



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

EVELYN LINS DOS SANTOS

QUANTIFICAÇÃO DE DNA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES EM
DIFERENTES SUPERFÍCIES

Maceió

2022

EVELYN LINS DOS SANTOS

**QUANTIFICAÇÃO DE DNA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES EM
DIFERENTES SUPERFÍCIES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Dalmo Almeida de Azevedo

Maceió

2022

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S237q Santos, Evelyn Lins dos.
Quantificação de DNA de impressões digitais latentes em diferentes superfícies / Evelyn Lins dos Santos. – 2022.
34 f. : il. color.

Orientador: Dalmo Almeida de Azevedo.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas: Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 31-34.

1. Ciência forense. 2. DNA. 3. Impressões digitais. 4. PCR em tempo real.
5. Superfície. 6. Genética forense. I. Título.

CDU: 575: 343.98

Dedico este trabalho à minha tia, Maura Lins. Se não fosse por ela, eu não estaria aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a mim mesma, que sempre escolhi a educação como melhor caminho a ser seguido e que me dediquei inteiramente a este curso, que é minha paixão.

Agradeço à minha tia, Maura Lins, por todo o apoio e suporte ao longo de 20 anos da minha vida. Sem ela, eu não teria conseguido.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dalmo Azevedo, que é um excelente pesquisador e professor competente e responsável, e que realmente me orientou da melhor forma possível. Obrigada por sua paciência, compreensão, por todo o conhecimento compartilhado, por ter mostrado os melhores caminhos e por ser fonte de inspiração para mim, como profissional e como pessoa.

Agradeço às minhas amigas e aos meus amigos que sempre me incentivaram e me impulsionaram a crescer e nunca desistir dos meus sonhos.

Agradeço às minhas amigas Shakira, Andressa e Camilla que me estiveram ao meu lado desde o início da graduação e que foram fonte de compartilhamento de conhecimento.

Agradeço ao meu amor, que sempre está me incentivando a crescer por meio da educação e dos estudos e que sempre apoia minha busca pelos meus sonhos.

Agradeço também à banca orientadora, por aceitar avaliar meu trabalho e por compartilhar conhecimento.

"Todo contato deixa uma marca". - Edmond Locard.

RESUMO

Em ciências forenses, o estudo do DNA proveniente de vestígios biológicos encontrados em locais de crime é crucial na elucidação de casos criminais e na identificação humana. Em um local de crime podem ser encontrados os mais diversos tipos de vestígios biológicos e, dentre os mais conhecidos, estão as impressões digitais. Todos os dias nossas células se desprendem do corpo e ficam nas superfícies onde temos contato e, a depender do tipo de superfície em que tocamos e de fatores individuais, deixamos mais ou menos DNA, ou seja, a quantidade de DNA deixada em diferentes substratos varia. É importante que o material genético depositado em amostras forenses esteja em boas condições de integridade que permita sua detecção e o posterior estudo. Além disso, é necessário que haja uma quantidade suficiente deste material para que seja possível quantificá-lo e usá-lo na identificação de pessoas e obtenção de respostas acerca de um crime. Uma ferramenta importante utilizada em muitas pesquisas das mais diversas áreas é a técnica de PCR em Tempo Real (qPCR). Trata-se de uma técnica altamente sensível e rápida na qual é possível detectar quantidades mínimas do material que se deseja amplificar, além de ser permitir acompanhar tal amplificação, sem que seja necessário um pós-processamento do material amplificado, como é feito na PCR convencional. Neste estudo, buscou-se quantificar, através da PCR em Tempo Real, o DNA de impressões digitais latentes depositadas em diferentes substratos e avaliar em quais destes foi deixado maior ou menor volume de DNA. Foram testadas superfícies de plástico, vidro e metal. As impressões digitais depositadas por doadores nos diferentes substratos foram demarcadas e coletadas com *swabs* umedecidos e, posteriormente, foi extraído o DNA das amostras recolhidas. Após a extração e purificação, as amostras de DNA foram amplificadas por qPCR e, a partir deste processo, foi analisada a quantidade de DNA amplificado, avaliando-se os valores apresentados pelo software e comparando-se o montante de DNA em cada tipo de superfície. Foi feita a análise estatística descritiva para estimativa da média, variância e desvio padrão dos dados obtidos. Para a comparação das concentrações médias de DNA depositados nos diferentes substratos, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA). Este trabalho demonstrou que, dentre as superfícies estudadas (vidro, plástico e metal), a que apresentou a maior quantidade de DNA deixado por impressões digitais foi a superfícies de metal, com média de 0,9453 ng/μl, seguida do plástico, com média de 0,1362 ng/μl e do vidro, com média 0,0545 ng/μl. Não houve diferença significativa entre as quantidades médias de DNA recuperado das superfícies estudadas neste trabalho. Em Genética Forense, é relevante que seja determinada a quantidade média de DNA depositada em cada tipo de substrato porque, a partir destes dados, é possível facilitar um trabalho investigativo e realizar a identificação de indivíduos. Ademais, a técnica descrita revela-se essencial para esse tipo de estudo e permite que passos importantes na área forense sejam tomados com segurança, rapidez e praticidade.

