígios no âmbito da base de dados de perfis de ADN, por amostra e em função da sua natureza: a) De complexidade muito reduzida — 3 UC; b) De complexidade reduzida — 4 UC; c) De complexidade média — 5 UC; d) De complexidade elevada — 6 UC; e) De complexidade muito elevada — 7 UC.

O valor da unidade de conta é actualmente de 102 euros.

O desenvolvimento de um programa próprio por parte do INML necessitaria do envolvimento de recursos humanos da área da informática por tempo prolongado. Não se possuía tempo para essa opção, pois após a publicação da lei não se poderia aguardar um período de tempo cuja duração não foi possível perspectivar com segurança, mas que poderia ultrapassar um ou dois anos. Não se possuíam os recursos humanos para tal, pelo que seria necessária a contratação externa, com custos elevados. Além disso, seria uma aposta num programa sem quaisquer garantias de que funcionaria de forma segura e no pleno cumprimento dos pressupostos da lei. A hipótese do desenvolvimento de um programa próprio foi, por isso, afastada.

Elementos do *Forensic Science Service* deslocaram-se, por diversas vezes, ao INML com a intenção de disponibilizar o seu programa para funcionamento da base de dados Portuguesa. Apesar de ser um programa de grande qualidade e de ter dado anteriormente provas de segurança e bom funcionamento, não foi apresentada ao INML a garantia de que poderia ser adaptável à legislação nacional nem que poderia satisfazer os requisitos necessários à partilha de dados no âmbito do Tratado de Prüm, ao qual Portugal tinha já manifestado intenção de aderir. Além disso, era um programa de custos elevados. Foi também afastada a hipótese de aquisição deste programa.

O programa CODIS utilizado pelo FBI tinha já dado provas da sua segurança e bom funcionamento. Era usado não apenas nos Estados Unidos mas também por diversos países europeus, entre as quais a vizinha Espanha, país com o qual se perspectivava a maior necessidade de cooperação internacional na partilha de perfis

de ADN. Por tal circunstância, e no âmbito do referido Tratado de Prüm, tinha sido desenvolvida uma plataforma que permite fazer a ligação aos países que tivessem as suas bases de dados de perfis de ADN instaladas no CODIS, plataforma que já tinha sido testada com êxito. Além disso, o LPC possuía já uma base de dados de perfis de ADN não identificados relativos a amostras problema, inseridos numa versão anterior do programa CODIS, cuja informação seria útil fazer transitar para a base de dados criada pela Lei n.º 5/2008. Seria da maior relevância não desperdiçar todo o trabalho que havia anteriormente sido desenvolvido pelo LPC. Por último, o FBI disponibilizou-se a facultar o programa informático gratuitamente, instalá-lo, adaptá-lo à legislação nacional, dar formação aos especialistas Portugueses e dar todo o apoio que viesse a ser necessário. Face a estes motivos e após ter sido obtida a garantia por parte de especialistas informáticos nacionais de que estaria completamente assegurada a soberania nacional relativamente às informações presentes na base de dados a criar, foi aceite esta última alternativa⁹⁸.

3.9. RESULTADOS

Os quadros seguintes apresentam os resultados obtidos na base de dados Portuguesa em 14.07.2014:

⁹⁸ Acrescente-se que, passados quatro anos sobre a entrada em funcionamento da base de dados, mantemos a convicção de que foi a opção mais correcta.

Art. 15.º da Lei 5/2008	TOTAIS
a) Voluntários	4
b1) Am. Prob. - Id. Civil	4
b2) Am. Prob. (mist.) - Id. Civil	0
c1) Am. Ref. - Pes. Des. - Id. Civil	1
c2) Am. Ref. - Fam. Pes. Des. - Id. Civil	12
d1) Am. Prob. - Inv. Criminal	1778
d2) Am. Prob. (mist.) - Inv. Criminal	3
e) Condenados	2572
f) Profissionais	105
	4479

Pedidos de cooperação internacional:

TOTAIS	
N.º Pedidos:	98
N.º Perfis:	200
N.º Países:	27

Hits registados no CODIS

(AP: amostra problema; Cond: condenado):

Total	AP-AP	AP-Cond
155	130	25

4. COOPERAÇÃO INTERNACIONAL

Considerando o carácter transfronteiriço de diversos tipos de criminalidade, bem como a inevitabilidade de cooperação policial e judiciária em matéria penal, foi sentida a necessidade de promover a partilha de dados entre diferentes estados membros.

Várias propostas foram discutidas no sentido de ser criada uma base de dados europeia, que

apoiasse a investigação criminal entre os seus diversos países. O Programa de Haia para o reforço da liberdade, da segurança e da justiça, estabeleceu que apenas se justificariam novas bases de dados centralizadas europeias desde que representassem vantagens acrescidas.

Em 27 de Maio de 2005 foi assinado o Tratado de Prüm⁹⁹, relativo ao aprofundamento da cooperação transfronteiras, em particular no domínio da luta contra o terrorismo, a criminalidade transfronteiras e a migração ilegal.

Tendo sido discutida a proposta de criação de uma base de dados europeia em reuniões de peritos de ADN no âmbito do Tratado de Prüm, defendemos a posição de que a partilha de dados entre as bases de dados dos diversos países permitiria as vantagens de uma única base de dados centralizada, sem os inconvenientes resultantes dos receios da perda de controlo de dados de cidadãos nacionais. Ou seja, é possível a obtenção da informação útil relativa a coincidência de perfis de ADN oriundos de diferentes países, mantendo-se em cada estado membro os dados pessoais relativos aos seus cidadãos (nome, morada, condenações anteriores, etc.). Foi esse o sentido da Decisão 2008/615/JAI do Conselho da União Europeia, de 23 de Junho de 2008, relativa ao aprofundamento da cooperação transfronteiras, em particular no domínio da luta contra o terrorismo e a criminalidade transfronteiras. Tal decisão, que veio alargar o âmbito do Tratado de Prüm, define regras de responsabilização sobre a segurança dos dados armazenados, bem como critérios de protecção dos dados pessoais. Prevê ainda uma partilha, célere e eficaz, de dados relativos a

identificação dactiloscópica, a registo de matrícula de veículos, além de perfis de ADN, entre estados membros. Estabelece normas relativas às condições de transmissão de dados relacionados com determinados eventos de alcance transfronteiriço, bem como normas relativas ao aprofundamento da cooperação policial transfronteiras.

A Decisão 2008/615/JAI estabelece que os estados membros devem assegurar a disponibilidade, para comparação, dos perfis de ADN contidos nas respectivas bases de dados. Refere o diploma que as bases de dados deverão conter apenas "*os perfis de ADN obtidos a partir da parte não codificante do ADN*". Reforça-se assim um aspecto de extrema relevância social e que tem sempre merecido referência em diplomas anteriores relativos às bases de dados de perfis de ADN.

Tal decisão permite, nos termos do seu artigo 3.º, a consulta automatizada de perfis de ADN, mediante a comparação entre um perfil concreto e os perfis constantes das diversas bases de dados. Pode haver a comparação entre um perfil de ADN relativo a uma amostra problema e os perfis de amostras referência ou perfis de amostras problema constantes nas bases de dados dos distintos países. Mas também pode haver a comparação entre um perfil de ADN relativo a uma amostra referência e os perfis de amostras problema que estão nas diversas bases de dados. A consulta permite a constatação de coincidência ou não coincidência entre perfis de ADN, mediante a transmissão de uma resposta automática.

A decisão permite também, de acordo com o seu artigo 4.º, uma comparação automatizada de perfis de ADN. Um estado membro poderá enviar o conjunto dos seus perfis de ADN não identificados para comparação com os perfis de outros países, se

⁹⁹ Entre a Bélgica, a Alemanha, a Espanha, a França, o Luxemburgo, a Holanda e a Áustria.

tal for admissível na legislação do estado membro requerente. A comparação poderá ser efectuada com os perfis identificados e com os perfis não identificados do país requerido. Uma vez mais se refere que a circunstância de ser obtida uma coincidência entre um perfil de ADN não identificado de um país requerente com um perfil também não identificado de um país requerido poderá ser de extrema utilidade para um processo de investigação criminal, apesar de não ser possível a identificação imediata da pessoa envolvida.

Estes processos ocorrem através dos pontos de contacto nacionais para o efeito designados. No que se refere aos perfis de ADN, o ponto de contacto nacional designado pelo Ministério da Justiça Português foi o INML.

Existindo uma coincidência, numa segunda fase poderão ser solicitados os correspondentes dados pessoais específicos relativos a um cidadão de um outro estado membro ou outras informações relacionadas, sendo transmitido apenas o que for permitido pela legislação nacional do país requerido. A Decisão 2008/615/JAI estabelece um conjunto de pressupostos e obrigações no que se refere à transmissão de dados pessoais entre os estados membros, no sentido de salvaguardar a correcta utilização e a segurança dos dados.

A decisão permite ainda que se proceda à colheita de material biológico a uma pessoa que se encontre no território de um estado membro requerido e que este realize a respectiva análise laboratorial, obtendo e enviando o perfil de ADN obtido. Esta possibilidade está dependente do estabelecido nas legislações dos estados membros requerentes e requeridos.

Também no dia 23 de Junho de 2008 foi aprovada a Decisão 2008/616/JAI do Conselho da

União Europeia, referente à execução da Decisão 2008/615/JAI, estabelecendo um conjunto de normas relativas à execução de natureza administrativa e de natureza técnica desta decisão. É estabelecido que as redes de comunicações utilizadas para efeitos de transmissão de dados são os Serviços Telemáticos Transeuropeus Seguros entre Administrações (Testa II) e as respectivas versões mais recentes. É também fixado que os estados membros deverão tomar as providências necessárias para que possa ser assegurada a possibilidade de consulta ou de comparação automatizada de dados a qualquer hora do dia, nos sete dias da semana. São definidos os dados que podem ser enviados no âmbito dos pedidos de consulta ou comparação automatizada.

Quanto aos marcadores a analisar, os perfis de ADN enviados ou disponibilizados para efeitos de consulta ou comparação deverão incluir pelo menos 6 dos 7 marcadores previstos no *European Standard Set (ESS)* ou no *Conjunto Normalizado de Loci da Interpol (ISSOL)*, entre os 24 utilizados pela Interpol. Não são admitidos perfis de mistura no intercâmbio de dados. As regras concretas de inclusão, de concordância e de notificação são definidas no anexo à Decisão 2008/616/JAI.

O prazo de execução para a produção de efeitos das decisões 2008/615/JAI e 2008/616/JAI, de 23 de Junho de 2008, foi fixado em três anos após a sua entrada em vigor¹⁰⁰. Apesar de Portugal ter sido um dos últimos países da União Europeia a ver aprovada legislação que permitisse a criação de uma base de dados de perfis de ADN, foi um dos poucos estados membros a conseguir cumprir,

100 Vinte dias após a sua publicação no Jornal Oficial da União Europeia, que ocorreu em 6 de Agosto de 2008.

dentro do prazo, as exigências estabelecidas nas citadas decisões europeias.

