

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JULIA DEL PIERO PEREIRA

**INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES AMBIENTAIS E TEMPO NA
RECUPERAÇÃO DE DNA DE CONTATO UTILIZANDO
METODOLOGIA ACESSÍVEL**

VITÓRIA, ES

2023

JULIA DEL PIERO PEREIRA

**INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES AMBIENTAIS E TEMPO NA
RECUPERAÇÃO DE DNA DE CONTATO UTILIZANDO
METODOLOGIA ACESSÍVEL**

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

Orientador: Prof. Dr. Iúri Drumond Louro

Coorientadora: Profa. Dra. Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos

Vitória, ES

2023

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

P436i Pereira, Julia Del Piero, 1996-
Influência de condições ambientais e tempo na recuperação de DNA de contato utilizando metodologia acessível / Julia Del Piero Pereira. - 2023.
50 f. : il.

Orientador: Iúri Drumond Louro.

Coorientadora: Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos.

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

1. Genética Forense. 2. Genética Molecular Humana. 3. Biologia Molecular. 4. Biologia Forense. 5. Biotecnologia. I. Louro, Iúri Drumond. II. dos Santos, Eldamária de Vargas Wolfgramm. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61



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

Ata da 212ª sessão de Defesa de Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, da discente JULIA DEL PIERO PEREIRA, realizada às 09:00h do dia vinte e três de fevereiro do ano dois mil e vinte e três (23/02/2023), na sala de webconferência do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Dissertação intitulada “INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES AMBIENTAIS E TEMPO NA RECUPERAÇÃO DE DNA DE CONTATO UTILIZANDO METODOLOGIA ACESSÍVEL”. A sessão pública foi realizada em formato virtual, por meio do link <https://meet.jit.si/pgbiotecnologiaufes>. O presidente da Banca, Prof. Dr. Lúri Drumond Louro (orientador), apresentou os demais membros da comissão examinadora constituída pelos Doutores: Profª Drª Flávia de Paula, Universidade Federal do Espírito Santo - examinadora interna; Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho, Universidade Estadual do Rio de Janeiro - examinador externo, e passou a palavra para a aluna que apresentou a sua proposta de dissertação. Terminada a apresentação, a banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar a mestranda APROVADA na defesa de Mestrado. Eu, Lúri Drumond Louro, que presidi a Banca de defesa, assino a presente Ata, juntamente com os demais membros e dou fé. Vitória, 23 de fevereiro de 2023.

Lúri Drumond Louro - orientador
Universidade Federal do Espírito Santo

Flávia de Paula - examinadora interna
Universidade Federal do Espírito Santo

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

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





UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



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

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/656708?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
FLAVIA DE PAULA - SIAPE 2441743
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 24/02/2023 às 10:25

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/656787?tipoArquivo=O>

JULIA DEL PIERO PEREIRA

**INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES AMBIENTAIS E TEMPO NA
RECUPERAÇÃO DE DNA DE CONTATO UTILIZANDO
METODOLOGIA ACESSÍVEL**

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

Apresentada em vinte e três de fevereiro de 2023.

Prof. Dr. Iúri Drumond Louro
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Profa. Dra. Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientadora

Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Profa. Dra. Flávia de Paula
Universidade Federal do Espírito Santo

VITÓRIA, ES

2023

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), seu corpo docente e servidores, por possibilitar e contribuir com a minha formação acadêmica.

À CAPES e FAPES pelo financiamento que permitiu a realização do projeto;

Ao Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) e seus integrantes, laboratório onde realizei os experimentos deste projeto;

Aos voluntários participantes do estudo por sua disponibilidade e concessão de amostras biológicas;

Ao orientador, Prof. Dr. Lúri Drumond Louro, por idealizar e viabilizar à realização da pesquisa;

À coorientadora, Profa. Dra. Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos pela orientação em cada etapa do desenvolvimento deste trabalho, bem como pelo suporte a cada adversidade;

Ao Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho e Profa. Dra. Flávia de Paula pela participação nesta banca examinadora e contribuições com o projeto;

À Bárbara Bessa, colega de bancada, por toda parceria, cumplicidade e contribuição com o projeto e comigo nessa jornada;

Aos meus amigos e família com quem pude contar em todos os momentos durante a realização do projeto.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

“Todo contato deixa uma marca” (LOCARD, 1910).

RESUMO

PEREIRA, J.D.P. **Influência de condições ambientais e tempo na recuperação de DNA de contato utilizando metodologia acessível**. 2023. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Impressões digitais podem configurar uma fonte de DNA em potencial para traçar perfis genéticos em um contexto forense. Nesse sentido, o presente estudo foi conduzido com a participação de 4 voluntários que se disponibilizaram a produzir impressões digitais em superfícies de plástico e madeira previamente higienizadas, afim de deixar DNA de contato. Os vestígios deixados nas matrizes foram submetidos a diferentes variáveis de acondicionamento como a incidência de luz solar direta e indireta, bem como o tempo entre o contato e a coleta de 24h e 72h. A coleta foi realizada por meio de duplo swab e seu DNA foi extraído por meio de extração orgânica com fenol-clorofórmio. Em seguida o material foi quantificado por NanoDrop, sendo que as amostras com melhor rendimento passaram também pelo fluorímetro Qubit. Os dados foram tabelados e submetidos a testes estatísticos. Os resultados mostraram que é possível obter DNA a partir de impressões digitais deixadas sobre superfícies de plástico e madeira, coletadas e extraídas por métodos acessíveis. Os métodos de quantificação avaliados foram capazes de quantificar as amostras de interesse, no entanto o método *Qubit* mostrou maior especificidade em relação ao *NanoDrop*. Foi possível recuperar de 0 a 104 ng de DNA nas amostras. Apesar das limitações estatísticas e da ausência de correlação foi observado maior recuperação de DNA das impressões depositadas no plástico, em relação a madeira. Em relação a persistência do DNA até o momento da coleta, foi encontrada maior concentração de DNA com significância estatística em amostras coletadas da madeira, sob luz indireta e após 72h. Enquanto as demais variáveis, exposição a luz solar direta, umidade e temperatura, não apresentaram efeito estatístico significativo. Essas informações, juntamente com considerações futuras, contribuirão para aumentar a capacidade forense de produzir perfis de DNA interpretáveis durante as investigações, mesmo quando vestígios biológicos mínimos estão disponíveis.

Palavras-chave: DNA de contato. impressão digital. duplo swab. extração orgânica. Qubit. NanoDrop.

INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS AND TIME ON TOUCH DNA RECOVERY USING ACCESSIBLE METHODOLOGY

ABSTRACT

PEREIRA, J.D.P. **Influence of environmental conditions and time on touch DNA recovery using accessible methodology.** 2023. Dissertation (Master in Biotechnology) - Postgraduation Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

Fingerprints can configure a potential DNA source for genetic profiling in a forensic context. In this regard, the present study was conducted with 4 volunteers who made themselves available to produce fingerprints on previously sanitized plastic and wood surfaces, in order to leave touch DNA. The traces left on the objects were subjected to different variables: the incidence of direct and indirect sunlight, and the time between contact and collection of 24h and 72h. The collection was performed using a double swab and the DNA was extracted through organic extraction with phenol-chloroform. Then the material was quantified by NanoDrop, and the samples with the best income also passed through the Qubit fluorometer. Data were tabulated and submitted to statistical tests. The results showed that it is possible to obtain DNA from fingerprints left on plastic and wood surfaces, collected and extracted by accessible methods. The evaluated quantification methods were able to quantify the samples of interest, however the Qubit method showed greater specificity in relation to NanoDrop. It was possible to recover from 0 to 104 ng of DNA in the samples. Despite the statistical limitations and the absence of correlation, a greater DNA recovery was observed from impressions deposited on plastic, in relation to wood. Regarding the persistence of DNA until the moment of collection, a higher concentration of DNA with statistical significance was found in samples collected from wood, under indirect light and after 72 hours. While the other variables, exposure to direct sunlight, humidity and temperature, did not show a statistically significant effect. This information, along with future considerations, will contribute to increasing the forensic ability to produce interpretable DNA profiles during investigations, even when minimal biological traces are available.