Palavras-chave: genética forense, impressões digitais, DNA de toque, qPCR, quantificação.

ABSTRACT

In forensic sciences, the study of DNA from biological traces found at crime scenes is crucial in the elucidation of criminal cases and human identification. The most diverse types of biological traces can be found in a crime scene and, among the best known, are fingerprints. Every day our cells detach from the body and remain on surfaces where we have contact and, depending on the type of surface we touch and individual factors, we leave more or less DNA, that is, the amount of DNA left on different substrates varies. It is important that the genetic material deposited in forensic samples is in good conditions of integrity that allows its detection and subsequent study. In addition, there needs to be a sufficient amount of this material to be able to quantify and use it in identifying people and obtaining answers about a crime. An important tool used in many researches in the most diverse areas is the Real Time PCR (qPCR) technique. This is a highly sensitive and fast technique in which it is possible to detect minimal amounts of the material to be amplified, in addition to being able to monitor such amplification, without the need for post-processing of the amplified material, as is done in conventional PCR. In this study, we sought to quantify, through Real Time PCR, the DNA of latent fingerprints deposited on different substrates and to evaluate in which of these a larger or smaller volume of DNA was left. Plastic, glass and metal surfaces were tested. Fingerprints deposited by donors on different substrates were demarcated and collected with moistened swabs and, subsequently, DNA was extracted from the collected samples. After extraction and purification, the DNA samples were amplified by qPCR and, from this process, the amount of amplified DNA was analyzed, evaluating the values presented by the software and comparing the amount of DNA on each type of surface. Descriptive statistical analysis was performed to estimate the mean, variance and standard deviation of the data obtained. To compare the average concentrations of DNA deposited on different substrates, Analysis of Variance (ANOVA) was performed. This work demonstrated that, among the surfaces studied (glass, plastic and metal), the one with the highest amount of DNA left by fingerprints was metal surfaces, with an average of 0.9453 ng/ μ l, followed by plastic, with average of 0.1362 ng/ μ l and glass, with an average of 0.0545 ng/ μ l. There was no significant difference between the average amounts of DNA recovered from the surfaces studied in this work. In Forensic Genetics, it is relevant to determine the average amount of DNA deposited in each type of substrate because, based on these data, it is possible to facilitate investigative work and carry out the identification of individuals. Furthermore, the described technique proves to be essential for this type of study and allows important steps in the forensic area to be taken safely, quickly and practically.

