Colheita e acondicionamento de amostras biológicas para identificação genética

Autor(es): Porto, Maria João Anjos

Publicado por: Imprensa da Universidade de Coimbra

URL persistente: URI:<http://hdl.handle.net/10316.2/38502>

DOI: DOI:http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0957-7_1

Accessed : 26-Apr-2023 11:14:01

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

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 accidental 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 accidental 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 encontrava 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 inspecção 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 pretenso 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. Penteado púbico 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

efectuado 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;
- Pentes 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/evidenceguidelines_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 envío 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.