Keywords: contact DNA. fingerprint. double swab. organic extraction. Qubit. NanoDrop.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de tipos e quantidade de amostras utilizadas do estudo.	24
Figura 2. Fluxo metodológico do estudo.	24
Figura 3. Performance dos métodos de quantificação <i>NanoDrop</i> e <i>Qubit</i> para as amostras de DNA de contato recuperadas de superfícies de plástico (A) e madeira (B) conforme as variáveis de acondicionamento (<i>ANOVA Two-Way</i>).	28
Figura 4. Avaliação da influência da matriz na recuperação de DNA de contato (<i>ANOVA Two-way</i>).	32
Figura 5. Test T avaliando influência do intervalo de tempo entre o contato e a coleta na recuperação de DNA de contato.	34
Figura 6. Test T unpaired avaliando a influência da exposição a luz do sol direta na recuperação de DNA de contato.	35
Figura 7. Teste de correlação de Spermán entre quantidade de DNA recuperado e (A) temperatura, e (B) umidade ambiente.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das reações do kit <i>QubitTM dsDNA HS Assay</i>	26
Tabela 2. Resultado da quantificação de amostras de DNA de contato e Controle Positivo por NanoDrop (N) e Qubit (Q) em ng/μL.	27
Tabela 3. Resumo de estudos relatando quantidades de DNA recuperado de vários itens tocados ou manuseados.....	30
Tabela 4. Média e mediana em ng/μL dos resultados da quantificação no Qubit de Controle Positivo e amostras de DNA de contato.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C -Graus Celsius

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CCS - Centro de Ciências da Saúde

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CODIS – Sistema Combinado de Índice de DNA (do inglês *Combined DNA Index System*)

DNA - Ácido desoxirribonucleico

dsDNA - DNA fita dupla (do inglês *double - stranded DNA*)

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

FBI - Departamento Federal de Investigação (do inglês *Federal Bureau of Investigation*)

h – Horas

LCN - Baixo número de cópias (do inglês *Low Copy Number*)

min - Minutos

mL - Mililitro

ng - Nanogramas

NGHM - Núcleo de Genética Humana e Molecular

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês *Polymerase Chain Reaction*)

qPCR – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (do inglês *Real-time Polymerase Chain Reaction*)

STR - Curtas Repetições em Tandem (do inglês *Short Tandem Repeat*)

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

UV - Ultra Violeta

µL- Microlitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. DNA DE CONTATO.....	17
1.1.1. Impressões digitais.....	18
1.2. JUSTIFICATIVA.....	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3. MÉTODOS	21
3.1. ASPECTOS ÉTICOS.....	21
3.2. OBTENÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS.....	22
3.2.1. Controle positivo.....	22
3.2.2. Controle negativo.....	23
3.2.3. Amostras de DNA de contato.....	23
3.3. EXTRAÇÃO.....	25
3.4. QUANTIFICAÇÃO.....	25
3.4.1. Nanodrop.....	25
3.4.2. Qubit.....	25
3.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO.....	27
4.2. CONTROLE NEGATIVO.....	29
4.3. DNA DE CONTATO RECUPERADO.....	29
4.4. INFLUÊNCIA DAS MATRIZES.....	31
4.5. INFLUÊNCIA DO TEMPO ENTRE O CONTATO E A COLETA.....	33
4.6. INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO A LUZ DIRETA.....	34
4.7. INFLUENCIA DE OUTROS FATORES AMBIENTAIS.....	35
5. CONCLUSÕES	37
6. PERSPECTIVAS	38

1. INTRODUÇÃO

Em investigações criminais, a presença de evidências no local do crime possui papel fundamental na elucidação de delitos como homicídios, estupros, assaltos e roubos. Nesse contexto, a presença de vestígios biológicos, como sangue, saliva ou sêmen, se torna especialmente importante pois permite a produção de perfis de DNA e a identificação dos suspeitos de forma confiável e fidedigna (GINO; OMEDEI, 2011).

A utilização do DNA na identificação de indivíduos revolucionou as ciências forenses por se tratar de uma técnica superior às preexistentes, incluindo as impressões digitais. Isso se deve ao fato de que o DNA pode ser encontrado em todos os fluidos e tecidos biológicos humanos, permitindo assim a construção de um perfil genético indivíduo-específico que pode ser empregado para condenar ou inocentar suspeitos de crimes, auxiliar na identificação de corpos e restos humanos, determinar paternidade, entre outras utilizações (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019).

No geral, vestígios forenses comumente constituem amostras de DNA com baixo número de cópias (do inglês: *Low Copy Number* - LCN) e/ou degradado, tornando-se desafios nas análises forenses. Isso ocorre pelo fato de que antes da coleta, essas amostras ficam sujeitas a um conjunto de fatores ambientais tais como diferentes condições de temperatura e umidade, contaminantes químicos e microbiológicos, exposição ao solo e a outras substâncias naturais como a água salgada (DIXON et al., 2006).

A degradação resulta de processos de natureza enzimática ou química culminando no fracionamento de longas moléculas e na alteração de inúmeros nucleotídeos. Após a morte celular, os primeiros agentes de degradação do DNA são as nucleases endógenas – pertencentes à própria célula. As nucleases exógenas (de origem externa) são ubíquas no ambiente, podendo ser liberadas por microrganismos e invertebrados (ALAEDDINI; WALSH; ABBAS, 2010).

Os testes de identificação humana por meio do DNA são preferencialmente baseados no estudo dos marcadores de curtas repetições em tandem (do inglês: *Short Tandem Repeats* - STRs) (BUTLER; COBLE; VALLONE, 2007). Além de STRs característicos de cada fabricante, tradicionalmente tais kits procedem à amplificação dos 20 *loci* selecionados pelo Departamento Federal de Investigação (do inglês: *Federal Bureau*

of Investigation - FBI) do Departamento de Justiça dos Estados Unidos da América para compor o *Combined DNA Index System* (CODIS), o qual é um banco de perfis genéticos utilizado para a identificação de suspeitos de crimes (BUTLER; COBLE; VALLONE, 2007).

As alternativas metodológicas para amostras degradadas incluem a análise de mini-STRs. Estes se baseiam na geração de *amplicons* mais curtos em relação aos STRs, graças ao reposicionamento dos *primers* o mais próximo possível da região de repetição (ALAEDDINI; WALSH; ABBAS, 2010; BUTLER; COBLE; VALLONE, 2007). Dessa forma, a utilização dos mini-STRs em amostras degradadas ou com pouca quantidade de DNA é uma forma de aprimorar a análise de vestígios de cenas de crimes, como é o caso dos vestígios de DNA de contato.

1.1. DNA DE CONTATO

Um vestígio facilmente deixado em cenas de crime são os chamados *touch* ou *trace DNA* ou ainda DNA de contato. Segundo Hanson e Ballantyne (2013), DNA de contato é definido como “o DNA obtido a partir de material biológico transferido de um doador para um objeto ou uma pessoa durante o contato físico”. Ele pode estar presente em objetos ligados ao delito, como arma de fogo, facas e objetos perfurocortantes, ou mesmo em copos, latas, garrafas e talheres (OSTOJIC; WURMBACH, 2017). Esse tipo específico de evidência pode desempenhar um papel essencial no trabalho pericial forense e é considerado uma ferramenta importante para os investigadores (SESSA et al., 2019).

Estes vestígios são decorrentes de contato das mãos, lábios ou outras regiões do corpo com superfícies em geral e podem depositar células epiteliais como fonte de DNA (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). A medida em que se diferenciam, as células epiteliais se movem da camada basal da epiderme para a camada superior da pele. Durante esse processo, o citoplasma da célula se condensa e se queratiniza, enquanto o DNA da célula se fragmenta devido a apoptose. Esse fenômeno ocorre diariamente e milhares de células da pele e mucosas são transferidas para itens com os quais tenham entrado em contato por meio do toque. Algumas dessas células ainda estão nucleadas, ou seja, contém o material genético.

Dessa forma, é possível obter perfis genéticos completos e parciais a partir de DNA de contato (OSTOJIC et al., 2014), como constatado em estudos anteriores (BHOELAI et al., 2011; VAN HOOFFSTAT et al., 1999).

1.1.1. Impressões digitais

As impressões digitais são deixadas a partir do contato dos dedos com alguma superfície e configuram-se uma fonte de DNA de contato em potencial, uma vez que a deposição de suor e óleo que resulta na impressão digital, também veicula células para a superfície tocada. No entanto, não apenas células de descamação da epiderme local, mas também de outras partes do corpo como boca, nariz e olhos, podem estar presentes nas impressões digitais, visto que as mãos podem atuar como vetores de transmissão de células em hábitos involuntários como coçar os olhos (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). Desse modo, o DNA de contato encontrado em impressões digitais apresenta um grande potencial como fonte de perfis genéticos.

Estudos prévios relatam que impressões digitais latentes contêm DNA suficiente para uma análise genética (BALOGH et al., 2003; VAN OORSCHOT, R. A.H.; JONES, 1997). Entretanto, no contexto de uma perícia criminal, a quantidade disponível de DNA em uma impressão digital pode sofrer influência de diferentes variáveis como: o período de tempo entre a impressão e coleta, variação intra e interindividual, condições ambientais, a utilização de tratamentos reveladores sobre a impressão digital, assim como a natureza do suporte em que foi produzida. Além disso, a taxa de sucesso na obtenção de um perfil de DNA a partir de vestígios de contato depende em grande parte da seleção do método de recuperação apropriado para o material biológico e de como ele é aplicado (TOZZO et al., 2022).