Após a preparação necessária e a realização dos testes indicados, o INML respondeu ao questionário sobre protecção de dados e ao questionário sobre intercâmbio de dados de ADN¹⁰¹, realizou com êxito o ensaio-piloto e solicitou¹⁰², como estabelecido na decisão, a visita de avaliação por um dos estados membros que já tivesse iniciado a aplicação da decisão. A visita foi realizada por um grupo de peritos alemães¹⁰³ que aprovou de imediato o funcionamento da base de dados Portuguesa e as normas de segurança criadas, não tendo sido necessária qualquer outra visita de avaliação. O relatório de avaliação salientou a qualidade das medidas de segurança existentes na base de dados Portuguesa¹⁰⁴. Nessa sequência, foi aprovada a Decisão do Conselho de 19 de Julho de 2011 *“relativa ao lançamento do intercâmbio automatizado de dados de ADN em Portugal”*¹⁰⁵. Na decisão ficou expresso que *“... Portugal aplicou integralmente as disposições*

gerais relativas à protecção de dados previstas no capítulo 6 da Decisão 2008/615/JAI, estando habilitado a receber e a transmitir dados pessoais nos termos dos artigos 3.º e 4.º dessa decisão...”.

O Conselho de Fiscalização à data em funções entendeu que o INML não poderia dar início à partilha de perfis de ADN sem uma “transposição” ou “adequação” da Decisão 2008/615/JAI, pelo que foram solicitadas ao Ministério da Justiça orientações no sentido de ser tomada uma decisão quanto a este assunto. Defenderam essa posição Simas Santos¹⁰⁶ e Helena Moniz¹⁰⁷, membros do referido Conselho de Fiscalização; Jorge Reis Bravo¹⁰⁸ manifestou entendimento diferente.

106 “Mecanismos de verificação e Fiscalização (na Base de dados de Perfis de ADN)”, A Base de Dados de Perfis de DNA em Portugal (Actas das Conferências CNECV em 13 de abril de 2012 em Coimbra), Coleção Bioética, 15, Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida, Lisboa, 2012, p. 75.

107 “Condições e Limites da Utilização da Prova por ADN em Processo Penal (a Lei n.º 5/2008)”, A Base de Dados de Perfis de DNA em Portugal (Actas das Conferências CNECV em 13 de abril de 2012 em Coimbra), Coleção Bioética, 15, Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida, Lisboa, 2012, p. 81.

108 “I. O aprofundamento da cooperação transnacional em matéria de intercâmbio de prova genética

II. A ordem de recolha de amostras em condenados, para análise e inserção na Base de Dados de Perfis de ADN. Abordagens preliminares. Encontro de trabalho. Conselho de Fiscalização da Base de Dados de Perfis de ADN -Procuradora-Geral da República e P. G. Distritais. Aspectos Práticos e Teóricos do Funcionamento da Base de Dados de ADN e da Obtenção da Prova por ADN em Processo Penal. Coimbra, 07 de março de 2014.

Art. 7.º [da Decisão 2008/615/JAI] (Recolha do material genético e transmissão de perfis de ADN): nesse particular, parece resultar evidente a necessidade de adoção de algumas medidas de execução do preceito, que terá de ser necessariamente «regulamentado», nomeadamente quanto à determinação dos critérios de aplicação do seu regime, v.g., a definição dos órgãos judiciais competentes — em razão da hierarquia e do território — para proceder às diligências de prova requeridas, a previsão da disciplina procedimental, o eventual regime de recursos, definir se o perfil ficará a constar na base de dados nacional, entre outros aspetos.

101 Nos termos do artigo 20.º da Decisão 2008/616/JAI.

102 No início de 2011.

103 Jimmy Wang, Martin Eckert e Alexander Bachmann.

104 Conclusões do relatório: “The implementation of the Prüm DNA application and the related Prüm DNA information flow both on a legislative level and a technical level has been concluded successfully in Portugal. Portuguese DNA labs and database have methodical and sophisticated work flows showing excellent quality assurance measures. Based on the evaluation team’s observations, the DAPIX group should recommend to the Council that for the purposes of automated searching of DNA data, Portugal has fully implemented the general provisions of Council Decision 2008/615/JHA and Council Decision 2008/616/JHA. Portugal is also entitled to receive and supply personal data pursuant to Article 5 of Council Decision 2008/615/JHA. Wiesbaden. 23rd May 2011.”

105 Publicada no Jornal Oficial da União Europeia em 27 de Agosto de 2011.

Tendo sido assinado um acordo entre Portugal e os Estados Unidos da América para reforçar a cooperação no domínio da prevenção e do combate ao crime¹⁰⁹, aprovado também pela Assembleia da República¹¹⁰, com vista à possibilidade de partilha de perfis de ADN, entre outros dados, em moldes similares aos estabelecidos na Decisão 2008/615/JAI do Conselho da União Europeia, de 23 de Junho de 2008, o INML tem aguardado a disponibilidade dos EUA para dar início aos testes técnicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criação da base de dados de perfis de ADN constituiu um marco importante para as Ciências Forenses Portuguesas. Instrumento imprescindível para a investigação criminal e a identificação civil nos países desenvolvidos, esta ferramenta possui potencialidades que importa valorizar. Contudo, a base de dados Portuguesa tem estado aquém das suas capacidades, sendo importante a discussão sobre os motivos que o justificam. O desconhecimento da Lei n.º 5/2008 tem sido apontado como a principal razão para a inexistência de um maior número de despachos de inserção de perfis. Múltiplas iniciativas têm sido organizadas com vista a colmatar esse desconhecimento. O aumento progressivo do número de despachos de inserção de perfis parece corroborar essa constatação.

Portanto, em bom rigor, se bem vemos as coisas, a necessidade de mediação normativa mais relevante é exigida por uma matéria — obtenção e transmissão de prova genética — que não deveria integrar a DECISÃO 2008/615/JAI, mas que nela se encontra prevista.”

109 Assinado em Lisboa, em 30 de Junho de 2009.

110 Resolução da Assembleia da República n.º 128/2011, de 31 de Agosto de 2011.

BIBLIOGRAFIA

- AA. VV., (2012). A Base de dados de Perfis de DNA em Portugal: Actas das Conferências CNECV em 13 de abril de 2012 em Coimbra, Coleção Bioética, 15, Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida, Lisboa.
- De Albuquerque, P.P. (2009). Comentário do Código de Processo Penal à luz da Constituição da República e da Convenção Europeia dos Direitos do Homem, 3.ª Ed. actualizada, Universidade Católica Ed.
- Bravo, J.D.R. (2010). Perfis de ADN de Arguidos-Condensados (O artigo 8.º, n.º 2 e 3, da Lei n.º 5/2008, de 12-02), *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 20(1), 97-126.
- ENFSI survey on DNA databases in Europe, December 2013, published 11.04.2014: http://www.enfsi.eu/sites/default/files/documents/enfsi_survey_on_dna_databases_in_europe_december_2013_1.pdf; acedido em 05.07.2014.
- ENFSI report on DNA legislation in Europe, published 18.08.2012: http://www.enfsi.eu/sites/default/files/documents/enfsi_report_on_dna_legislation_in_europe_0.pdf; acedido em 05.07.2014.
- Fidalgo, S. (2006). Determinação do perfil genético como meio de prova em processo penal. *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 16(1), 115-148.
- Moniz, H. (2002). Os problemas jurídico-criminais da criação de uma base de dados genética para fins criminais. *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 12(2), 237-264.
- Moniz, H. (2009). A base de dados de perfis de ADN para fins de identificação civil e criminal e a cooperação transfronteiriça em matéria de transferência de perfis de ADN. *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 30(120), 145-156.
- Neto, L. (2006). Sobre a existência e utilização de uma base de dados genética em Portugal, Homenagem ao Prof. Doutor André Gonçalves Pereira, Faculdade de Direito da Universidade de Lisboa, Coimbra Editora.

(Página deixada propositadamente em branco)

Capítulo 7

PROBLEMAS ÉTICOS DO USO DA GENÓMICA
INDIVIDUAL NA INVESTIGAÇÃO CRIMINAL

Bárbara Santa Rosa

Médica, Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I. P.

DOI | [HTTP://DX.DOI.ORG/10.14195/978-989-26-0957-7_7](http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_7)

RESUMO

Em 1985 Alec Jeffreys, utilizando a tipagem de ADN por análise de polimorfismos para fins de identificação individual, afirmou a Genética como disciplina de importância capital na investigação forense. Desde então a crença na infalibilidade da prova genética expandiu-se de forma proporcional ao gradual desenvolvimento das técnicas de análise de ADN com consequente acesso a uma quantidade crescente de informação a partir de uma amostra biológica. Deste facto resultou uma aparente desvalorização de outros métodos de investigação criminal. No entanto, o uso da genómica individual em contexto forense tem, desde logo, lacunas científicas, o que significa que outras metodologias de investigação podem eventualmente revelar-se mais adequadas e eficazes em determinados casos. Acresce que, quando abordamos temas relacionados com a Genética, não podemos negligenciar a sua dimensão ética. São inúmeros os episódios desastrosos que marcaram a história desta disciplina, dos quais sobressai a eugenia nazista.

Nesta conformidade é importante antecipar as possíveis ofensas aos direitos fundamentais e princípios éticos gerais (tais como a liberdade, a privacidade e a autonomia) decorrentes da utilização de tipagem de ADN (com enfoque na pesquisa de factores individualizantes pessoais e/ou populacionais) na investigação criminal. É a este objectivo que se submete este capítulo. Serão nele abordados alguns problemas éticos relacionados com a colheita das amostras biológicas para obtenção do perfil genético e com a utilização desses perfis para comparação identificativa e eventual armazenamento numa base de dados. É, ainda, abordada a possibilidade de recurso, neste âmbito, a outras metodologias de análise de ADN, designadamente à fenotipagem (directa e indirecta).

PALAVRAS-CHAVE

Autonomia, Ciências forenses, Ética, Investigação criminal, Liberdade, Privacidade, Tipagem de ADN

ABSTRACT

In 1985 Alec Jeffreys used DNA typing, by analysis of polymorphisms, for individual identification, making Genetics a discipline of core importance in forensic investigations. Since then the belief that genetic evidence is virtually infallible grew in proportion to the progressive development of DNA analysis techniques and consequent access to an increasing amount of information contained in a biological sample. Concurrently there was a significant depreciation of other methods used in criminal investigation. However the use of personal genomics in the forensic field is impaired by scientific gaps, meaning that other investigation methodologies available may eventually prove more appropriate and accurate in certain cases. Moreover when we address issues about Genetics we cannot neglect the ethical dimension of the discussion. There were numerous disastrous moments throughout the history of this discipline, amongst which we highlight the nazi eugenics.