Keywords: forensic genetics, fingerprints, touch DNA, qPCR, quantification

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 A Genética Forense e sua importância.....	11
2.2 DNA de toque ou “touch DNA”	12
2.3 PCR e Quantificação por PCR em Tempo Real (RT-qPCR)	17
2.4 A PCR em Tempo Real nos laboratórios forenses	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Seleção das superfícies.....	24
4.2 Deposição das impressões digitais nas superfícies selecionadas	24
4.3 Coleta das impressões digitais.....	24
4.4 Extração e purificação do DNA das impressões digitais coletadas	25
4.5 Quantificação do DNA por PCR em Tempo Real.....	26
4.6 Análise estatística	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

Diferentes tipos de provas biológicas recolhidas no local de um crime podem ser utilizados para associar ou excluir um indivíduo do envolvimento com um crime. Em particular, a transferência direta de DNA de um indivíduo para outro indivíduo ou para um objeto pode ser utilizada para ligar um suspeito a uma cena de crime (BUTLER, 2011).

Frequentemente desprendemos células de nossas mãos conforme tocamos nos objetos ao longo dia. Na pele, os queratinócitos se condensam na camada granular da epiderme e subsequentemente perdem seus núcleos à medida que se movem pelas camadas córneas (KITA *et al.*, 2008). Sabendo disto, busca-se, então, em uma investigação, obter e recuperar, dentre outros vestígios, marcas de impressões digitais deixadas em um local de crime a partir de objetos que foram manipulados por um indivíduo, suspeito ou vítima.

Devido às técnicas de laboratório aprimoradas, superfícies e itens tocados são cada vez mais empregados como fontes de evidência de DNA forense (JANSSON *et al.*, 2021). A capacidade de gerar perfis de DNA de itens tocados trouxe grande dependência do DNA de toque em investigações criminais hoje (TAN, 2019).

Hoje em dia, a análise de DNA e a comparação de perfis de DNA é um elemento chave da ciência forense (MAPES *et al.*, 2016). Pesquisas mostraram que quantidades variáveis de DNA podem ser recuperadas das mãos de indivíduos e perfis completos foram produzidos a partir de impressões digitais depositadas numa vasta gama de substratos (QUINONES *et al.*, 2012).

Como as impressões digitais geralmente tendem a apresentar poucas células para análise, conseqüentemente, a quantidade de DNA recuperada também será limitada. No entanto, a importância de obter perfis de DNA a partir de evidências de DNA de rastreamento ou toque está aumentando, pois, o DNA é considerado o padrão-ouro em evidências forenses, e a evidência de DNA de toque pode ser tudo o que é coletado de um crime (MARTIN *et al.*, 2018). E isso só possível hoje graças a técnica da reação em cadeia da polimerase, a conhecida PCR.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um processo enzimático pelo qual uma região específica do DNA é replicada repetidamente para produzir vários milhões de cópias de uma

determinada sequência (TABERLET *et al.*, 1996). Hoje, a técnica de PCR inevitavelmente faz parte do fluxo de trabalho de outras técnicas e, provavelmente, de todos os laboratórios de biologia molecular. Seja direta ou indiretamente, a PCR faz parte da vida de muitos indivíduos em todo o globo e têm aplicações diversas, tais, como: diagnóstico, genotipagem, detecção de patógenos e, previsivelmente, o uso na área forense (KUBISTA *et al.*, 2006).

Como geralmente as amostras coletadas num local de crime apresentam-se em pouca quantidade ou degradadas, a PCR vem como alternativa indispensável para se obter maiores quantidades de DNA destas amostras e permitirá uma análise de melhor qualidade.

No entanto, apesar de dispor de muitas aplicações e vantagens, a PCR convencional apresenta algumas limitações e, dentre estas, estão: necessidade de pós-processamento do produto amplificado e não possibilidade de quantificação deste. Como alternativa disponível para a quantificação de DNA através da PCR, em 1992, foi desenvolvida por Higuchi *et al.* (1992) a PCR em tempo real (qPCR) (HIGUCHI *et al.*, 1992).

Na PCR em tempo real, são operados os mesmos passos da PCR convencional, além de serem utilizados os mesmos componentes (DNA molde, dNTPs, primers, TaqPolimerase, Mg⁺ e tampão). A diferença está no fato de que, na qPCR, além dos reagentes comuns a ambas, são adicionados também à reação agentes intercalantes do DNA (fluoróforos ou sondas de hidrólise) que permitem o monitoramento em tempo real da amplificação que está ocorrendo, através da detecção da fluorescência gerada, e por meio de um software (KUBISTA *et al.*, 2006).