1.2. JUSTIFICATIVA

Uma vez que vestígios de DNA de contato são facilmente deixados em cenas de crimes a partir de qualquer objeto ou superfície tocada, a utilização dos mesmos para fins de identificação humana é de importante conveniência numa investigação criminal. Diante disso, é de extrema valia pesquisas que visem o melhor aproveitamento de amostras de DNA *Low Copy Number* e busquem aprimorar a coleta e extração de material genético a partir de *impressões digitais*, permitindo que análises utilizando esse tipo de evidência desafiadora sejam mais confiáveis e mais

acessíveis. Ademais, faz-se notória a relevância de estudos visando avaliar as diferentes variáveis que atuam sobre a viabilidade do processo, de maneira a oferecer um método confiável para individualização humana com diversas aplicabilidades no âmbito forense.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar a influencia do tempo e condições ambientais na recuperação DNA de contato de matrizes comuns utilizando metodologia acessível.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho na recuperação de DNA de contato por meio de extração orgânica utilizando protocolo fenol-clorofórmio;
- Comparar métodos de quantificação de DNA de contato.
- Estimar a quantidade de DNA esperada em amostras de DNA de contato;
- Analisar a possibilidade de variação na quantidade DNA recuperado entre as matrizes plástico e madeira;
- Analisar se a incidência de luz solar direta e o tempo entre a impressão e a coleta influenciam na preservação do DNA de contato;

3. MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido com a participação de 4 voluntários que se disponibilizaram a depositar as digitais em diferentes matrizes, afim de produzir amostras de DNA de contato. Além das superfícies de textura lisa de plástico e madeira (*Pinus Elliottii* sem tratamento), foram avaliadas variáveis de tempo da impressão até a coleta, e incidência de luz solar direta que poderiam interferir na qualidade do material coletado. Por fim, foram buscados padrões na análise estatística a partir dos resultados das quantificações de DNA das amostras em questão.

3.1. ASPECTOS ÉTICOS

Os voluntários que participaram do projeto têm seus direitos, dignidade e bem-estar protegidos assim como a garantia de que o presente estudo se adequa as normas éticas de pesquisa conforme avaliação e aprovação concedida pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CCS/UFES), de número de Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 41628920.9.0000.5060 (Anexo A).

Esta pesquisa ofereceu riscos mínimos aos participantes e pesquisadores. A participação de voluntários foi resumida a doação de amostras realizada de maneira minimamente invasiva por meio de swab na mucosa oral e vestígios de contato deixados em objetos. A fim de minimizar eventuais danos, todas as etapas seguiram os protocolos de biossegurança. Não houve coleta de qualquer tipo de dado além do necessário para preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme modelo do Anexo B. Todo o material biológico coletado e o seu subsequente DNA extraído foram utilizados unicamente para a realização dessa pesquisa e serão desprezados sem identificação em descarte de material biológico.

Todos os doadores de amostras foram orientados sobre o protocolo de coleta, objetivos do estudo e confidencialidade das informações obtidas. Informamos ainda que o material biológico pertence ao participante e poderá, a qualquer momento, ser retirado da pesquisa caso manifeste o desejo, livre de qualquer transtorno. Foram esclarecidas todas as dúvidas e solicitado que os doadores fizessem a leitura do TCLE antes de sua assinatura e doação das amostras.

3.2. OBTENÇÃO E COLETA DAS AMOSTRAS

Os sujeitos do estudo são 02 indivíduos do sexo masculino e 02 indivíduos do sexo feminino que não possuem grau de consanguinidade ou parentesco, adequados conforme aos critérios de inclusão e exclusão adotados, e que aceitaram colaborar de forma voluntária. Sendo assim, participaram da pesquisa pessoas saudáveis e maiores de 18 anos, exceto: tabagistas; portadores de dermatites, alergias ou comorbidades na polpa dos dedos ou lábios; pessoas com amputações, ausência ou má formação de membros superiores; em uso recente de benzodiazepínicos; que tenha realizado exercícios físicos há menos de 1 hora do momento da coleta; e que esteja usando loções ou cosméticos nas mãos ou lábios no momento da coleta. Isso com a finalidade de permitir a coleta de impressões digitais e de evitar interferência de descamações incomuns, substâncias exógenas, e da ausência ou excesso de sudorese.

Após a explicação dos objetivos do estudo, métodos de coleta, possíveis riscos, garantia de confidencialidade, autonomia de participação e esclarecimento de quaisquer dúvidas, foi solicitado aos indivíduos que consentirem em participar a leitura e assinatura do TCLE. Essa e todas as demais etapas do estudo foram realizadas nas dependências do Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

As amostras coletadas compõem três grupos: amostras de DNA de contato, controle negativo e controle positivo.

3.2.1. Controle positivo

Esse grupo é composto de amostras com abundância de DNA, fonte segura e inequívoca de sua origem. Servindo assim, como comparativo as amostras provenientes de DNA de contato. Para isso, foi realizada coleta de células epiteliais da mucosa oral, por meio da fricção de swab de algodão na parede bucal dos 04 voluntários individualmente. Os swabs contendo amostra foram armazenados em microtubos identificados para as próximas etapas metodológicas.

3.2.2. Controle negativo

Os controles negativos são amostras coletadas após a higienização das superfícies e anterior a manipulação das matrizes pelos sujeitos. Sua função é indicar possíveis contaminantes na matriz que possa interferir no perfil a ser obtido a partir das amostras de DNA de contato. As amostras desse grupo foram coletadas com auxílio de swab de algodão friccionado sobre as matrizes previamente higienizadas e posteriormente transferido para microtubo identificado.

3.2.3. Amostras de DNA de contato

As amostras de DNA de contato foram obtidas a partir da deposição de digitais sobre superfícies de plástico e madeira da seguinte forma:

Primeiramente as matrizes em questão foram higienizadas com álcool 70% seguido de exposição à luz ultravioleta por 20 minutos a fim de eliminar eventuais contaminantes. Em seguida, é realizada a coleta do controle negativo como descrito anteriormente. Após tudo isso, é produzida a impressão dos polegares pressionados por 10 segundos sobre superfícies de plástico e madeira.

Logo após, os vestígios deixados nas matrizes são mantidos em ambiente laboratorial. No entanto, sob duas variáveis de acondicionamento: a incidência de luz solar direta e indireta, e o tempo entre o contato e a coleta de 24h e 72h.

Em sequência, as amostras foram coletadas por meio da técnica de duplo swab (do inglês: *double-swab*). Isto é, fricção de um swab de algodão umedecido com água ultrapura sobre a superfície tocada, seguido da fricção de um outro swab de algodão dessa vez seco sobre a mesma área.

A produção das amostras de DNA de contato foi realizada em triplicata para cada conjunto de variáveis analisadas. No total, cada voluntário realizou 24 impressões em 12 dias. Sendo que foram realizadas apenas uma impressão cada polegar por dia para minimizar variação na quantidade de células doadas em cada impressão.

No total foram coletadas 196 amostras, sendo que cada um dos quatro sujeitos produziu 1 controle positivo, 24 amostras de DNA de contato considerando 8

combinações de variáveis em triplicata, além de seus respectivos controles negativos, como exemplificado na Figura 1.