Accordingly it is important to anticipate the possible harms to fundamental rights and ethical principles (such as freedom, privacy and autonomy) that can result from the use of DNA typing (focused on research of personal or population individualizing factors) in criminal investigations. This chapter is subjected to this purpose. Thus we will bring to discussion ethical issues related to the collection of the biological sample to obtain DNA profiles as well as the use of such profiles to comparative identification and possible storage in a DNA databases. It is also covered the possibility of using other methods of DNA analysis in this context such as direct and indirect phenotyping.

KEYWORDS:

Autonomy, Criminal investigation, DNA typing, Ethics, Forensic sciences, Freedom, Privacy

INTRODUÇÃO

Em 1985 Alec Jeffreys, utilizando a tipagem de ADN por análise de polimorfismos para fins de identificação individual, afirmou a Genética como disciplina de importância capital na investigação forense. Mas a molécula de ADN inspira sentimentos paradoxais de admiração e receio... abriu-se assim mais uma caixa de Pandora, da qual se libertaram problemas éticos e ameaças aos direitos humanos! Há que lembrar os inúmeros episódios desastrosos na história da Genética, dos quais sobressai a eugenia nazista. Desde logo, não poderemos negligenciar as possíveis repercussões sociais e éticas negativas desta disciplina, preocupações que se exacerbam quando falamos de investigações sobre a variabilidade genética humana, com enfoque em factores individualizantes pessoais e/ou populacionais. A utilização da Genética para fins de identificação pode colidir com valores éticos incontornáveis, sendo aqui de sublinhar a liberdade, a autonomia, a privacidade e a equidade. Há ainda que contemplar nesta análise vários direitos fundamentais, nomeadamente de autodeterminação corporal e informacional, de privacidade familiar e genética, de presunção da inocência e não auto-incriminação bem como de julgamento justo e igualdade de meios entre a acusação e a defesa.

Os dados genéticos, na legislação portuguesa¹, enquadram a definição de dado pessoal, conceito que abrange *qualquer informação de qualquer natureza (...) relativa a uma pessoa singular identificada ou identificável*. Estamos assim perante informação do 'domínio reservado', da

'esfera privada' do indivíduo à qual se deve recorrer ponderadamente. Quando invocados interesses públicos² no geral ou interesses mais específicos tais como a eficiência das investigações criminais poderá a sua utilização ser legítima. Impera que se estabeleça um equilíbrio entre as liberdades pessoais e o bem comum. Quanto maior a ameaça à ordem social mais fortes serão os argumentos a favor da restrição de liberdades individuais, de acordo com princípio da proporcionalidade, tão útil à Ética como ao Direito.

Estes conflitos de interesse entre o indivíduo, o sistema judicial e a comunidade, podem ser avaliados através de diferentes perspectivas éticas. De acordo com a teoria Utilitarista nenhuma atitude ou acção é destituída da noção de consequência, o que aparentemente justifica a aplicação do princípio de maximização do benefício para o máximo de indivíduos. Esta premissa baseia-se no conceito consequencialista que submete o julgamento da justeza de uma acção à sua finalidade. De acordo com esta máxima poderia defender-se o uso da identificação genética em qualquer circunstância, desde que o intuito seja promover o bem comum. No entanto, na sua obra *Ensaio sobre a liberdade* John Stuart Mill (1859), consagrado defensor desta perspectiva, considera o livre desenvolvimento da individualidade como elemento essencial à felicidade humana. Encontra-se aqui implícito o princípio hedonista que defende que essa felicidade irá consistir unicamente em experiências aprazíveis e não dolorosas, sendo de limitar a interferência (legítima) da opinião colectiva na liberdade individual. Logo,

1 Lei n.º 67/98 de 26 de Outubro

2 Um interesse só pode ser considerado público quando é mais abrangente que um simples interesse estatal

apesar do Utilitarismo não privilegiar a análise do grau de importância correspondente aos distintos interesses em conflito, o objectivo de maximizar o bem-estar da maioria, poderá *per se* estimular esse exercício de equilíbrio.

A perspectiva ética baseada nos deveres tem por base a filosofia de Kant (1785) que contempla o conceito de dever aplicado à realidade do ser humano como ser racional, livre e igual entre os demais. Este filósofo, na obra *A metafísica dos costumes* inspira-nos a agir apenas *segundo máximas que possamos ao mesmo tempo desejar que se tornem lei universal* e de tal maneira que *usemos a humanidade, na nossa pessoa ou na de qualquer outra, sempre e simultaneamente como um fim e nunca simplesmente como um meio*. Assim de acordo com este imperativo categórico as acções que coloquem em causa a dignidade humana não são permitidas, o foco de atenção incide na conduta adoptada e não nas suas consequências. Este ponto de vista exclui nomeadamente a utilização de amostras biológicas colhidas com objectivo clínico, para fins de identificação individual, já que o consentimento não abrange, neste caso, propósitos de investigação forense.

Por outro lado, a perspectiva ética baseada na responsabilidade considera que certos direitos individuais, tais como o direito à vida, são tão importantes que não se podem sacrificar por um bem maior nem submeter-se a interferências coercivas. Outros princípios, apesar de fundamentais, vêem a avaliação da sua importância subjugada à consideração de prioridades, devendo nomeadamente atentar-se aos direitos alheios. De facto, deriva desta perspectiva o corolário de que um direito procede do dever de respeito que ele próprio inspira, existindo uma interdependência

entre os direitos individuais e os direitos comunitários. Poderíamos mesmo citar Levinas (1988) que na sua obra *Totalidade e Infinito* afirma que *justificar a liberdade não é demonstrá-la mas torná-la justa*. Mas se o valor fundamental da dignidade humana resulta intocável, estabelecer a primazia e o alcance de outros princípios tais como a liberdade, a privacidade e a autonomia, de acordo com o caso em concreto, pode revestir-se de alguma dificuldade. Esta parece, no entanto, a perspectiva que melhor se adapta à discussão sobre se as actuais e potenciais exigências que recaem sobre identificação genética de indivíduos exaltam o agir de acordo com o bem comum ou se turvam em controvérsia e ambiguidade de direcções e motivações.

Será que, tal como no mito grego de Pandora, impera no final a esperança? Esperança de que a Genética Forense, disciplina enraizada na natural curiosidade humana, ilumine conhecimentos novos e verdadeiros, de legítima utilização em nome da Justiça?

O PRINCÍPIO DA PRESUNÇÃO DA INOCÊNCIA

Consagra a Constituição da República Portuguesa, no número 2 do seu artigo 32º, que todo o arguido se presume inocente até ao trânsito em julgado da sentença de condenação. É de sublinhar que aquele sobre quem recai uma acusação tem o direito de exigir provas sólidas da sua culpabilidade, devendo as mesmas ser consideradas de acordo com o princípio *in dubio pro reo*. De facto, a premissa de Voltaire *mais vale arriscarmo-nos a salvar um culpado do que*

condenar um inocente, é equiparável a um princípio constitucional, pelo que não é defensável que a prova genética seja considerada conclusiva ou infalível. O princípio da presunção da inocência obriga não só que a acusação seja capaz de provar para além de qualquer dúvida razoável a culpa do arguido mas também que a existência deste tipo de prova não predisponha *per se* o julgador a optar pela condenação. O perfil genético deve antes sujeitar-se a uma análise jurídica rigorosa, semelhante à inspirada pelos outros tipos de prova. Neste sentido, o artigo 38º da lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro afirma que em caso algum é permitida uma decisão que produza efeitos na esfera jurídica de uma pessoa ou que a afecte de modo significativo, tomada exclusivamente com base no tratamento de dados pessoais ou de perfis de ADN.

Também o Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida (CNECV) se pronunciou sobre esta problemática³, considerando que o mito da não infalibilidade da identificação genética pode mesmo comprometer o sucesso da investigação policial. O excesso de confiança no poder identificador do ADN desvaloriza outros métodos de investigação criminal, eventualmente mais fiáveis de acordo com o caso em concreto. Talvez por essa razão haja quem conteste a prova do ADN, aconselhando o seu uso apenas como reforço do veredicto, devendo sempre complementar métodos policiais clássicos de identificação.

No entanto, não devemos submeter esta discussão a uma regra geral. Casos há em que a prova genética é suficientemente robusta,

permitindo afastar qualquer dúvida razoável e justificar a condenação do arguido. Mas, de acordo com as circunstâncias, o Tribunal deverá manter algum cepticismo, designadamente no que respeita à interpretação de amostras contendo mistura de ADN de dois ou mais indivíduos⁴, de amostras degradadas⁵ ou de amostras com diminuta quantidade de ADN⁶. De facto algumas destas situações testam a ciência e a tecnologia nos seus limites. É ainda de considerar que a possibilidade de obtenção de um perfil de ADN a partir de uma fracção de nanograma desta molécula pode gerar interpretações erradas, no caso de contaminação ou mesmo focar demasiada atenção em suspeitos cuja associação com o local do crime é meramente circunstancial. As decisões judiciais devem ser cautelosas já que, por exemplo, a existência de um álibi ou a incongruência entre a descrição de uma testemunha e o aspecto físico do arguido poderão ser de relevar. Sempre que oportuno o perito pode (e deve) prestar esclarecimentos em sede de Tribunal.

É ainda de atentar que este tipo de prova deve estar igualmente disponível à defesa e à acusação. Refere a recomendação n.º R (92) 1 do Comité de

4 Quando a proporção da mistura é pelo menos de 3:1, a diferença entre os picos de intensidade das bandas permite distinguir os dois perfis, excepto se um dos componentes da mistura for quase inexistente. A interpretação dos perfis quando a proporção de ADN na amostra é semelhante poderá eventualmente ser possível através da 'subtração' de um dos perfis, se conhecido

5 A título de exemplo pode não ser possível amplificar todos os marcadores STR preconizados, designadamente por *drop-out* alélico. O menor número de alelos disponíveis para comparação pode aumentar a probabilidade da amostra corresponder a um indivíduo ao acaso, da população

6 Pode ocorrer *drop-out* ou *drop-in* (aparecimento de picos artefactuais) alélico, acrescendo que a possibilidade de corresponder a contaminação é elevada

3 Parecer n.º 52 sobre o regime jurídico da base de dados de ADN

Ministros do Conselho da Europa, sobre o uso de análises de ADN na investigação criminal, que estas devem ser também acessíveis à defesa, por decisão de autoridade judicial ou por recurso a perícia privada. Quando a quantidade de material biológico passível de analisar for limitada, deve-se assegurar que os direitos da defesa não são prejudicados. Acrescenta o n.º 3 do artigo 7º da Lei de Protecção de Dados Pessoais (LPDP)⁷ que deve ser permitido o tratamento de dados pessoais, designadamente através da análise de ADN, sempre que necessário à declaração, exercício ou defesa de um direito em processo judicial e for efectuado exclusivamente com esta finalidade. Ou seja, o arguido em processo penal sempre que considere que a prova de ADN é bastante para evidenciar a sua inocência pode solicitá-la (Moniz, 2002).

Apesar do número limitado de condenações resultantes (apenas) de correspondências de perfis de ADN, não é negligenciável que a prova de ADN contribuiu e continuará a contribuir para a detenção de autores de crimes de importante gravidade.