Nos laboratórios forenses a técnica de PCR, bem como sua variação, a qPCR, é ferramenta indispensável para os trabalhos de rotina que lidam com amostras coletadas em locais de crimes. É necessário, quando de se trabalha com poucas quantidades de DNA, que se saiba a quantidade média deste material, para que, desta forma, possa se decidir acerca dos demais passos a serem tomados numa linha de processamento. Isso economiza recursos e reduz o tempo de trabalho.

Vê-se, assim, o quão necessário são estudos que ofereçam dados sobre a quantidade média de material genético depositado nos vários tipos de superfícies onde é possível encontrar impressões digitais. Pois, sabendo em qual tipo de substrato será encontrado mais DNA, o investigador ou pesquisador facilitará seu trabalho priorizando a coleta de impressões naquela superfície em que se sabe que há maior volume de material genético.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Genética Forense e sua importância

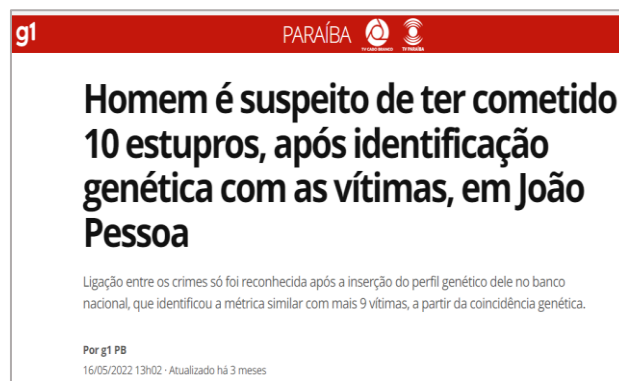
Ao longo dos últimos 35 anos, o desenvolvimento e evolução da Genética Forense e das técnicas de biologia molecular, a exemplo a PCR, vêm revolucionando fortemente as ciências forenses. Embora seja uma disciplina relativamente nova, teve um grande impacto no sistema de justiça criminal e na sociedade como um todo (GOODWIN, 2011).

São incontáveis os casos que já foram solucionados com a ajuda da Genética Forense em vários países. Auxiliar da justiça, este promissor ramo da genética tem sido considerado, muitas vezes, decisivo na elucidação de casos criminais e identificação de suspeitos e de vítimas de delitos (como homicídios, crimes sexuais, crimes contra o patrimônio etc.), através da análise de DNA de vestígios biológicos recuperados em cenas de crimes (GOODWIN, 2011).

Na elucidação de um crime, o papel da genética forense é realizar a comparação do DNA encontrado em locais de crimes com o DNA de suspeitos e vítimas, para que, deste modo, possa subsidiar a justiça no processo investigativo (GOODWIN, 2011).

Ainda, além de casos criminais, a análise do DNA forense também engloba os testes de paternidade, identificação de restos mortais e de pessoas desaparecidas, evidenciando, assim, seu importante papel social como ciência essencial no auxílio à justiça na busca da diminuição da criminalidade e da sensação de impunidade. As **figuras 1 e 2** trazem dois dos inúmeros casos que já foram elucidados por meio da análise do DNA (GOODWIN, 2011).

Figura 1. Manchete da matéria sobre o caso da identificação de suspeito do crime de estupro identificação por



Fonte: G1 (Rede Globo). Matéria disponível em: <https://g1.globo.com/pb/paraiba/noticia/2022/05/16/homem-e-suspeito-de-ter-cometido-10-estupros-apos-identificacao-genetica-do-ipc-em-joao-pessoa.ghtml>

Figura 2. Manchete de matéria sobre a identificação pelo DNA do corpo de um pescador 10 anos após seu desaparecimento, no estado do Ceará – BR.