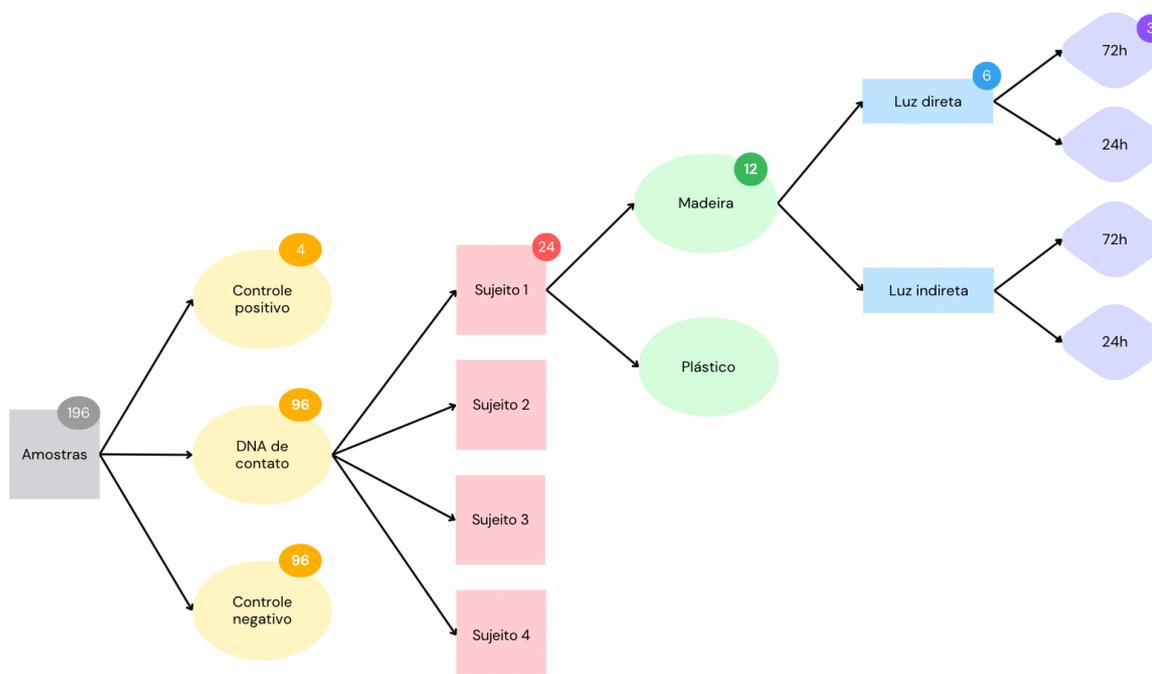


Figura 1. Esquema de tipos e quantidade de amostras utilizadas do estudo.

Assim que coletadas, todas as amostras dos três grupos foram acondicionadas individualmente em microtubos, e então armazenadas em freezer a -20°C até o momento de extração de DNA e demais etapas metodológicas (Figura 2).

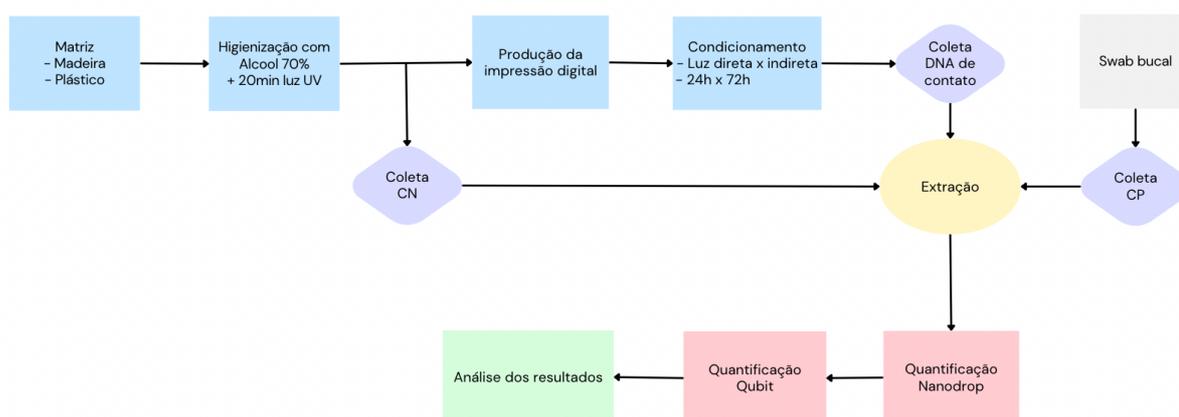


Figura 2. Fluxo metodológico do estudo.

3.3. EXTRAÇÃO

O material genético de todas as amostras foi extraído *in house* por meio do método de extração orgânica com fenol-clorofórmio. O protocolo adaptado de SAMBROOK (1989) inicia através da digestão enzimática com 45 µL de SDS-proteinase K e 405 µL de Tris-EDTA pH 9 adicionado ao microtubo da amostra. Após incubado a 58°C por 2 horas, os swabs são descartados e a extração segue com adição de 400µL de fenol-clorofórmio pH 9, centrifugação a 18.000 x g por 2 minutos e isolamento do sobrenadante por duas vezes. Após isso, há a purificação com 100 µL de acetado de amônio e precipitação alcoólica com 1 mL de etanol absoluto seguida de centrifugação a 15.350 x g por 15 minutos, o pellet é lavado com 1mL de etanol 70%. Em seguida, o material é ressuspenso em 100 µL solução *Low Tris-EDTA*, incubado a 37°C por 10 minutos e armazenado em geladeira a 4°C.

3.4. QUANTIFICAÇÃO

As moléculas de DNA presentes nas amostras foram quantificadas utilizando dois métodos.

3.4.1. NanoDrop

De início, todas as amostras foram submetidas ao *NanoDrop 1000 UV Visible Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific)*, espectrofotômetro UV/Vis comumente utilizado para quantificar rapidamente amostras de DNA, RNA e proteínas. A quantificação foi realizada conforme manual do equipamento e os resultados foram tabelados para posterior análise.

3.4.2. Qubit

A partir do resultado da primeira quantificação foram selecionadas as amostras de DNA de contato de maior concentração dentre as suas replicatas. Sendo assim, foram priorizadas para uma quantificação mais sensível: 24 amostras de DNA de contato com os melhores resultados contemplando todas as combinações de variáveis produzidas pelos 4 sujeitos do estudo, além de seus respectivos controles negativos e os 4 controles positivos do estudo.

As referidas amostras selecionadas foram quantificadas dessa vez utilizando o kit *Qubit™ dsDNA HS Assay* indicado para concentrações iniciais de amostra variando de 10 ng/μL a 100 ng/μL. Além disso, o ensaio é seletivo para DNA de fita dupla (dsDNA) e tolerante a contaminantes comuns.

A quantificação foi realizada seguindo as recomendações do fabricante e do manual do equipamento *Qubit™ 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific)*, foram adotados os seguintes volumes de reagentes para o preparo das reações (Tabela 1).

Tabela 1. Composição das reações do kit *Qubit™ dsDNA HS Assay*.

Reagente	Volume
<i>Working solution</i>	180 μL
Amostra	20 μL
Total	200 μL

3.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados obtidos foram tabelados e analisados utilizando o programa © 2023 *GraphPad Prism Software 8.0*. Foram utilizados testes de análises de variância (*ANOVA One-Way* e *ANOVA Two-Way*) e *Test-T unpaired* para realizar comparações entre os grupos, e testes de Correlação de Spearman para avaliar a correlação das condições ambientais com os resultados obtidos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma vez realizada a quantificação de DNA de todas as amostras no *NanoDrop*, as replicatas de DNA de contato com maior concentração disponíveis e seus respectivos controles foram priorizados para uma quantificação mais sensível com o *Qubit*, bem como os controles positivos (Tabela 2). Todos os dados foram tabelados e realizados testes estatísticos.

Tabela 2. Resultado da quantificação de amostras de DNA de contato e Controle Positivo por NanoDrop (N) e Qubit (Q) em ng/ μ L.

Matriz	Luz	Tempo	Sujeito 1		Sujeito 2		Sujeito 3		Sujeito 4	
			N	Q	N	Q	N	Q	N	Q
Madeira	Direta	24h	23	1,22	30,4	0,97	21,1	4,02	27	9,57
Madeira	Direta	72h	39	1,02	23,5	0,00	13,2	2,41	30,5	1,07
Madeira	Indireta	24h	24,9	2,37	14,6	0,71	28,1	0,00	32,6	1,08
Madeira	Indireta	72h	22,4	9,04	36,9	3,23	45,2	2,91	70	3,66
Plástico	Direta	24h	32,4	1,82	20,4	1,03	39,6	6,15	48	10,40
Plástico	Direta	72h	67,5	1,58	23,9	3,13	28,6	0,93	25	0,96
Plástico	Indireta	24h	28,9	2,86	29,2	2,98	13,1	0,66	34,6	1,75
Plástico	Indireta	72h	22,6	0,00	30,7	1,40	25,4	4,88	16,3	3,53
Controle Positivo			34,3	590	35,5	192	69,2	309	18,9	16

4.1. AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO

Ao avaliar a performance dos métodos de quantificação foi observado valores maiores para o *NanoDrop* em comparação ao *Qubit* para todos os grupos de amostras de DNA de contato (Figura 3).