A AUTONOMIA

Ao princípio da autonomia encontra-se subjacente o conceito de consentimento (informado), o qual legitima condutas entendidas de outra forma como ofensas à liberdade individual. Segundo o CNECV⁸ é imperiosa a obtenção de consentimento sempre que aplicável, ainda que o sujeito em causa seja arguido ou condenado. No âmbito da perícia

genética o consentimento pode contemplar não só a colheita da amostra, mas também a inclusão do perfil numa base de dados. Partilhando o ponto de vista de Descartes que considera que age com maior liberdade quem melhor compreende as alternativas em escolha, existe ainda o dever de informar sobre as finalidades da colheita da amostra e se aplicável explicar o conceito de base de dados de ADN, os tipos de investigação possíveis e os seus potenciais riscos e benefícios, as condições e duração do armazenamento da amostra biológica e do perfil, as medidas de segurança que garantem a confidencialidade dos dados bem como a possibilidade de comunicação, às autoridades competentes, dos resultados obtidos através do exame do material genético.

De acordo com o n.º 1 do artigo 6º da lei n.º 5/2008, a base de dados de perfis de ADN é construída, de modo faseado e gradual, a partir da recolha de amostras em voluntários, para o que devem prestar o seu consentimento livre, informado e escrito. No entanto a legislação Portuguesa, prevê a obrigatoriedade de inserção na base de dados criminal de todos os perfis de condenados com penas concretas iguais ou superiores a três anos⁹. Decorre ainda da Lei n.º 45/2004 que regula o regime jurídico das perícias médico-legais o dever de sujeição a este tipo de exame¹⁰,

9 Art. 8.º Lei n.º 5/2008, de 12 de Fevereiro (Recolha de amostras com finalidades de investigação criminal) 2- (...) é ordenada, mediante despacho do juiz de julgamento, e após trânsito em julgado, a recolha de amostras em condenado por crime doloso com pena concreta de prisão igual ou superior a 3 anos, ainda que esta tenha sido substituída.

10 Art. 6º Lei n.º 45/2004, de 19 de Agosto (Obrigatoriedade de sujeição a exames) 1- Ninguém pode eximir-se a ser submetido a qualquer exame médico-legal quando este se mostrar necessário ao inquérito ou à instrução de qualquer processo e desde que ordenado pela autoridade judiciária competente, nos

7 Lei n.º 67/98 de 26 de Outubro

8 Parecer n.º 52 sobre o regime jurídico da base de dados de ADN

devido a perícia genética de pessoa que não tenha prestado consentimento, ser ordenada pelo juiz, tendo em conta o direito à integridade física pessoal e à reserva da intimidade do visado¹¹.

Mas importa aqui invocar o artigo 149º do Código Penal, o qual esclarece que para efeito de consentimento, a integridade física se considera livremente disponível, desde que a ofensa ao corpo ou à saúde não contrarie os bons costumes, tomando-se em conta, nomeadamente, os motivos e os fins do agente ou do ofendido, bem como os meios empregados e a amplitude previsível da ofensa. É verdade que a colheita de amostras biológicas, sem consentimento do titular, desde que ofenda o corpo ou a saúde, independentemente da dor e sofrimento causados, cumpre a factualidade típica de crime de ofensa da integridade física. Mas, por outro lado, não é de negligenciar que as lesões insignificantes ou diminutas, que cumprem o critério de adequação social, como será o caso

termos da lei. 2- Qualquer pessoa devidamente notificada ou convocada pelo Director de Delegação do Instituto ou pelo Coordenador de Gabinete Médico-Legal para a realização de uma perícia deve comparecer, no dia, hora e local designados, sendo a falta comunicada, para os devidos efeitos, à autoridade judiciária competente. 3- (...); Art. 172º Código de Processo Penal (Sujeição a exame) 1- Se alguém pretender eximir-se ou obstar a qualquer exame devido ou a facultar coisa que deva ser examinada, pode ser compelido por decisão da autoridade judiciária competente 2- Os exames susceptíveis de ofender o pudor das pessoas devem respeitar a dignidade e, na medida do possível o pudor de quem a eles se submeter. Ao exame só assistem quem a ele proceder e a autoridade judiciária competente, podendo o examinando fazer-se acompanhar de pessoa da sua confiança.

11 Art. 154º Código do Processo Penal (Despacho que ordena a perícia) 1- A perícia é ordenada, oficiosamente ou a requerimento, por despacho da autoridade judiciária (...) 2- Quando se tratar de perícia sobre características físicas ou psíquicas de pessoa que não haja prestado consentimento, o despacho previsto no número anterior é da competência do juiz, que pondera a necessidade da sua realização, tendo em conta o direito à integridade física pessoal e à reserva da intimidade do visado.

de um encontrão no meio de uma multidão, não são passíveis de rotulação criminal (Moniz, 2002).

Segundo as directivas do Gabinete Parlamentar da Ciência e da Tecnologia do Reino Unido¹² (2006) a colheita de sangue de um suspeito só pode ser efectuada com o seu consentimento, mas a zaragatoa bucal, por se considerar uma colheita não-íntima dispensa consentimento. No entanto, a realização da referida zaragatoa implica a introdução de um objecto numa cavidade corporal, sendo assim de considerar este argumento frágil. É ainda assim inegável que se presumem contemplados os princípios da proporcionalidade e da adequação. Desde logo, os bens e valores juridicamente tutelados pelo Direito Penal justificam, em regra, restrições à liberdade, integridade física e moral e privacidade das pessoas envolvidas como agentes ou vítimas de um determinado crime¹³. É ainda de atentar que a obtenção da amostra biológica poderá constituir o único meio de prova.

A obrigatoriedade de sujeição à análise de ADN é entendida por alguns autores como atentado ao princípio da não auto-incriminação (*nemo tenetur se ipsum accusare*), que apresenta como matrizes jurídicas os valores e direitos fundamentais de dignidade humana, liberdade de acção e presunção de inocência. Argui Costa Andrade que *as provas obtidas em contravenção deste princípio, configurarão inescapavelmente*

12 Parliamentary Office of Science and Technology (POST) *The National DNA Database (2006)*

13 Nos casos de incumprimento do dever de sujeição a exame o examinando será punido por crime de desobediência; Art. 348º CP (Desobediência): 1- Quem faltar à obediência devida a ordem ou a mandado legítimos, regularmente comunicados e emanados de autoridade ou funcionário competente, é punido com pena de prisão até 1 ano ou com pena de multa até 120 dias (...)

um atentado contra a integridade moral da pessoa, particularmente qualificado, na medida em que redunde na degradação da pessoa em mero objecto ou instrumento contra si própria. Mas em boa verdade a colheita de uma amostra biológica para análise não constitui uma declaração contrária à presunção da inocência já que em momento algum o seu titular é obrigado a reconhecer que praticou determinado facto. Desde logo, estamos perante uma perícia de resultado incerto que tanto pode conduzir à condenação como à absolvição do indivíduo que a ela se sujeita (Fidalgo, 2006).

Para além dos perfis dos condenados com penas concretas iguais ou superiores a três anos, podem igualmente ser utilizados para fins de investigação criminal os perfis de amostras colhidas no local do crime ou cedidas por voluntários que devem prestar o seu consentimento livre, informado e escrito. Assim, o legislador atentando ao conflito entre os interesses do arguido e do sistema judicial, assegurou que os arguidos e os condenados cuja pena não enquadra os requisitos acima expostos, não podem ser considerados como voluntários, ou seja, o seu perfil, ainda que determinado no âmbito da investigação criminal, não pode integrar um ficheiro da base de dados que possibilite a sua utilização para fins de investigação criminal¹⁴.

Relativamente à conservação das amostras biológicas, considera o CNECV¹⁵ que não é

14 Art. 6.º, Lei n.º5/2008 (Recolha de amostras em voluntários) 3- O arguido na pendência do processo criminal apenas pode ser entendido como voluntário na recolha de amostras que não impliquem a respectiva utilização para fins de investigação criminal

15 Parecer n.º 52 sobre o regime jurídico da base de dados de ADN

defensável, uma vez feita a tipagem dos marcadores e obtidos os perfis de ADN, a conservação das amostras identificadas. Esta posição prende-se com o perigo de potenciais abusos estatais da existência de um biobanco associado à base de dados. Refere ainda o Conselho que quando tal for indispensável à investigação criminal o problema poderá, em parte, solucionar-se com a conservação separada, por entidades diferentes, de amostras e perfis genéticos. De acordo com a Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro¹⁶ as amostras de voluntários e pessoas condenadas em processo-crime são destruídas imediatamente após a obtenção do perfil de ADN e as amostras problema provenientes do local do crime são eliminadas quando identificadas com o arguido, no termo do processo-crime ou no fim do prazo máximo de prescrição do procedimento criminal, previsto no Código Penal.

A PRIVACIDADE INDIVIDUAL

Segundo a legislação portuguesa qualquer informação de qualquer natureza, relativa a uma pessoa singular identificada ou identificável é um dado pessoal, enquadrando o perfil genético esta definição. Apesar de não ser possível a

16 Art. 34.º Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro (Destruição das amostras) 1- As amostras são destruídas imediatamente após a obtenção do perfil de ADN, nos casos das alíneas a) e e) do n.º 1 do artigo 15.º 2- As amostras colhidas ao abrigo do disposto no n.º 1 do artigo 8.º só podem ser utilizadas como meio probatório no respectivo processo 3- As amostras referentes aos casos previstos nas alíneas b), c), d) e f) do n.º 1 do artigo 15.º são destruídas, respectivamente, nos prazos previstos no n.º 1 do artigo 26.º 4- O conselho de fiscalização comunica ao presidente do INML para que este ordene a destruição imediata das amostras, quer as mesmas estejam nos respectivos serviços ou em entidade protocolada.

identificação directa do titular do perfil de ADN através da base de dados, existe um número de código que possibilita aceder aos dados de identificação correspondentes. Decorre igualmente da legislação que o consentimento informado é condição *sine qua non* para a legitimidade do tratamento de dados pessoais, acrescentando a Constituição da República Portuguesa o direito dos cidadãos acederem aos dados informatizados que lhes dizem respeito e conhecerem a finalidade a que se destinam, nos termos da lei¹⁷.