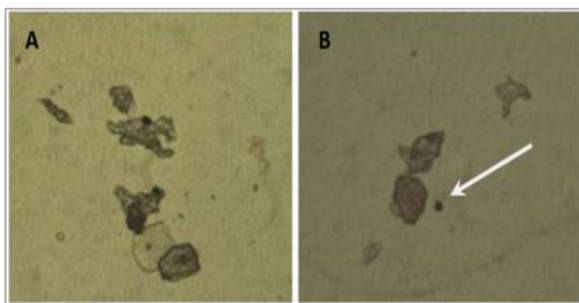


Fonte: G1 (Rede Globo). Disponível em: <https://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2022/05/31/corpo-de-pescador-e-identificado-em-sc-10-anos-depois-de-desaparecimento-no-ceara.ghtml>

2.2 DNA de toque ou “touch DNA”

“Todo contato deixa uma marca”, Edmond Locard (1877-1966), um dos pioneiros das Ciências Forenses e notável criminologista francês. Desta ideia simples, surgiu um dos princípios mais importantes da Criminalística, o Princípio da Troca de Locard. Todos os dias, quando tocamos nas superfícies, deixamos nossas “marcas”, através das nossas impressões papilares (**Figura 4a**), pois conforme temos contato com os objetos, as células que se desprendem da nossa pele (representação **Figura 3**), pelo processo natural de descamação, vão ficando depositadas ali (PULIATTI *et al.*, 2021). O DNA está presente na maioria das células do nosso corpo, o que é único em cada indivíduo, e deixamos um rastro dele por onde passamos (BUKYA *et al.*, 2021).

Figura 3. Imagens de células depositadas através de impressões digitais. Ambas a células da fotografia são células nucleadas.



Fonte: OLEIWI *et al.*, 2015.

Nos últimos anos, cientistas forenses mostraram que o perfil genético de um indivíduo pode ser recuperado de objetos tocados (KYTA *et al.*, 2008). Manusear objetos, como armas ou outros itens associados a um crime, tocar superfícies ou usar roupas, pode representar contato suficiente para transferir um pequeno número de células portadoras de DNA ou traços de DNA, que podem ser analisados com sucesso (WICKENHEISER, 2002). É o denominado DNA de toque ou, do inglês, “touch DNA”, ou, ainda, DNA de transferência (tDNA), que pode ser recuperado das superfícies onde estão depositadas e nos fornecer perfis genéticos. (QUINONES, 2012).

“Touch DNA” refere-se ao DNA que é deixado para trás pelas células da pele quando uma pessoa toca ou entra em contato com um item (ADITYA *et al.*, 2011). Uma das maneiras pelas quais as células humanas e, portanto, o DNA podem ser depositados em um objeto envolvido em um crime é por meio da transferência primária (MANOLI, 2016). A transferência primária de DNA pode ocorrer após o contato direto do objeto com a pele e/ou fluidos biológicos de um indivíduo ou através da deposição direta de um fluido biológico no objeto sem que ele seja tocado (MANOLI, 2016). A literatura supõe que o DNA de toque pode ser proveniente de vários tipos celulares, dentre os quais estão: queratinócitos (via descamação), células epiteliais nucleadas advinda de outras partes do corpo e de fluidos em geral (por transferência) ou células endógenas livres (por exemplo, do suor, como ilustrado na **Figura 4b**) (BURRIL *et al.*, 2019).

Figura 4a. Papilas dérmicas digitais.



Figura 4b. Representação do processo de sudorese.

