

INTRODUÇÃO

Em todos os processos de genética forense, o objetivo consiste na obtenção de um perfil genético identificativo de um ou vários intervenientes no mesmo.

Nos casos de abuso sexual, em particular, são recolhidos vestígios biológicos constituídos por sangue, sêmen, saliva, células estaminais entre outros.

Nestes vestígios biológicos são frequentemente obtidas misturas de perfis genéticos, desproporcionais, constituídas por material celular das vítimas e do(s) suposto(s) agressor(es).

A maior concentração de material genético feminino relativamente à concentração de material genético masculino pode impedir a obtenção de um perfil genético autossómico masculino ou mesmo de mistura.

O objetivo deste trabalho consiste em avaliar a importância da lise diferencial nas amostras biológicas de processos de agressão sexual, de forma a separar as células epiteliais femininas das células espermáticas masculinas e assim obter um perfil genético masculino discriminativo do indivíduo.

RESULTADOS

Na tabela 1 estão representados os resultados das concentrações ADN total e ADN masculino, obtido nas amostras selecionadas com ambos os métodos de extração. Nesta tabela estão igualmente representados os valores das proporções de ADN masculino para ADN feminino (M:F) em cada uma das extrações de ADN.

Tabela 1- resultados das concentrações ADN nas amostras selecionadas e respetivas proporções

Amostra	Lise Diferencial			Prep-Filter Express (método atual)		
	ADN TOTAL	ADN Masculino	M:F	ADN TOTAL	ADN Masculino	M:F
am1	0,1108	0,0131	1:7.458	3,50	0,35	1:9
am2	0,7565	0,3902	>1:1	15,48	1,23	1:11
am3	0,0183	0,0151	>1:1	0,79	0,05	1:14.8
am4	4,0225	4,7713	>1:1	31,99	2,79	1:10
am5	11,3922	16,5806	>1:1	20,99	25,24	1:1
am6	0,0263	0,0426	>1:1	10,6586	0,1625	1:64
am7	0,2205	0,0467	1:3.7185	32,6948	26,9442	1:205
am8	0,1786	0,1257	>1:1	0,2243	0,0723	1:2.1
am9	54,4012	59,9601	>1:1	29,3433	22,6598	1:1.294
Am10	0,8394	1,1121	>1:1	83,19	1,59	1:52

- Os resultados da quantificação revelam que na generalidade das amostras estudadas diminuiu a desproporção da concentração de ADN feminino e ADN masculino.

- Na amostra 7 aumentou a concentração de ADN feminino em relação à concentração de ADN, no método com lise diferencial comparativamente ao método atual, talvez devido heterogeneidade da amostra.

- Em 9 das 10 amostras estudadas verifica-se que a lise diferencial é eficaz na diminuição da proporção entre as concentrações de ADN masculino e feminino.

Figura 2- Perfil genético do vestígio biológico, estudado com método atual sem lise diferencial

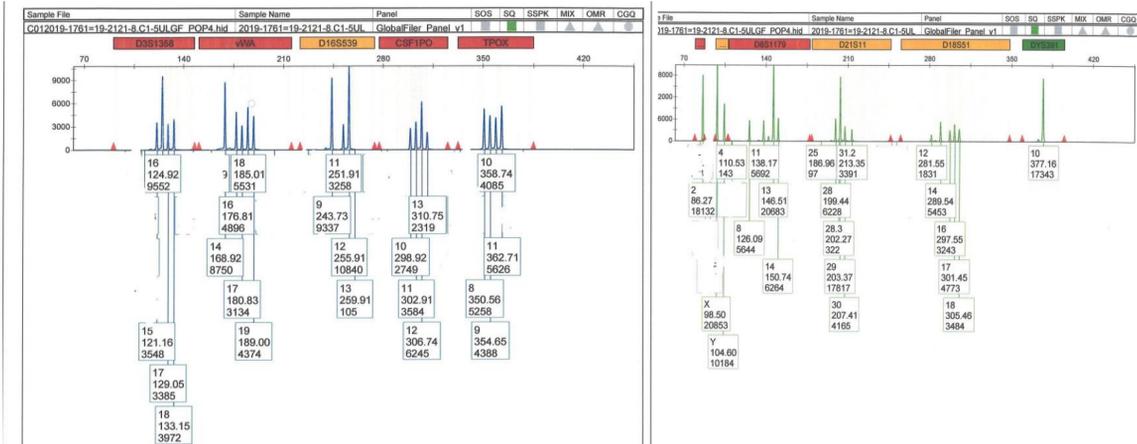
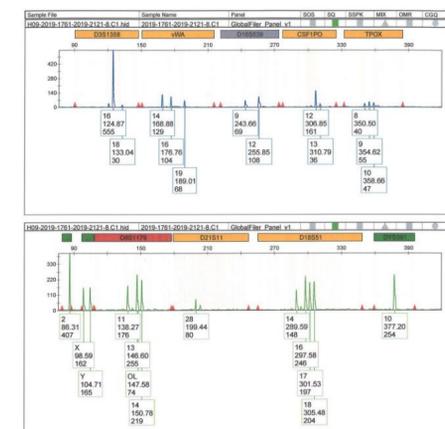


Figura 3-Perfil genético de vestígio biológico estudado com lise diferencial



- As figuras 2 e 3 representam o perfil genético referente a um vestígio biológico de um crime de agressão sexual.