Assume-se, no entanto, possível que certas disposições legais possam estabelecer, de alguma maneira, excepções a tais princípios. Exemplo disso é a base de dados de perfis de ADN para fins de investigação criminal, que contraria não só o respeito pela autonomia e consentimento informado, mas também o direito de privacidade. A criação

17 Art. 35.º Constituição da República Portuguesa (Utilização da informática) 1- Todos os cidadãos têm o direito de acesso aos dados informatizados que lhes digam respeito, podendo exigir a sua rectificação e actualização, e o direito de conhecer a finalidade a que se destinam, nos termos da lei 2- A lei define o conceito de dados pessoais, bem como as condições aplicáveis ao seu tratamento automatizado, conexão, transmissão e utilização, e garante a sua protecção, designadamente através de entidade administrativa independente 3- A informática não pode ser utilizada para tratamento de dados referentes a convicções filosóficas ou políticas, filiação partidária ou sindical, fé religiosa, vida privada e origem étnica, salvo mediante consentimento expresso do titular, autorização prevista por lei com garantias de não discriminação ou para processamento de dados estatísticos não individualmente identificáveis 4- É proibido o acesso a dados pessoais de terceiros, salvo em casos excepcionais previstos na lei 5- É proibida a atribuição de um número nacional único aos cidadãos 6- A todos é garantido livre acesso às redes informáticas de uso público, definindo a lei o regime aplicável aos fluxos de dados transfronteiras e as formas adequadas de protecção de dados pessoais e de outros cuja salvaguarda se justifique por razões de interesse nacional 7- Os dados pessoais constantes de ficheiros manuais gozam de protecção idêntica à prevista nos números anteriores, nos termos da lei

desta base de dados não contempla os conceitos de sigilo ou anonimato no seu sentido lato, já que tem um objectivo a eles contrário, permitir a identificação dos titulares da informação nela introduzida (eventualmente sem consentimento).

Relativamente à colheita de amostras biológicas, o Tribunal Europeu dos Direitos do Homem¹⁸, considera que uma intervenção médica compulsiva, mesmo que de pouca relevância,¹⁹ deve considerar-se uma limitação ao respeito pela vida privada²⁰. No entanto as recomendações do Conselho da Europa não proíbem o recurso à coacção na recolha forense de amostras, desde que as circunstâncias o justifiquem²¹. Há ainda que atentar ao artigo 3º da Convenção Europeia dos Direitos do Homem²² que condena o recurso à violência, neste contexto (excepto se estritamente necessária à detenção do indivíduo). No entanto, as repercussões do uso da força teriam que ser suficientemente importantes para contrariar o princípio instituído neste artigo, facto improvável quando falamos na recolha de amostras

18 Caso *Peters v Netherlands*

19 Nomeadamente a colheita de urina para pesquisa de drogas ilícitas

20 Art. 8º da Convenção Europeia dos Direitos do Homem estatui que cada pessoa tem direito ao respeito da sua vida privada e familiar, do seu domicílio e da sua correspondência e ainda que não pode haver ingerência da autoridade pública no exercício deste direito senão quando esta ingerência estiver prevista na lei e constituir uma providência que, numa sociedade democrática, seja necessária para a segurança nacional, para a segurança pública, para o bem-estar económico do país, a defesa da ordem e a prevenção criminal, a protecção da saúde ou da moral, ou protecção dos direitos e das liberdades de terceiros.

21 Recomendação n.º R (92) 1 do Comité de Ministros do Conselho da Europa, sobre o uso de análises de ADN na investigação criminal

22 Art. 3º Convenção Europeia dos Direitos Humanos (Proibição de tortura) Ninguém pode ser submetido a torturas, nem a penas ou tratamentos desumanos ou degradantes

por zaragatoa bucal. Desde logo, não devemos subestimar o n.º 2 do artigo 8º da Convenção que assume como prioridades assegurar a segurança nacional e a segurança pública, prevenir a criminalidade e respeitar os direitos e liberdades de terceiros.

Outro ponto que importa discutir quando falamos de privacidade é o período de tempo que o perfil de STR, do condenado, permanece na base de dados criminal. Há quem defenda que estes perfis devam constar na base *ad eternum*, considerando expectável um aumento da probabilidade de obter correspondências com as amostras provenientes de locais de crime. De acordo com esta perspectiva, os indivíduos com uma condenação prévia são mais propensos ao crime que aqueles nunca antes condenados. Poderíamos ainda justificar este ponto de vista argumentando que os indivíduos previamente condenados, em virtude dos crimes que cometeram, não são dignos dos mesmos direitos dos cidadãos cumpridores, tornando-se juridicamente defensável admiti-los como os suspeitos “do costume” (Murphy, 2010). É igualmente comum o argumento de que um ex-condenado poderá mesmo beneficiar da permanência do perfil na base de dados. No caso de crimes de tendência repetitiva, tais como abuso sexual, se o indivíduo se mantiver cumpridor da lei, sempre que na sua área de residência ocorra um crime sexual em que haja prova biológica, será imediatamente ilibado sem constrangimentos de inquérito policial e/ou detenção temporária.

No entanto, define a legislação portuguesa²³ que os perfis inseridos na base de dados criminal

devem ser eliminados no fim do prazo máximo de prescrição do procedimento criminal. Como já referido, um dos componentes do princípio de privacidade é o anonimato, ou seja, o direito do indivíduo não ser sujeito a uma vigilância estatal ou social excessiva. É este anonimato que permite às famílias e aos indivíduos não ver o seu futuro degradado por escolhas erradas passadas, mantendo a possibilidade de ingressar em novos projectos ou novas relações. Citando Orwell (1949), na sua obra *1984, quem controla o passado, controla o futuro*. De igual forma não deve ser vedada a oportunidade de reabilitação e reinserção social àqueles com um passado criminal já que em termos práticos a retenção dos perfis por tempo indefinido aumenta a vigilância dos seus titulares, mantendo a seu nome (in)directamente associação ao crime cometido.

Apesar da natural controvérsia sobre a forma como deve ser regulamentada a base de dados criminal é inegável o seu importante papel na promoção de interesses públicos tais como a dissuasão criminal, a prevenção da repetição de condutas ilegais e a confirmação não só da culpa mas também da inocência dos suspeitos.

A PRIVACIDADE FAMILIAR

Se quisermos ser mais precisos, a informação genética não é um simples dado pessoal, é antes um dado familiar, tendo como titular toda a família e não uma pessoa singular²⁴ (H. Moniz,

23 Art. 26.º Lei n.º5/2008 de 12 de Fevereiro (Conservação de perfis de ADN e dados pessoais) 1 - Os perfis de ADN e os correspondentes dados pessoais são: (...) d) Eliminados, quando a amostra for identificada com o arguido, no termo

do processo-crime ou no fim do prazo máximo de prescrição do procedimento criminal, previsto no Código Penal (...)

24 Este facto pode também colocar algumas dúvidas sobre a validade do consentimento, mesmo que se trate de um consentimento livre e esclarecido

2002). Assim quando o perfil da amostra biológica proveniente do local do crime não encontra correspondência (em todos os alelos dos marcadores STR), quando cruzada com os perfis da base de dados é possível pesquisar a existência de correspondências parciais, que denunciem eventuais laços familiares biológicos²⁵ entre o suspeito e os titulares dos perfis da base (Smith et al., 2012). De facto, os familiares em primeiro grau partilham aproximadamente metade dos alelos dos marcadores STR, sendo que pais e filhos têm em comum pelo menos um dos alelos de cada marcador. Familiares ligeiramente mais afastados (avós e netos, tios e sobrinhos) partilham cerca de um quarto dos alelos do perfil.

Historicamente as autoridades policiais sempre investigaram relações familiares, sem encontrar grande resistência na opinião pública. Se a descrição de uma testemunha ocular permitir identificar um suspeito, vindo-se a comprovar que o mesmo tem um álibi passível do excluir como autor do crime, será absurdo não colocar como hipótese que algum familiar, nomeadamente um irmão, possa apresentar igualmente traços fenotípicos compatíveis com os realçados no retrato *robot*. Surge ainda como inegável que entrevistar possíveis familiares de um suspeito, que eventualmente se encontram na posse de informação privilegiada, pode ser essencial à investigação. O recurso à base de dados, para pesquisa familiar, poderia então ser encarado como uma evolução natural de métodos mais tradicionais. No entanto

esta abordagem reveste-se de limitações não só do ponto de vista científico mas também do ponto de vista legal (Kayser et al., 2011).

Desde logo, da pesquisa resultam habitualmente correspondências parciais com vários perfis constantes na base de dados, ou seja, é identificado um conjunto de eventuais familiares do suspeito. De facto, a probabilidade de dois indivíduos terem um perfil de STR correspondente em determinado número de *loci* é considerável (Smith et al., 2012). Pelo contrário, a força probatória de uma correspondência completa reside na improbabilidade (muitas vezes expressa por uma razão de verosimilhança de um para vários milhões ou biliões) da correspondência se dever à existência de outra pessoa exactamente com o mesmo perfil. Acresce que quando se estabelece como possível uma relação familiar entre o suspeito e um indivíduo cujo perfil consta na base de dados, obrigar esse indivíduo (inocente daquele crime em concreto) a ceder informações de filiação é uma limitação importante à sua privacidade, podendo mesmo ser questionável se tal conduta se enquadra no dogma de *ultima ratio*, característico do Direito Penal. A este respeito, não devemos no entanto deixar de considerar que podem ser tomadas medidas para minorar intrusões desnecessárias na vida privada tais como, recorrendo ao exemplo da realidade Californiana, a avaliação da adequação geográfica entre a área de residência do suposto familiar do suspeito e a zona onde foi cometido o crime, bem como a estrutura e o passado criminal da família em causa. Também o facto do suposto familiar se encontrar sob custódia judicial à data da investigação criminal poderá, de alguma maneira, tornar 'mais' legítima esta abordagem (Gershaw et al., 2011).

25 O CODIS contém uma ferramenta intitulada Pesquisa Familiar, actualmente não utilizada em Portugal para fins de investigação criminal, no entanto é já utilizado noutros países, nomeadamente nos Estados Unidos da América e no Reino Unido, apresentando taxas de sucesso de 10-14% (Gershaw et al., 2011)

Não é igualmente de negligenciar o risco desta ferramenta de análise de ADN, tendo em conta as suas importantes limitações, contribuir para a sobrevalorização da prova genética em detrimento de outros métodos de identificação tradicionais, por ventura mais adequados ao caso em concreto. Desta sobrevalorização poderá resultar visão em túnel, denunciada pela incúria ou inércia na procura de elementos probatórios alternativos (Murphy, 2010). E mesmo em casos em que não existem alternativas viáveis para chegar à identificação do suspeito, se o mesmo não for familiar de nenhum dos indivíduos que têm o perfil na base de dados, o recurso a esta pesquisa servirá apenas para diminuir artificialmente o conjunto de possíveis culpados. A título de exemplo 57% dos indivíduos acusados de crime de abuso sexual, num ano, nunca terão sido detidos ou condenados anteriormente (Smith, 2006). Poderíamos mesmo ir mais longe, afirmando a pesquisa de filiação biológica como arbitrária e discriminatória, baseando-se na premissa de que os familiares de alguém com um passado criminal têm maior probabilidade de cometer um crime do que os familiares de um qualquer cidadão cumpridor da lei. Efectivamente, há quem recorra a este argumento para defender o recurso à pesquisa familiar (Bieber et al., 2006), mas tendo em conta variáveis como o tipo de conduta e as circunstâncias em que ocorreu, é difícil assumir a existência de uma tendência criminal familiar. Não é portanto defensável considerar que os familiares de alguém, cujo perfil consta na base de dados, são 'mais' suspeitos que os familiares de outro indivíduo qualquer, sendo que estes dois grupos se distinguem apenas por

um 'acaso biológico' ou um 'azar de filiação'. Impera que os benefícios e incómodos da existência da base de dados criminal se diluam por toda a sociedade, sendo contrário à equidade a sua concentração em determinados grupos populacionais.