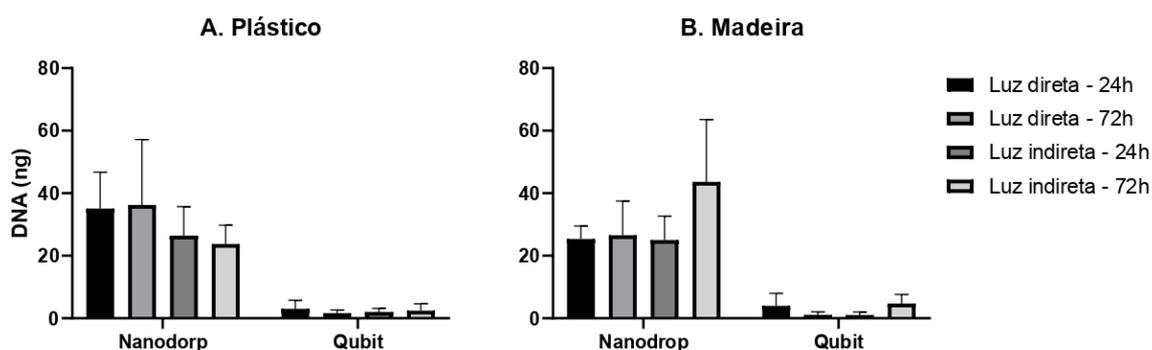


Figura 3. Performance dos métodos de quantificação *NanoDrop* e *Qubit* para as amostras de DNA de contato recuperadas de superfícies de plástico (A) e madeira (B) conforme as variáveis de acondicionamento (*ANOVA Two-Way*).

Esse padrão pode ser justificado pela maior especificidade e sensibilidade do kit *Qubit™ dsDNA HS Assay* uma vez que utiliza fluoróforos que se ligam especificamente ao DNA dupla fita emitindo fluorescência captada pelo fluorímetro *Qubit*. Além disso, segundo o fabricante, o ensaio é tolerante a contaminantes comuns, como sais, nucleotídeos livres, solventes, detergentes ou proteínas e tem faixa de detecção de 1 a 500 ng/mL (alta confiança), 0,5 a 1 ng/mL e 500 a 600 ng/mL (confiança moderada), sendo que no presente estudo foi detectado amostras com 0,66 ng/μL a 590 ng/μL (Tabela 2).

Em contraste, o espectrofotômetro *NanoDrop* tem faixa de detecção de 2,0 a 27.500 ng/μL de acordo com o manual e pode sofrer maior interferência de resíduos da extração ou contaminantes ambientais que assim como os ácidos nucleicos absorvam luz no comprimento de onda de 260 nm. Ademais, estudo que analisou DNA de contato de impressões digitais latentes em papel, observou em suas amostras limite mínimo de detecção para o *NanoDrop* de 1 ng/μL (precisão de 13%), sendo que só alcançou uma leitura precisa (80-100%) na concentração mais baixa de 10 ng/μL (SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017).

A mesma pesquisa realizou comparação de três abordagens e ficou claro que o fluorímetro *Qubit* apresentou maior sensibilidade, em comparação ao *NanoDrop* e espectrofotometria UV (SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017). Burrell et al. (2021) também explorou o uso do kit e salientou que embora o *Qubit* (e métodos semelhantes baseados em fluorescência) possa não ser ideal para a quantificação de

DNA de toque, devido à sua sensibilidade limitada, foi determinado que poderia ser usado com uma quantidade suficiente de DNA de células livres deixado pelo contato. Sendo assim, a quantificação utilizando o kit *Qubit™ dsDNA HS Assay* se mostra superior a utilização do *NanoDrop* quando se trabalha com amostras de DNA de contato.

4.2. CONTROLE NEGATIVO

Com a finalidade de investigar possíveis interferentes, foram extraídos e quantificados swabs das superfícies higienizadas previamente a produção de cada impressão digital (controle negativo) e swabs estéreis (n=6). O resultado da quantificação variou de 0 a 7,15 ng/μL e 1,15 a 14,4 ng/μL respectivamente. Apesar do achado, isso não interferirá necessariamente em etapas metodológicas mais específicas como quantificação por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) ou identificação de perfil STR. Isso porque a contaminação identificada pode ser resíduo da extração como discutido anteriormente ou mesmo material genético de origem diversa, por exemplo DNA microbiano que estava nas mãos do doador da impressão digital como descrito por (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019) e essas técnicas buscam regiões de interesse específicas do DNA humano.

4.3. DNA DE CONTATO RECUPERADO

Entre as amostras de DNA de contato foi observado variação na concentração de DNA de 0 a 10,40 ng/μL, quando quantificadas no *Qubit*, com média de 2,74 ng/μL, e mediana de 1,75 ng/μL. Enquanto o presente trabalho recuperou de 0 a 104 ng de DNA, um estudo com 300 voluntários produzindo DNA de contato em madeira, vidro e tecido obtiveram de 0 a 169 ng (DALY; MURPHY; MCDERMOTT, 2012).

Na literatura revisada por Burrill, Daniel e Frascione (2019) a variação inerente na deposição e recuperação de DNA é clara, variando de 0 ng para cerca de 170 ng de DNA medido (Tabela 3). Sendo que, os estudos variam muito em suas metodologias de deposição, quantificação e extração tornando as comparações diretas desafiadoras e as conclusões preditivas não confiáveis.

Tabela 3. Resumo de estudos relatando quantidades de DNA recuperado de vários itens tocados ou manuseados.

Matriz	Tempo de contato	Contato	Quantidade (ng)	Referência
Esfregação de mão	-	-	2-150	van Oorschot and Jones 1997
Cabo de faca de plástico, caneca, vidro	15 min	segurando	7-34	van Oorschot and Jones 1997
Esfregação de mão	-	-	0,1-6,4	Bright and Petricevic 2004
Lençol	1 noite	dormindo	0-8	Petricevic et al.2006
Lâmina de vidro	5 seg	pressionando	0-2	Allen et al. 2007
Papel	30 seg	pressionando	0-110	Sewell et al. 2008
Moldura da porta	1 min	agarrando	0- > 0,2	Raymond et al. 2008
Caixa de cartucho	30 seg	segurando	0,3-0,7	Horsman-Hall et al. 2009
Algodão	10-15 seg	friccionando	6-12	Goray et al. 2010
Plástico	10-15 seg	friccionando	0,4-0,5	Goray et al. 2010
Placa revestida de melamina	10 seg	pressionando	0-160	Kamphausen et al. 2012
Vidro	1 min	segurando	0-5	Daly et al.2012
Tecido	1 min	segurando	0-15	Daly et al. 2012
Madeira	1 min	segurando	0-169	Daly et al. 2012
Roupa infantil	1 min	friccionando	0,3-9	Goray et al. 2012
Bloco de plástico	1 min	friccionando	0-2,5	Goray et al. 2012
Seringa de plástico	10 seg	segurando	0-80	Poetsch et al. 2013
Lâmina de vidro	breve	pressionando impressão digital	0-17,6	Thomasma and Foran 2013
Cabo de faca	1 min x 4	simulando uso regular	~1-10	Meakin et al. 2015
Lâmina de vidro	15 sec	pressionando impressão digital	0-1,5	Oleivi et al. 2015
Vidro	10 sec	pressionando	0-5	Goray et al. 2016
Cabo de faca	breve	agarrar/esfaquear	0-4,8	Samie et al. 2016
Cabos não porosos	breve	pressionando impressão digital	0-3	Lim et al. 2016
Tubos de plástico	10 sec	segurando	0.04-3,8	Fonnelop et al. 2017
Volante do carro	2-60 min	segurando	0.21-134	Kirgiz and Calloway 2017
Abraçadeiras plásticas	breve	usado para ligar objetos	0-39,8	Steensma et al. 2017
Placa de policarbonato	breve	fingerprint pressure	0-3,5	Tobias et al. 2017

Fonte: Traduzido de Burrill Daniel e Frascione (2019).

Além disso, é relatado frequentemente disparidade entre indivíduos e até mesmo intraindividuais, fazendo com que previsões sobre quantidades “esperadas” de DNA de contato sejam impraticáveis (ALESSANDRINI et al., 2003; GORAY; MITCHELL; OORSCHOT, 2010; MEAKIN; JAMIESON, 2013). A variação interindividual também foi observada no presente estudo, onde o sujeito 4 teve média de 4 ng/μL enquanto os demais 2,51; 1,68 e 2,75 ng/μL. Além disso as triplicatas quantificadas no *NanoDrop* apresentaram variação de até 57,5 ng/μL entre suas replicatas. No entanto, nenhuma base biológica clara para essa tendência foi identificada e a quantidade

inicial de DNA deixado após o contato pode afetar a comparação subsequente de outras variáveis que influenciam a transferência de DNA (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; JANSSON et al., 2022)

Em geral, o DNA recuperado no presente estudo é elegível a realização de outras etapas metodológicas visando a identificação de perfis genéticos. Uma vez que na maioria dos casos, o DNA de toque deixa quantidade e qualidade suficientes de DNA genômico para produzir um perfil de DNA (ALKETBI, 2018)

Logo, os métodos de coleta e extração adotados demonstraram-se, suficiente para obter uma quantidade de DNA de contato razoável. O que é bastante interessante uma vez que são métodos acessíveis e comumente utilizados. Além disso, embora kits comerciais sejam mais específicos, rápidos e com menor risco de contaminação, estudos apontam que a extração orgânica, em alguns casos, é capaz de extrair maior quantidade de DNA em relação a kits comerciais, por exemplo, kit QIAmp DNA mini (QIAGEN GmbH, Qiagen Redwood City, Inc.) (EKKA; ARYA; PATEL, 2021; SAISOPHONA; BENCHAWATTANANONB, 2017). Já em relação a técnica de duplo-swab, prática cada vez mais comum nesse contexto, os achados corroboram com a literatura que indica como ideal para superfícies lisas e não porosas (COMTE et al., 2019; SESSA et al., 2019; VAN OORSCHOT, Roland A.H.; BALLANTYNE; MITCHELL, 2010).