- Na figura 2 está representado o perfil genético obtido com os métodos atuais. Pode ser observado um perfil genético de mistura de um indivíduo feminino (Amelogenina XX >> XY) com pelo menos um indivíduo masculino.

- Na figura 3 está representado o perfil genético do mesmo vestígio biológico. Neste perfil genético é observada uma mistura de pelo menos dois indivíduos masculinos.

- Esta metodologia permitiu evidenciar o perfil genético dos dois indivíduos masculinos contribuintes para o vestígio biológico estudado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas, com base nos resultados da quantificação previamente realizados, 10 amostras com vestígios biológicos proveniente de processos de agressão sexual.

Estas amostras, foram previamente estudadas com os métodos de extração PrepFilter Express™ (Applied Biosystems) e quantificação de ADN com o método Quantifiler™ Trio DNA Quantification Kit (Applied Biosystems).

Foi efetuado um novo corte para extração com o método Samplettype-i-sep® DL (Biotype) cujo procedimento está representado na Fig. 1.

O ADN extraído foi quantificado com o método Quantifiler™ Trio DNA Quantification Kit (Applied Biosystems), num equipamento ABI Prism 7500.

A análise dos marcadores genéticos foi efetuada com o kit GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific) num equipamento ABI Prism 3500 (Applied Biosystems)

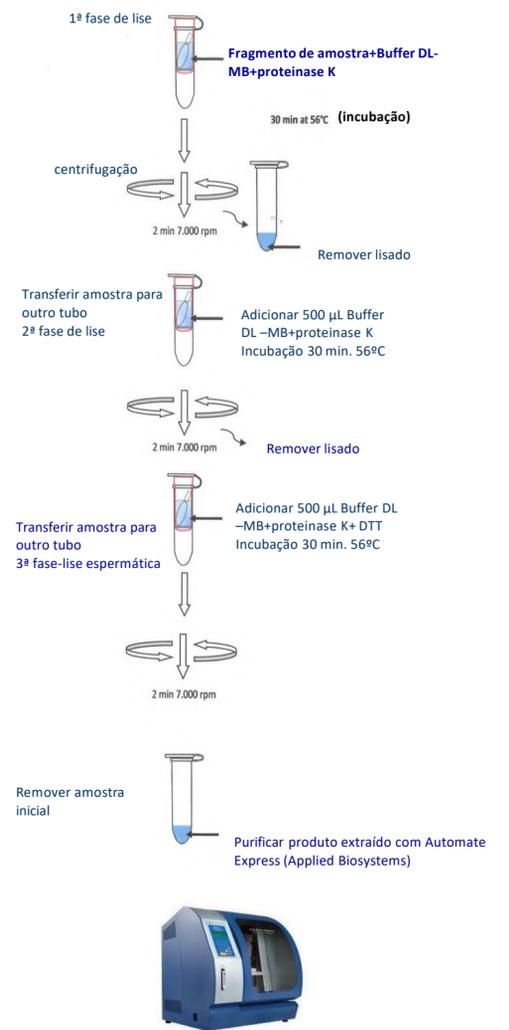


Fig. 1-procedimento para extração de amostras biológicas para separação da fração epitelial feminina da fração espermática masculina com o método Samplettype-i-sep® DL (Biotype)

CONCLUSÕES

A análise dos resultados revelou que este método pode constituir uma mais valia importante na resolução dos casos de agressão sexual.

Assim, um passo importante para a abordagem dos processos de agressão sexual, pode consistir na aplicação de métodos de separação das células espermáticas masculinas das células epiteliais femininas designado por lise diferencial, nomeadamente o método Samplettype-i-sep® DL.

Bibliografia

- [1] V.Bogas, A.M.Bento, A. Serra, P.Brito, V. Lopes, L.Sampaio, N. Gouveia, F.Cunha, F. Balsa, M. São-Bento, M.J.Porto, Validation of Samplettype I-Sep DL for differential extraction and purification with prepfilter express in the automate express DNA extraction system, Forensic Science International: Genetics Supplements Series 6 (2017) e 353-e354
- [2]-Gerry Alderson, Hanna Gurevith, Tania Casimiro, Barb Reid, Jonathan Millman, Inferring the presence of spermatozoa in forensic samples based on male DNA fractionation following differential extraction, Forensic Science International: Genetics 36 (2018) 225-232
- [3]- Samplettype I-Sep® protocol (Biotype) (2017); [4] Quantifiler™ HP and Trio DNA: Quantification Kits (Applied Biosystems) [5] GlobalFiler™ PCR Amplification kit User Guide (Applied Biosystems)