Outro ponto a considerar é a possível revelação de relações familiares biológicas, ou da sua ausência, desconhecidas ou omitidas intencionalmente no seio familiar. A possível inserção do perfil dos condenados na base de dados sem o seu consentimento exacerba este problema. Importa assim que a informação familiar, obtida com recurso à base de dados, permaneça confidencial²⁶. Deve igualmente assegurar-se que entidades com fins alheios à investigação criminal não têm acesso aos perfis constantes na base, nomeadamente o Tribunal de Família, para a resolução de casos de filiação biológica.

Há a concluir que mesmo considerando que os direitos fundamentais de privacidade/intimidade e autodeterminação informacional não têm carácter ilimitado, podendo ceder em nome de interesses comunitários (Moniz, 2002) e que os conflitos descritos podem ser suavizados restringindo-se o recurso a este método de acordo com directivas legais que atentem à

26 Art. 28.º Lei n.º 5/2008 de 12 de Fevereiro (Dever de segredo) 1- A comunicação ou a revelação dos dados pessoais, bem como dos perfis de ADN, mesmo que não identificados, registados na base de dados, só pode ser efectuada nos termos previstos na presente lei e no estrito cumprimento das normas constantes da Lei da Protecção de Dados Pessoais 2- Os responsáveis pelo processo relativo à colheita de amostras e à obtenção do perfil, bem como pela inserção, comunicação, interconexão e acesso aos ficheiros que contêm os perfis de ADN ou dados pessoais, ficam obrigados a sigilo profissional, mesmo após o termo das suas funções 3- Igual obrigação recai sobre os membros do conselho de fiscalização, mesmo após o termo do mandato

opinião pública, a utilização desta ferramenta de pesquisa deve considerar-se apenas como último recurso, nomeadamente nos casos em que a amostra biológica é a única prova passível de permitir a identificação do suspeito²⁷. Mas, ainda que o recurso a esta ferramenta cumpra os critérios legais de proporcionalidade, pode ainda assim ser entendida como inconstitucional, contrariando os critérios jurídicos de inclusão na base de dados criminal. De facto a pesquisa familiar vai permitir, de forma subtil, o aumento da inclusividade da base de dados, bem como tornar mais abrangente o tipo de informação possível de obter através dos marcadores STR, escolhidos pela sua suposta 'inutilidade'.

Em boa verdade, se a identificação indirecta de um suspeito através de perfis de indivíduos que sabemos inocentes, é percebida pela comunidade como sendo benéfica, não seria uma alternativa óbvia e justa criar uma base de dados Nacional/Universal?

27 Há ainda a contemplar outras possibilidades, nomeadamente à análise de marcadores haplótipos do cromossoma Y. Estes marcadores são transmitido por linha paterna, à semelhança do sobrenome, de acordo com a realidade portuguesa, podendo o seu estudo ser revelador deste importante dado individualizante. King et al. (2006) realizou um estudo, no Reino Unido, e verificou que com esta metodologia é possível determinar correctamente o sobrenome do suspeito em 19% dos casos, sendo a percentagem mais elevada quando o último nome em causa é incomum. Também neste tipo de pesquisa se levantam as questões de privacidade familiar discutidas, falhando a inferência sempre obviamente que o sobrenome do indivíduo não reflecta um laço familiar biológico. Podemos ainda evocar que exames genéticos de marcadores do cromossoma Y podem inadvertidamente denunciar deleções genéticas associadas nomeadamente a infertilidade. Este facto remete-nos novamente para a discussão acerca do acesso arbitrário a informação médica individual.

A PRIVACIDADE GENÉTICA

Excluindo o facto do perfil de STR denunciar o género do seu titular, este não se relaciona directamente com características fenotípicas do indivíduo. Os *loci* de ADN utilizados são designados não codificantes ou inúteis, ou seja, à luz dos conhecimentos actuais não lhes é atribuível uma função. Sublinha o CNECV²⁸ que caso seja encontrada uma associação entre um marcador não codificante utilizado no perfil e uma doença ou um traço comportamental, esse marcador deverá ser retirado do painel e todos os dados que tenham sido obtidos anteriormente com esse marcador deverão ser eliminados.

Mas com o gradual desenvolvimento das técnicas de análise de ADN é possível aceder a uma quantidade crescente de informação pessoal a partir de uma amostra biológica. Assim, tendo em conta o limitado alcance da base de dados criminal na identificação de suspeitos, aos problemas já discutidos soma-se a preocupação de que, no futuro, haja pressão para expandir o espectro das análises genéticas da amostra biológica proveniente do local do crime à fenotipagem.

1. FENOTIPAGEM INDIRECTA

Da hiperactividade da ciência resultou já a possibilidade de inferir a ancestralidade do titular de uma amostra a partir do perfil de STR, com base em estudos de frequências alélicas populacionais²⁹. Com a aplicação informática

28 Parecer n.º 52 sobre o regime jurídico da base de dados de ADN

29 Fonseca et al (2011) Supplement for 'On using machine learning to predict the affiliation of an individual to a major

PopAffiliator2³⁰, é possível traduzir o número de repetições de cada alelo nos *loci* dos 17 marcadores STR autossómicos, habitualmente analisados na perícia Genética em Portugal, por probabilidades de pertença, do titular da amostra, a cinco grandes grupos populacionais³¹. Esta análise de inferência biogeográfica permite ter uma noção, ainda que muito vaga, da provável aparência do titular da amostra, enquadrando o conceito de fenotipagem indirecta. Mas considerando a ubiquidade alélica populacional (mesmo quando falamos de polimorfismos STR), o valor preditivo deste tipo de análise não é, para já, satisfatório (Shriver et al., 2005 e Kayser et al., 2011).

No entanto, alguns polimorfismos de nucleótido único (SNP), pertencentes a *loci* codificantes da molécula de ADN, apresentam frequências significativamente diferentes em grupos populacionais distintos, sendo denominados de marcadores informativos da ancestralidade (MIA). É de referir, a título de exemplo, que determinados alelos associados a doenças raras existem apenas num determinado grupo populacional ou familiar, podendo ser utilizados para fins de identificação forense³² (Bobadilla et al., 2002; Loader et al., 1996). Mas também aqui recorreremos à fenotipagem indirecta, considerando que se o titular da amostra pertence a um determinado grupo

populacional devemos assumir que ele partilha as suas características fenotípicas. Este tipo de inferência reveste-se de muita fragilidade, já que os vínculos existentes entre o genótipo e o fenótipo são arduos. De facto, o conhecimento da ancestralidade nem sempre providencia uma inferência fiável da aparência do indivíduo e nem sempre o fenótipo permite determinar de forma consistente a ancestralidade. Parra et al. (2003) estudaram uma amostra de indivíduos de nacionalidade Brasileira, constatando que dos indivíduos classificados como “definitivamente caucasóides” (por análise visual de dois peritos), cerca de um quarto apresentava uma proporção de ancestralidade genética Africana ou Ameríndia superior a 50%. Da mesma forma, indivíduos classificados como “inequivocamente negróides” apresentavam preponderância genética Europeia. Decorre do exposto que o recurso a este tipo de dados deve ser cauteloso, podendo mesmo funcionar como factor de distracção na investigação criminal, criando expectativas ilusórias relativamente ao fenótipo do agente do crime. Sublinha-se no entanto que a crítica recai mais uma vez sobre a fenotipagem indirecta, não obstante poder ser útil o conhecimento da procedência biogeográfica do suspeito à investigação em curso.

De facto, com a natural diminuição dos custos e das barreiras tecnológicas, se a implementação deste tipo de testes aparentemente aumentar a eficácia da investigação criminal as pressões para o seu uso rotineiro serão enormes. Uma hipótese seria invocar aqui o princípio da proporcionalidade, afirmando que de acordo com a gravidade da conduta e os bens jurídicos ofendidos se poderia justificar uma análise ‘mais completa’ da amostra biológica proveniente do local do crime, desde que

population group based on a forensic based set of autosomal STR’ disponível para consulta em <http://cracs.fc.up.pt/~nf/popaffiliator2/>

30 <http://cracs.fc.up.pt/~nf/popaffiliator2/>

31 Ásia, Eurásia, África sub-Saariana, Norte de África, Médio Oriente

32 Foram já identificados cerca de 1000 alelos do Gene Regulador da Condução Transmembrana da Fibrose Quística (CFTR), a maioria deles existindo numa única família ou num pequeno grupo de indivíduos

tais dados pudessem apenas servir a investigação criminal que tornou legítima a sua obtenção. Mas há que observar *cum grano salis* esta possibilidade, já que o estudo genético da ancestralidade com aplicação forense se reveste não só de problemas práticos, mas também conceptuais. De facto, um debate multidisciplinar entre historiadores, antropólogos, biólogos e eticistas tomou conta da problemática do recurso a informações sobre ancestralidade genética na investigação criminal.

Duster (2006) invoca a possibilidade do conceito de ancestralidade genética poder reforçar ou recriar o estereótipo de que as minorias são perigosas e moralmente inferiores. Ossorio (2006) vê com alguma ansiedade a associação entre afinidade populacional, genes e crime, sublinhando que o carácter probabilístico/orientador da inferência biogeográfica possa ser mal interpretado, legitimando que as minorias comunitárias sejam o principal alvo da justiça. Esta problemática tem pouco de original, ao longo do século XIX muitos foram os investigadores (Cartmill, 1998) que procuraram padrões de diferenças entre indivíduos com distintas afinidades populacionais. Esta taxonomia racial devia considerar características tais como o comprimento dos membros, a cor da pele e a textura capilar. Já no século XX tornou-se evidente a impossibilidade de chegar a um consenso sobre a existência de raças humanas, dado que as fronteiras antropométricas bem definidas entre populações, apanágio de tal conceito, se esbateram à medida que o número de indivíduos, características e locais geográficos estudados se acumulou. A constatação da possibilidade de utilização do genoma humano para fins de identificação individual, parece erradamente ter animado expectativas de que a 'tal' essência racial residisse na molécula de ADN.

Mas o conceito de raça alimenta-se não só de factores biológicos, mas também sócio-culturais, pelo que é complexo e mutável, não definível pelo estudo de marcadores genéticos (Pilar, 2006). Na realidade, a espécie humana é demasiado recente para acumular diferenças genéticas substanciais. Não obstante o facto de que grupos populacionais próximos geograficamente apresentem mais semelhanças genéticas entre si do que quando comparados com populações longínquas. Jorde et al. (2004) afirmam que a variabilidade genética surge de forma contínua e sobreponível nas várias populações. Assim, com o intuito de evitar a confusão entre o conceito de ancestralidade e o conceito racial, os investigadores aconselham que os resultados da fenotipagem indirecta sejam apenas geográficos (Kayser et al., 2011).