4.4. INFLUÊNCIA DAS MATRIZES

Ao analisar a recuperação de DNA de contato nas matrizes de plástico e madeira, não foi encontrado associação estatística significativa (Figura 4).

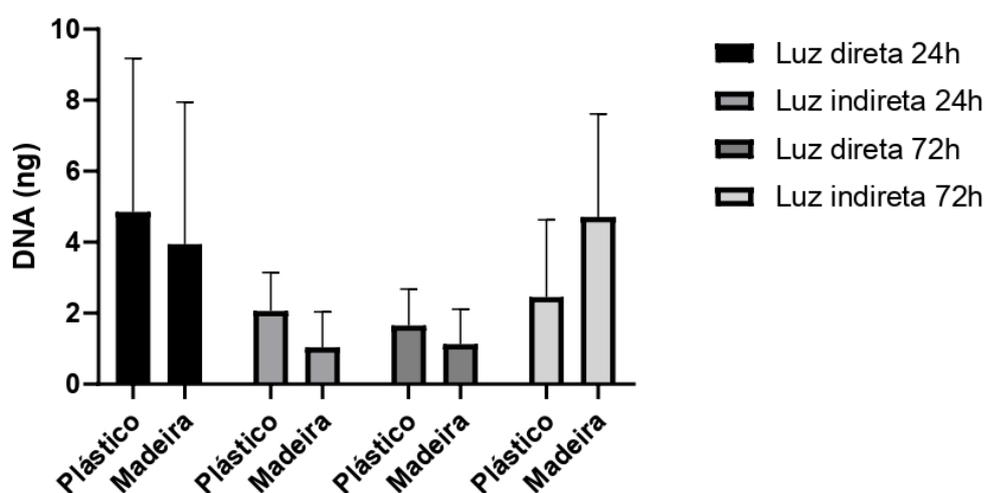


Figura 4. Avaliação da influência da matriz na recuperação de DNA de contato (ANOVA Two-way).

Geralmente, superfícies ásperas e porosas são consideradas melhores coletoras de DNA em relação as lisas (ALKETBI, 2018); a madeira é preferível aos tecidos, seguida do vidro, sendo o algodão melhor do que o plástico quando manuseado consistentemente (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019). Isso pode ser atribuído à natureza abrasiva de uma superfície áspera que provavelmente desalojará as células e, portanto, aumentará as chances de retenção do DNA (ALKETBI, 2018). No entanto, os resultados médios observados no presente estudo foram maiores para impressões digitais depositadas em plástico para todos os grupos de amostras exceto o grupo de acondicionamento a luz indireta por 72h até a coleta (Tabela 4 e Figura 4).

Tabela 4. Média e mediana em ng/ μ L dos resultados da quantificação no Qubit de Controle Positivo e amostras de DNA de contato.

Matriz	Luz	Tempo	Média	Mediana
Madeira	Direta	24h	3,95	2,62
Madeira	Direta	72h	1,13	1,05
Madeira	Indireta	24h	0,60	0,71
Madeira	Indireta	72h	4,71	3,45
Plástico	Direta	24h	4,85	3,99
Plástico	Direta	72h	1,65	1,27
Plástico	Indireta	24h	2,06	2,31
Plástico	Indireta	72h	2,45	2,47
Controle Positivo			276,75	250,50

Diferentes tipos de superfícies interagem de maneira diferente com as condições ambientais externas, por isso é importante considerar ao lidar com amostras de DNA de contato (ALKETBI; GOODWIN, 2019). Pesaresi et al. (2003) indicou que superfícies lisas e não porosas, como vidros, têm maiores chances de reter mais DNA do que superfícies ásperas e porosas, como madeira não tratada. Isso foi atribuído ao fato de que superfícies lisas e não porosas aumentam a taxa de transpiração durante a interação e, portanto, aumentam a quantidade de DNA depositado (ALKETBI, 2018).

Estudos reportam que os maiores resultados em quantidade e qualidade são obtidos de madeira, porém quando obtidos por fitas adesivas (DALY; MURPHY; MCDERMOTT, 2012; WÄHRER et al., 2023). Já utilizando coleta por swabs os melhores resultados são encontrados para superfícies lisas como o plástico (ALKETBI; GOODWIN, 2019). Uma possível interação negativa entre a matriz de madeira e a ponta do swab pode ser um motivo. Além disso, sua ponta não permite a penetração nos poros do substrato, onde o material celular pode ficar preso (VERDON; MITCHELL; VAN OORSCHOT, 2014; WÄHRER et al., 2023).

4.5. INFLUÊNCIA DO TEMPO ENTRE O CONTATO E A COLETA

Foram analisados dois períodos de tempo entre o momento do contato e a coleta: 24 e 72 horas. Ao realizar Test T para comparação dos resultados entre os grupos, foi possível observar maior recuperação de DNA de contato com significância estatística ($p < 0,05$) para as amostras coletadas da madeira, submetidas a luz indireta e com intervalo de 72h até a coleta (Figura 5). Os demais grupos não apresentaram diferença com relevância estatística entre os dois períodos de tempo.

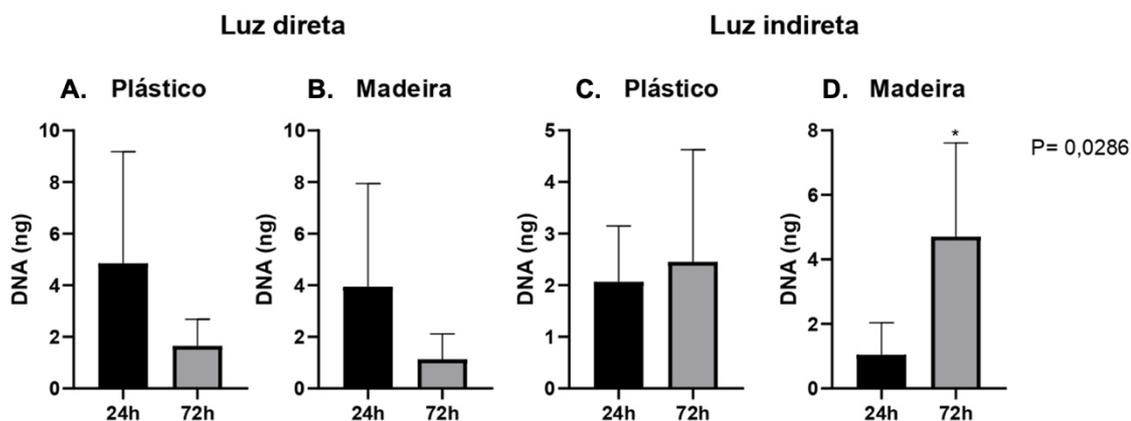


Figura 5. Test T avaliando influência do intervalo de tempo entre o contato e a coleta na recuperação de DNA de contato.

Uma vez que o DNA foi depositado, surge a questão de quanto tempo ele permanecerá em uma superfície para ser posteriormente coletado e testado. Intervalos de tempo mais longos entre a deposição original e a transferência/recuperação parecem diminuir o rendimento do DNA (ALKETBI; GOODWIN, 2019), exceto nos casos em que o DNA é depositado em áreas que permaneceram inalteradas por quaisquer fatores externos (NIMBKAR; D. BHATT, 2022).

No presente estudo, embora a temperatura e umidade ambiente tenha variado, e uma parte das amostras foram expostas a luz solar direta enquanto a outra não. Todas as impressões digitais produzidas foram acondicionadas em ambiente laboratorial protegidas de variações ambientais bruscas, como vento e chuva. Além disso, a ausência de diferença estatística entre resultados de amostras coletadas 24 e 72h depois da deposição em 3 grupos do presente estudo, assim como a maior persistência encontrada nas amostras da combinação madeira, luz indireta e 72h, não se deve descartar a possibilidade de perda de DNA ao longo do tempo quando analisado intervalos maiores nesse mesmo contexto. Faltam pesquisas sobre a influência do tempo de coleta na recuperação de DNA de contato, que comprovadamente reduz vestígios de material biológico nas amostras.