Também não devemos descurar o facto dos dados genealógicos disponíveis às famílias serem, na grande maioria dos casos, escassos e superficiais, com possibilidade de recuar apenas algumas gerações. Um teste genético de ancestralidade pode revelar informações que o indivíduo desconhece sobre si mesmo ou que ocultou intencionalmente, configurando eventualmente uma experiência desconcertante ou mesmo estigmatizante.

2. FENOTIPAGEM DIRECTA

Mas cientificamente ainda não esgotámos todas as alternativas³³, restam os SNPs que

33 Pode-se ainda recorrer ao ADN mitocondrial, que é apenas transmitido pela mãe (não recombinante). O perfil de ADN mitocondrial pode ser rastreado por várias gerações através dos familiares maternos, já que apesar de mutações pontuais que ocorrem ao longo de período de tempo considerável, a sequência permanece muito semelhante. Não permite no entanto fazer pesquisas familiares já que indivíduos não rela-

codificam características físicas de forma directa e permitem uma fenotipagem igualmente directa. O estudo de associação global do genoma³⁴ é um procedimento validado para identificar *loci* responsáveis pela variação de características poligénicas correlacionando o genótipo de milhares de SNP com fenótipos de interesse tais como pigmentação do cabelo, olhos e pele. De todos os traços físicos estudados até agora a cor dos olhos é o mais fiável, existindo já um *kit* para uso forense, denominado *IrisPlex®*, que possibilita perceber qual a proporção probabilística do titular da amostra apresentar íris de cor verde ou castanha (Walsh et al., 2011).

Mas também este tipo de análise não passa de uma previsão já que a precisão da inferência de uma característica fenotípica através do genótipo depende do número de SNP que contribuem de forma independente para essa característica e de influências ambientais (Kayser et al., 2011). Conclui-se então que mesmo no auge do seu potencial a genética forense nunca produzirá uma imagem do titular da amostra estudada comparável com uma fotografia. De facto, as descrições geneticamente baseadas não identificam um suspeito em particular mas uma população de suspeitos. Ainda assim, tendo em conta a notória falta de exactidão de outros métodos de identificação alternativos, este método não precisa

cionados familiarmente podem partilhar o mesmo ADN mitocondrial desde que partilhem um ascendente feminino muito tempo atrás. Por outro lado, a uniformidade geracional do ADN mitocondrial permite assim que este seja usado para determinar a ancestralidade de uma forma muito fiável, podendo-se chegar ao país de origem geográfica do suspeito. Este tipo de exame de ADN foi já considerado como prova em julgamentos nos EUA e é usado pelo FBI para obtenção de perfis (Smith, 2006).

34 GWAS; Genome-wide association studies

ser especialmente específico ou exacto para se considerar satisfatório e pode eventualmente providenciar um meio útil e idóneo de avaliar a fiabilidade das descrições de testemunhas oculares ou outros tipos de *profiling*, nomeadamente psicológico.

Actualmente o desenvolvimento de características psicológicas e de psicopatologia não é bem compreendido (Jacob et al., 2005; Hariri et al., 2002; Kandel et al., 2001). Pensa-se que a genética, neste campo, exerce uma influência de cerca de 50%, sendo os factores ambientais responsáveis pelo resto. Este facto não impede que existam já profecias sobre o possível uso da amostra encontrada no local do crime para obter perfis psicológicos, tomando em conta a associação existente entre psicopatologia e comportamento criminal (Smith, 2006).

Tornam-se assim evidentes diversos problemas de cariz ético, quando falamos do uso de ADN para fins de identificação, não por comparação de perfis mas por análise directa dos seus *loci* codificantes. De relance a informação genética sobre o fenótipo do indivíduo pode não parecer tão sensível como a informação médica. Podemos mesmo argumentar que este tipo de informação pessoal é visível ou de fácil acesso. Mas não nos precipitemos! O estudo dos SNP pode revelar várias informações pessoais em simultâneo. Ou seja, um alelo associado à cor da pele pode também denunciar predisposição genética para determinada doença, isto porque os genes podem participar activamente em diversas vias metabólicas. Acresce que muitos MIA se associam directamente à propensão ou manifestação patológica.

Para além de questões relacionadas com a privacidade e a autodeterminação informacional,

já que *grosso modo* quanto mais individualizante, íntima e pessoal for a informação obtida através da perícia genética, maior a sua utilidade, poderemos ainda invocar a problemática da discriminação³⁵. Harris et al. (1999) identificaram algum enviesamento no tratamento de minorias populacionais pelas forças de segurança pública. Após consulta dos registos policiais relativos ao controlo do trânsito, verificou-se que os indivíduos 'latinos' e 'negróides' tinham uma probabilidade oito vezes maior de serem parados em operações *stop* do que os 'caucasóides'. Há quem defenda que a aplicação destes testes genéticos poderia contribuir para a igualdade de tratamento das minorias populacionais, substituindo-se o preconceito pelos dados decorrentes da análise científica³⁶. Por outro lado, sempre que o teste genético apontasse o suspeito como membro de uma minoria esse facto seria mais facilmente percebido como justo pela comunidade em questão.

No entanto, se a análise genética revelar que o seu titular pertence ao grupo populacional dominante essa informação será, obviamente, de menor utilidade do que se, pelo contrário, estabelecer uma relação com uma minoria. Será portanto pouco provável que o problema da discriminação

encontre aqui uma resposta definitiva. Por outro lado, se assumirmos a existência de uma taxa de crime desproporcionadamente elevada nos grupos populacionais minoritários seria plausível assumir que a fenotipagem, aumentando o número de detenções, logo a segurança, poderia beneficiar tais comunidades. Mas será que os benefícios hipotéticos superam os possíveis danos?

De acordo com a Recomendação n.º R(97) 5 do Comité de Ministros do Conselho da Europa, sobre a protecção de dados clínicos, a perícia genética deve apenas ser usada para fazer prova, no contexto de uma ofensa criminal. Em nenhum caso deve ser usada para determinar outras características de cariz genético. Consta ainda na Resolução do Conselho Europeu de 25 Junho de 2001, relativa à partilha de resultados de análises de ADN que os Estados-Membro devem limitar o intercâmbio às zonas do cromossoma sem expressão genética.

Neste sentido, apesar de grande parte dos países Europeus, designadamente Portugal, não possuir legislação específica sobre a fenotipagem, na prática a genética forense analisa apenas *loci* de ADN não codificantes. A lei Belga assume que o único propósito da perícia genética no âmbito da investigação criminal é a comparação de perfis de ADN para, directa ou indirectamente identificar o perpetrador ou a vítima. O uso do ADN para outro tipo de análise genéticas encontra-se tipificado como crime. A Holanda surge como único país Europeu que tem uma lei específica sobre fenotipagem, tendo acrescentado ao seu Código de Processo Penal, em 2003, a possibilidade de determinar características físicas visíveis desde o nascimento, a partir de uma amostra biológica encontrada no local do crime e pertencente a um suspeito desconhecido (Koops et al., 2008).

35 Refere o artigo 14º da Convenção Europeia dos Direitos do Homem (sobre proibição de discriminação) que o gozo dos direitos e liberdades reconhecidos na presente Convenção deve ser assegurado sem quaisquer distinções, tais como as fundadas no sexo, raça, cor, língua, religião, opiniões políticas ou outras, a origem nacional ou social, a pertença a uma minoria nacional, a riqueza, o nascimento ou qualquer outra situação.

36 M'Charek (2008) descreve um caso em que uma criança de 16 anos foi assassinada numa cidade Holandesa, tendo o estudo genético da ancestralidade revelado a origem ocidental/europeia do culpado. A população enfurecidamente convicta de que o crime tinha sido cometido por um dos indivíduos provenientes do norte de África ou do Médio Oriente residentes na hospedaria local, viu assim o seu ânimo acalmado.

Apesar de todos os problemas apontados é de admitir a fenotipagem como uma alternativa importante quando não existem outras formas de se identificar o suspeito. No futuro a análise de ADN vai tornar-se mais fiável e detalhada, alargando-se o espectro de características identificáveis. Tão pouco é possível excluir, com toda a certeza, que marcadores genéticos até agora considerados inúteis possam indirectamente influenciar ou programar a expressão genética. Há assim que regular o uso destas ferramentas, considerando sempre que a ciência pode eminentemente mudar de paradigma. Seria importante regular o recurso à fenotipagem, atentando à opinião pública e legislações já implementadas, nomeadamente a Holandesa. Consta da recente revisão Australiana do *crimes act* (1914) que as legislações não devem encarar de forma proibitiva o recurso às tecnologias de análise de ADN, devendo no entanto ser aplicadas após escrutínio público. Uma abordagem proactiva desta temática pela lei penal poderia, por um lado, prevenir a absolvição de culpados por inadmissibilidade de provas-chave em Tribunal e por outro evitar violações desnecessárias da privacidade dos suspeitos.

BASE DE DADOS UNIVERSAL, UTOPIA OU DISTOPIA?

As bases de dados de ADN representam um exemplo de associação entre novas e eficazes formas de controlo social a estratégias político-governamentais de controlo do crime. Rabinow (1996), epígono de Foucault, no seu ensaio sobre a antropologia da razão, chamou à sobreposição entre os conceitos social e vital biossocialidade,

que considerou de importância capital na biopolítica, termo que decorre da atenção dada pelo governo à vida humana, no seu sentido biológico. Existe assim importante relação entre a biossocialidade e o biopoder (a administração da vida) que apesar de simbiótica não deixa de suscitar alguma controvérsia, nomeadamente no que diz respeito aos usos sociais da genética. Mais recentemente Lynch e McNally (2008) surgem como autores do conceito biolegalidade, representativo da relação de cooperação entre a lei e a biotecnologia, sendo perceptível neste contexto um processo contínuo de redefinição dos direitos e do estatuto do corpo do suspeito e da credibilidade da prova criminal. De facto, o armazenamento de perfis de ADN numa base de dados é um poderoso instrumento de biovigilância. É importante introduzir na discussão o princípio da equidade, sendo nomeadamente de assegurar que os critérios de inclusão (de cariz mutável) na base de dados criminal, não possibilitem uma distribuição desigual de grupos comunitários em si representados, evitando assimetrias populacionais de vigilância governamental. Orwell no ensaio 'A Política e a língua inglesa' (1946) enquadra a equidade numa lista de palavras às quais são atribuíveis diferentes significados, muitos deles esquivos. De facto o autor tinha já sublinhado na sua obra 'Triunfo do Porcos' (1945) que 'os animais são todos iguais, mas uns são mais iguais que outros'.