4.6. INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO A LUZ DIRETA

Ao analisar se a incidência de luz solar direta influenciaria na recuperação de DNA de contato, não foi observado diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) (Figura 6).

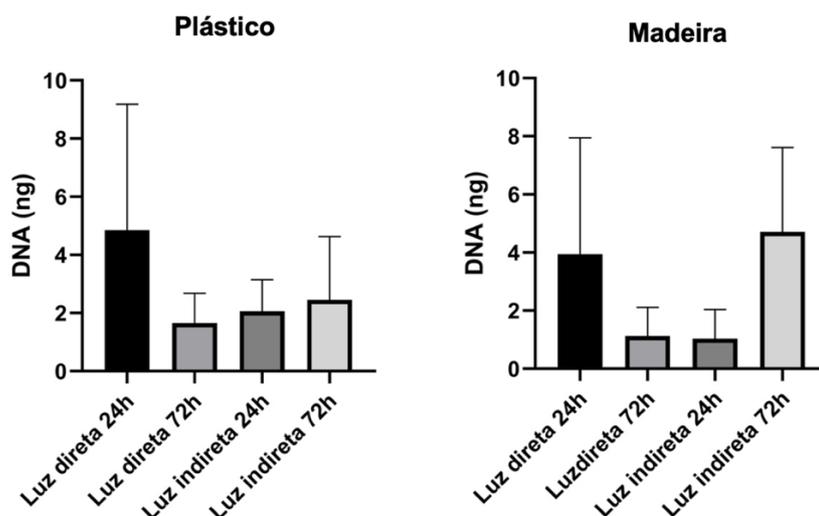


Figura 6. Test T unpaired avaliando a influência da exposição a luz do sol direta na recuperação de DNA de contato.

Segundo a literatura, a irradiação UV (por exemplo, luz solar) causa ligações timina-timina adjacentes dentro da molécula, tornando-a inutilizável para análise e impedindo a passagem da DNA polimerase durante a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (ALKETBI, 2018). No presente estudo, apesar da ausência de significância estatística é possível observar maior quantidade de DNA nas amostras dos grupos luz indireta, ou seja, protegidas da luz solar direta e seus efeitos. Sendo que, a probabilidade de se obter DNA viável com maior concentração diminui conforme o tempo de exposição a luz solar direta aumenta. Como a alta recuperação de DNA de contato observada no grupo que recebeu luz solar direta com intervalo entre deposição e coleta de 24h, em relação ao grupo com mesma incidência luminosa, porém com intervalo de 72h.

4.7. INFLUENCIA DE OUTROS FATORES AMBIENTAIS

Visando detectar possível influencia da temperatura ou umidade ambiente na persistência do DNA depositado por impressão digital, os resultados foram testados para correlação de Spermán (Figura 7) sendo que para os parâmetros analisados foi observado ausência de correlação (temperatura $R= 0,24$ e umidade $R= -0,04$).

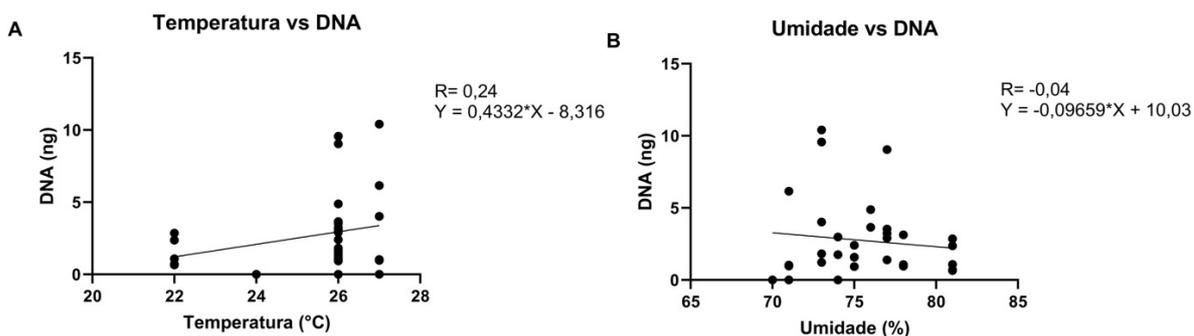


Figura 7. Teste de correlação de Sperm entre quantidade de DNA recuperado e (A) temperatura, e (B) umidade ambiente.

Segundo a literatura, fatores ambientais como temperatura e umidade são diretamente proporcionais à quantidade de DNA depositado por uma pessoa em uma superfície. Temperaturas mais altas com condições de umidade mais altas causam suor, resultando na adesão do DNA depositado na superfície (NIMBKAR; D. BHATT, 2022). Além disso, a umidade pode aumentar a transferência secundária de DNA, como observado por Goray et al. (2010) em substrato primário não absorvente, como plástico, indicou que apenas 4,2% do DNA total disponível é transportado quando amostras biológicas secas estão sendo transferidas de uma superfície para outra, enquanto cerca de 50% a 95% de uma amostra é movida quando a fonte da amostra está úmida.

Já em relação a persistência do DNA, estudos reportam que as condições ambientais de umidade e temperatura influenciam diretamente no rendimento das amostras de contato (DE ALCARAZ-FOSSOUL et al., 2013; SESSA et al., 2019). Uma amostra de DNA em um ambiente úmido é suscetível à clivagem hidrolítica e danos à base de oxidação. O alvo primário da clivagem hidrolítica é a ligação do açúcar da base, que resulta na perda da base por depurinação e quebra de todo o DNA. O aumento do calor leva a um aumento na taxa de clivagem hidrolítica. Consequentemente, isso leva à clivagem direta das fitas de DNA devido à secagem. Da mesma forma, a oxidação danifica o DNA ao oxidar as ligações de carbono levando à fragmentação (ALKETBI, 2018). No presente estudo não foi possível observar correlação entre os parâmetros, possivelmente pela minimização das variações ambientais uma vez as amostras foram acondicionadas em ambiente laboratorial, assim como pelo limitado intervalo de tempo entre a deposição e a coleta.

5. CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que é possível obter DNA a partir de impressões digitais deixadas sobre superfícies de plástico e madeira, coletadas e extraídas por métodos acessíveis como duplo swab e extração *in house* com protocolo fenol-clorofórmio. Os métodos de quantificação avaliados foram capazes de quantificar as amostras de interesse, no entanto o método *Qubit* mostrou maior especificidade e confiança em relação ao *NanoDrop*. Foi possível recuperar de 0 a 104 ng de DNA nas amostras, esse grande espectro também é observado em outros estudos, porém variam muito em suas metodologias tornando as comparações desafiadoras e as conclusões preditivas impraticáveis.

Apesar das limitações estatísticas e da ausência de correlação as médias de DNA recuperado para cada matriz analisada corroboram com a literatura obtendo maior recuperação de DNA de superfícies lisas e não porosas, como plástico, em relação a madeira quando a coleta é realizada por *duplo-swab*. Em relação a persistência do DNA até o momento da coleta, foram analisados dois intervalos, 24 e 72 horas, sendo que foi encontrada maior concentração de DNA com significância estatística em amostras coletadas da madeira, sob luz indireta e após 72h. As demais variáveis, exposição a luz solar direta, umidade e temperatura, não apresentaram efeito estatístico significativo na persistência de DNA de contato.

Em suma, o presente estudo evidenciou o desafio de entender como as condições ambientais e o intervalo entre deposição e coleta podem ou não afetar a permanência do DNA de contato em diferentes matrizes. Além de apontar as limitações metodológicas de técnicas acessíveis ao recuperar o DNA depositado. Esses resultados juntamente a outros estudos podem contribuir para análises mais profundas voltadas para a recuperação de DNA de contato e suas variáveis, bem como buscar metodologias alternativas para trabalhar com essas amostras desafiadoras, dada sua importância no contexto forense.

6. PERSPECTIVAS

A coleta e a análise do DNA de contato, especialmente quando se espera quantidades baixas de material genético, podem ser desafiadoras, mas extremamente preciosas para as investigações. O uso de DNA de contato é limitado pela dificuldade de obter não apenas DNA quantificável, mas também de qualidade suficiente para gerar um perfil completo. Portanto, é importante que o material seja amplificado e sequenciado após a sua recuperação e com base nisso buscar a otimização dos procedimentos.

Variáveis do ambiente em que a amostra se encontra até o momento da coleta, como o material da superfície, alta temperatura, umidade, exposição à luz ultravioleta e tempo, devem ser testadas com maior número amostral visando estabelecer correlação ou não com a permanência do DNA de contato. Além disso, os testes devem avaliar de maneira isolada e combinada cada variável, para determinar seus efeitos em diferentes cenários. Dessa forma, é facilitada a predição de áreas mais apropriadas para direcionar a amostragem de DNA, o impacto de fatores adicionais, bem como a metodologia que deve ser preconizada em determinada situação, ou seja, prever os níveis de deposição de DNA e recuperar mais DNA desses tipos de amostras no futuro.

REFERÊNCIAS

ALAEEDDINI, R.; WALSH, S. J.; ABBAS, A. **Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA-A review. Forensic Science International: Genetics.** [S.l: s.n.], abr. 2010

ALESSANDRINI, F. et al. Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing. **Journal of Forensic Sciences**, v. 48, n. 3, p. 2002260, 2003.

ALKETBI, S. K. The Affecting Factors of Touch DNA. **Journal of Forensic Research**, v. 09, n. 03, 2018.

ALKETBI, S. K.; GOODWIN, W. The effect of time and environmental conditions on Touch DNA. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 7, n. 1, p. 701–703, 1 dez. 2019.

BALOGH, M. K. et al. STR genotyping and mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. **Forensic Science International**, v. 137, n. 2–3, p. 188–195, 2003.

BHOELAI, B. et al. Effect of common fingerprint detection techniques on subsequent STR profiling. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 3, n. 1, dez. 2011.

BURRILL, J. et al. Exploration of cell-free DNA (cfDNA) recovery for touch deposits. **Forensic Science International: Genetics**, v. 51, n. November 2020, p. 102431, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102431>>.

BURRILL, J.; DANIEL, B.; FRASCIONE, N. A review of trace “Touch DNA” deposits: Variability factors and an exploration of cellular composition. **Forensic Science International: Genetics**, v. 39, n. May 2018, p. 8–18, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.11.019>>.

BUTLER, J. M.; COBLE, M. D.; VALLONE, P. M. STRs vs. SNPs: thoughts on the future of forensic DNA testing. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, v. 3, n. 3, p. 200–205, 12 nov. 2007.

COMTE, J. et al. Touch DNA collection – Performance of four different swabs. **Forensic Science International: Genetics**, v. 43, n. May, p. 102113, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.014>>.

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

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

DIXON, L. A. et al. Analysis of artificially degraded DNA using STRs and SNPs-results of a collaborative European (EDNAP) exercise. **Forensic Science International**, v. 164, n. 1, p. 33–44, 1 dez. 2006.

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

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

GORAY, M. et al. Secondary DNA transfer of biological substances under varying test conditions. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 2, p. 62–67, 2010.

GORAY, M.; MITCHELL, R. J.; OORSCHOT, R. A. H. van. Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions. **Legal Medicine**, v. 12, n. 3, p. 117–120, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2010.01.003>>.

HANSON, E. K.; BALLANTYNE, J. “getting blood from a stone”: Ultrasensitive forensic DNA profiling of microscopic bio-particles recovered from “touch DNA” evidence. **Methods in Molecular Biology**, v. 1039, p. 3–17, 2013.

JANSSON, L. et al. Individual shedder status and the origin of touch DNA. **Forensic Science International: Genetics**, v. 56, 1 jan. 2022.

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

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

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

OSTOJIC, L.; WURMBACH, E. Analysis of fingerprint samples, testing various conditions, for forensic DNA identification. **Science & Justice**, v. 57, n. 1, p. 35–40, jan. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135503061630096X>>.

PESARESI, M. et al. **Qualitative and quantitative analysis of DNA recovered from fingerprints**. . Ancona: [s.n.], 2003.

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

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. v. 3.

SESSA, F. et al. Touch DNA: Impact of handling time on touch deposit and evaluation of different recovery techniques: An experimental study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

TOZZO, P. et al. Touch DNA Sampling Methods: Efficacy Evaluation and Systematic Review. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 24, 2022.

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

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

VAN OORSCHOT, Roland A.H.; BALLANTYNE, K. N.; MITCHELL, R. J. **Forensic trace DNA: A review. Investigative Genetics**. [S.l: s.n.], 1 dez. 2010

VERDON, T. J.; MITCHELL, R. J.; VAN OORSCHOT, R. A. H. Swabs as DNA collection devices for sampling different biological materials from different substrates. **Journal of Forensic Sciences**, v. 59, n. 4, p. 1080–1089, 2014.

WÄHRER, J. et al. The DNA-Buster: The evaluation of an alternative DNA recovery approach. **Forensic Science International: Genetics**, v. 64, 1 maio 2023.

ANEXO A

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



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

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

Pesquisador: JULIA DEL PIERO PEREIRA

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 3

CAAE: 41628920.9.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.718.879

Apresentação do Projeto:

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

Objetivo da Pesquisa:

Segundo o pesquisador responsável os objetivos do trabalho são:

Endereço: Av. Marechal Campos 1468, prédio da direção do Centro de Ciência da Saúde, segundo andar

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.718.879

"Objetivo Primário:

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

Objetivo Secundário:

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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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

" Riscos:

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

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

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

Endereço: Av. Marechal Campos 1468, prédio da direção do Centro de Ciência da Saúde, segundo andar
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.718.879

PROTOCOLO METODOLÓGICO DESCRITO ABAIXO. DESSA FORMA, ELES FICARÃO ARMAZENADOS EM FREEZER A -8°C NO NÚCLEO DE GENÉTICA HUMANA E MOLECULAR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO APENAS DURANTE O TEMPO MÁXIMO DE EXECUÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA, QUE CONSISTE NO TEMPO DE 3 ANOS, NÃO HAVENDO ANÁLISES ADICIONAIS FUTURAS DIFERENTES DAS PREVISTAS NO PROTOCOLO DE PESQUISA DESTE PROJETO. APÓS A FINALIZAÇÃO DA PESQUISA, TODO O MATERIAL BIOLÓGICO E O SEU SUBSEQUENTE DNA EXTRAÍDO SERÃO DESCARTADOS EM RECIPIENTE PRÓPRIO PARA DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO, SEM QUALQUER TIPO DE IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA. INFORMAMOS AINDA QUE O MATERIAL BIOLÓGICO PERTENCE AO PARTICIPANTE DA PESQUISA PODERÁ, A QUALQUER TEMPO, SER RETIRADO DA PESQUISA SE O PARTICIPANTE ASSIM QUIZER, SEM PREJUÍZO OU MULTA E SEM A NECESSIDADE DE DAR EXPLICAÇÕES. NESTE CASO, AS INFORMAÇÕES E A AMOSTRA DO PARTICIPANTE SERÃO EXCLUÍDAS DO ESTUDO E DESCARTADAS, SEM QUALQUER IDENTIFICAÇÃO, EM RECIPIENTE PRÓPRIO PARA DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO.

Benefícios:

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

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

-

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

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

Folha de rosto: apresentada

Projeto detalhado: apresentado

TCLE: apresentado

Endereço: Av. Marechal Campos 1468, prédio da direção do Centro de Ciência da Saúde, segundo andar
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.718.879

Cronograma: apresentado

Orçamento: apresentado

Recomendações:

-

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

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

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VITORIA, 18 de Maio de 2021

Assinado por:

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

Endereço: Av. Marechal Campos 1468, prédio da direção do Centro de Ciência da Saúde, segundo andar
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

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



Continuação do Parecer: 4.718.879

Endereço: Av. Marechal Campos 1468, prédio da direção do Centro de Ciência da Saúde, segundo andar
Bairro: S/N **CEP:** 29.040-091
UF: ES **Município:** VITORIA
Telefone: (27)3335-7211 **E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

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

JUSTIFICATIVA

Viabilidade do uso de DNA de contato na genética forense

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

OBJETIVO(S) DE PESQUISA

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

PROCEDIMENTOS

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

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

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

Rubricas: _____ (Pesquisador) _____ (Participante)

DURAÇÃO E LOCAL DE PESQUISA

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

DESCONFORTOS E RISCOS

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

BENEFÍCIOS

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

ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

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

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

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

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

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

GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO E INDENIZAÇÃO

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

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

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

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

Pesquisador (a)	Função	Instituição	Telefone	Email
Iúri Drumond Louro	Doutor em Bioquímica e Genética Molecular e Professor	UFES (Vitória)	(27)99969-4211	iurilouro@yahoo.com
Eldamária de Vargas Wolfgramm dos Santos	Doutora em Biotecnologia e Professora	UFES (Vitória)	(27)99966-0233	eldamariavw@yahoo.com.br
Bárbara Gomes de Oliveira Bessa	Biomédica e mestranda	UFES (Vitória)	(27)99517-8684	bgobessa@gmail.com
Julia Del Piero Pereira	Bióloga e mestranda	UFES (Vitória)	(27)99742-4861	juliadelpieropereira@gmail.com

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

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

_____, ____ de _____ de 20__.

Participante / Responsável legal

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

Pesquisador responsável pela obtenção do consentimento

Rubricas: _____ (Pesquisador) _____ (Participante)