A este propósito Alec Jeffreys referiu na Conferência Anual da Sociedade Britânica de Genética Humana, no ano de 2001, que a criação de uma base de dados universal é a forma mais ética de armazenar os perfis, anulando muitas das questões relacionadas com a discriminação e com a privacidade. Desde logo eliminava-se

a possibilidade da base representar desproporcionalmente diferentes grupos populacionais. Acresce que a expansão da base permitiria que os perfis de STR fossem suficientes para identificar os titulares das amostras encontradas nos locais dos crimes, inutilizando o recurso à fenotipagem em contexto forense (Williams et al. 2004).

Mas o conceito de base de dados universal pode pôr em causa o princípio jurídico da proporcionalidade, já que da importante restrição de liberdade e autonomia individual resultará um pálido aumento da segurança pública. Há ainda que atentar a questões de injustiça distributiva, pois o investimento humano e económico necessário para criar uma base de dados universal é desproporcionado relativamente aos ganhos expectáveis³⁷ sendo de considerar que na ausência de meios para garantir boas condições de vida ao conjunto da população, não é defensável tal investimento.

Também não deve ser negligenciada a possibilidade de que, nomeadamente, disputas políticas propiciem a utilização desadequada desta informação. Sublinha o CNECV³⁸ que a informação contida na base de dados pode ser usada para estudos forenses e mesmo para estudos epidemiológicos desde que se assegure o anonimato irreversível dos dados, não sendo, no entanto, aceitável o uso de amostras associadas à obtenção de perfis para investigação biomédica.

Há ainda quem sublinhe que a criação de uma base de dados universal expressa uma

violação de importantes princípios constitucionais, passando-se a considerar todos os indivíduos como possíveis perpetradores de crimes. De facto, haverá uma obrigatoriedade de toda a população se sujeitar a análise genética, independentemente de suspeita criminosa. Mas não pode deixar de ser referido que a nossa legislação prevê esta possibilidade, nomeadamente no Código da Estrada³⁹ que prescreve que o condutor ou a pessoa que se propôs a iniciar a condução, apesar de não ser arguido ou suspeito num processo-crime, tem que se submeter a exames de determinação da taxa de alcoolemia. É de lembrar que nos casos em que seja impossível proceder a pesquisa de álcool no ar expirado verifica-se a obrigatoriedade de sujeição a punção venosa para colheita de sangue.

Mas, independentemente dos prós e dos contras despertados pela base de dados universal, a tendência é que os critérios de inclusão, excepção a excepção, se vão tornando mais abrangentes. Em boa verdade, o Reino Unido dispõe já de uma base de dados nacional. Justifica-se aqui citar José Saramago: *de que adianta falar de motivos, às vezes basta um só, às vezes nem juntando todos*⁴⁰.

37 Alguns autores propõem como solução que a tipagem fosse realizada ao nascimento. É igualmente de admitir uma gradual diminuição do custo analítico por indivíduo incluído na base de dados, ao longo do tempo.

38 Parecer n.º 52 sobre o regime jurídico da base de dados de ADN

39 Art. 152º 1-Devem submeter-se às provas estabelecidas para a detecção dos estados de influenciado pelo álcool ou por substâncias psicotrópicas a) os condutores; b) os peões, sempre que sejam intervenientes em acidentes de trânsito; c) as pessoas que se propuserem a iniciar a condução 2-(...) 3- as pessoas referidas nas alíneas a) e b) do nº 1 que recusem submeter-se às provas estabelecidas para a detecção do estado de influenciado pelo álcool ou por substâncias psicotrópicas são punidas por crime de desobediência 4-(...) 5- O médico ou paramédico que, sem justa causa, se recusar a proceder às diligências previstas na lei para diagnosticar o estado de influenciado pelo álcool ou por substâncias psicotrópicas é punido por crime de desobediência

40 Em *Jangada de Pedra* (1986)

BIBLIOGRAFIA

- Bieber, F. et al., (2006). Finding criminal through DNA of their relatives. *Science*, 312, 1315-1316.
- Bobadilla, J. et al., (2002). Cystic Fibrosis: A worldwide analysis of CFTR mutations: Correlation with incidence data and application to screening. *Human Mutation*, 19, 575-606.
- Cannold, L., (2008). Who's the father? Rethinking the moral 'crime' of 'paternity fraud'. *Women Studies International*, 31, 249-256.
- Castmill, M., (1998). The status of the race concept in physical anthropology. *American Anthropologist*, 100, 651-660.
- Cho, M. & Sankar, P., (2004). Forensic genetics and ethical, legal and social implications beyond the clinic. *Nature (Genetics)*, 36, 8-12
- Duster, T., (2006). The molecular reinscription of race: unanticipated issues in biotechnology and forensic science. *Patterns of prejudice*, 40, 427-441.
- Fidalgo, S., (2006). Determinação do perfil genético como meio de prova em processo penal. *Revista Portuguesa de Ciência Criminal*, 16, 115-148.
- Ford, P., (2010). *DNA Forensic Procedures: Further independent review of part 1D of the Crimes Act 1914 - Forensic Procedures*. Commonwealth Attorney-General's Department.
- Gershaw, C., Schweighardt, A., Rourke, L. & Wallace, M., (2011). Forensic utilization of familial searches in DNA databases. *Forensic Science International Genetics*, 5, 16-20.
- Guillén, M. et al., (2000). Ethical-legal problems of DNA databases in criminal investigation. *Journal of Medical Ethics*, 26, 266-271.
- Hariri, A. et al., (2002). Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, 297, 400-403.
- Harris, D., (1999). The statistics and the law: Why 'driving while black' matters. *Minnesota Law Review*, 84, 265-326.
- Hepple, B. et al., (2007). *The forensic use of bioinformation: ethical issues*, Nuffield Council on Bioethics.
- Jacob, C. et al., (2005). Cluster B personality disorders are associated with allelic variation of monoamine oxidase A activity. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1711-1718.
- Jorde, L. & Wooding, S., (2004). Genetic Variation, Classification and 'Race'. *Nature Genetics*, 36, 28-33.
- Kandel, E., (2001). The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. *Science*, 294, 1030-1038.
- Kayser, M. & Knijff, P., (2011). Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nature Reviews Genetics*, 12, 179-192.
- Kelves, D., (1985). *In the Name of Eugenics*. Berkeley: University of California Press.
- King, T., Ballereau, S., Schurer, K. & Jobling, M., (2006). Genetic signatures of coancestry within surnames. *Current Biology*, 16, 384-388.
- Koops, B. & Schellekens, M., (2008). Forensic DNA phenotyping: regulatory issues. *Columbia Science Technology and Law Reviews*, 9, 158-202.
- McCartney, C., (2006). The DNA expansion programme and criminal investigation. *British Journal of Criminology*, Volume 16, pp. 115-148.
- M'Charek, A., (2008). Silent witness, articulate collective: DNA evidence and the inference of visible traits. *Bioethics*, 22, 519-528.
- McNally, R. & Lynch, M., (2008). *DNA, Biolegality and Changing Conceptions of Suspects*. Genomics Forum, University of Edinburgh.
- Moniz, H., (2002). Os problemas jurídico-penais da criação de uma base de dados. *Revista portuguesa de Ciência Criminal*, 2, 237-264.
- Murphy, E., (2010). Relative doubt: familial searches of DNA databases. *Michigan Law Review*, 109, 291-348.
- Ossorio, P., (2006). About Face: Forensic Genetic Testing for Race and Visible Traits. *Journal of Law, Medicine & Ethics*, 277-292.
- Parra, F. & al, e., (2003). Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 177-182.
- Perisco, N. & Castleman, D., (2005). *Detecting Bias: Using statistical evidence to establish intentional discrimination in racial profiling cases*. The University of Chicago Legal Forum.
- Loader, S. et al., (1996). Cystic Fibrosis Carrier Population Screening in the Primary Care Setting. *American Journal of Human Genetics*, 59, 234-247.
- Shriver, M., Frudakis, T. & Budowle, B., (2005). Getting the science and the ethics right in forensic genetics. *Nature Genetics*, 37, 449-451.

- Smith, M., (2006). Let's make the DNA identification database as inclusive as possible. *Journal of Law, Medicine & Ethics*, 385-389.
- Smith, M. & Urbas, G., (2012). Regulating new forms of forensic DNA profiling under Australian legislation: familial matching and DNA phenotyping. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 44, 63-81.
- Walsh, S. et al., (2011). IrisPlex: A sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Science International Genetics*, 5, 170-180.
- Williams, R. & Johnson, P., (2004). 'Wonderment and dread': representation of DNA in ethical disputes about forensic DNA databases. *New Genetics and Society*, 23, 205-223.
- Yao, Y. et al., (2002). Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese. *American Journal of Human Genetics*, 70, 365-648.

(Página deixada propositadamente em branco)

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os especialistas e técnicos de Genética Forense do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses que ao longo de muitos anos deram o seu melhor para que esta área das ciências forenses tenha atingido a qualidade e a segurança que lhe são reconhecidas.

(Página deixada propositadamente em branco)

Francisco Corte-Real

Licenciado, Mestre e Doutorado em Medicina (Medicina Legal), pela Universidade de Coimbra. Especialista e assistente graduado em Medicina Legal. Presidente do Colégio da Especialidade de Medicina Legal da Ordem dos Médicos. Professor Associado com Agregação e Sub-director da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Desempenhou funções de Director da Delegação do Centro e Vice-Presidente do Conselho Directivo do Instituto Nacional de Medicina Legal, bem como membro do Conselho Médico-Legal. Foi Presidente da Sociedade Portuguesa de Genética Humana, co-Presidente do *21st International Congress* da *International Society for Forensic Genetics*, Coordenador da Comissão que elaborou o projecto de Lei sobre a Base de Dados de Perfis de ADN. Representou Portugal na EDNAP (*European DNA Profiling Group*) e no *Prum Treaty DNA Technical Working Group*. Foi Presidente da Associação Portuguesa de Avaliação do Dano Corporal, *Deputy* do *European Council of Legal Medicine*, Sócio-Fundador do Centro de Estudos de Pós-Graduação em Medicina Legal e membro da Direcção do Centro de Ciências Forenses.

Duarte Nuno Vieira

Professor catedrático da Universidade de Coimbra. Presidente do Conselho Europeu de Medicina Legal, do Conselho de Consultores Científicos do Procurador do Tribunal Penal Internacional, da Associação Portuguesa de Avaliação do Dano Corporal e Vice-Presidente da Confederação Europeia de Especialistas em Avaliação e Reparação do Dano Corporal. Presidiu à Academia Internacional de Medicina Legal, Associação Internacional de Ciências Forenses, Associação Mundial de Médicos de Polícia, Academia Mediterrânea de Ciências Forenses e Associação Latino-Americana de Direito Médico. Tem exercido funções como Consultor Forense Temporário no âmbito do Alto Comissariado dos Direitos Humanos das Nações Unidas, Consultor Forense do Comité Internacional de Cruz Vermelha e perito forense do Conselho Internacional de Reabilitação de Vítimas de Tortura. Foi Director do Instituto de Medicina Legal de Coimbra e Presidente do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses e do Conselho Médico-Legal.

OBRA PUBLICADA
COM O APOIO