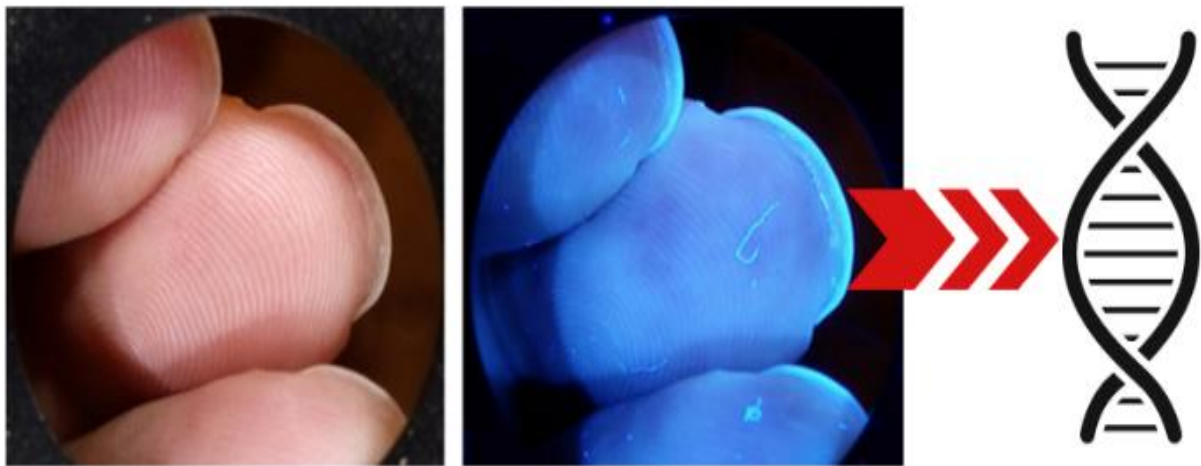


Fonte: ForenScope, 2022.

O DNA de toque é um dos tipos de amostras mais recorrentes enviados para perfis de DNA, pois são comumente encontradas em locais de crime. Vários autores já demonstraram que mesmo um único contato da pele com uma superfície pode resultar em uma impressão digital latente e fornecer células que contenham moléculas de DNA suficiente para uma análise molecular (touch DNA) (RESENDE *et al.* 2016).

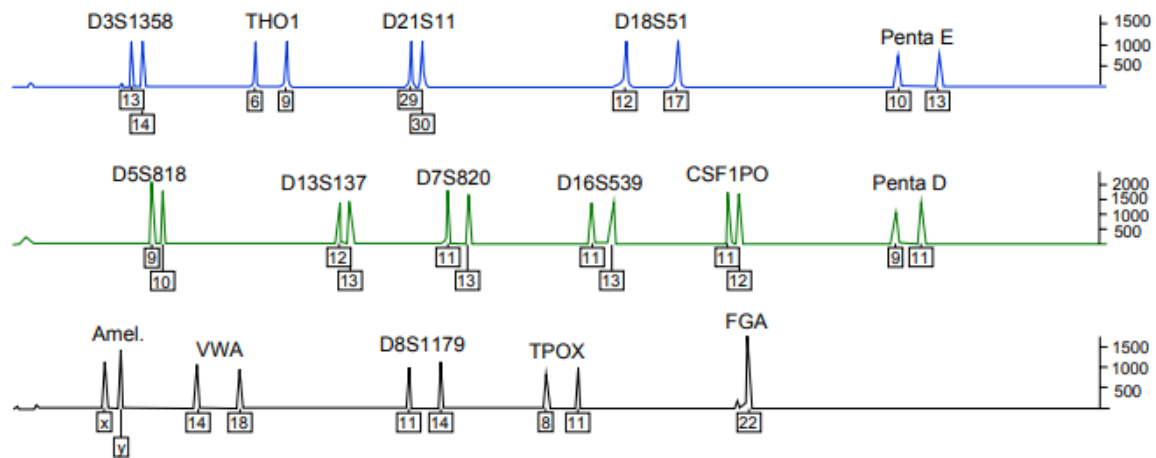
Um grande desafio na genética forense é obter perfis reprodutíveis de STR a partir de amostras que contenham quantidades mínimas de DNA (ROEDER *et al.*, 2009). E como sabemos, o uso de perfis genéticos no curso de uma investigação de crime tornou-se uma ferramenta indispensável e que, ao longo dos anos e com o desenvolvimento de técnicas cada vez mais sensíveis, vem permitindo que até as evidências mais delicadas, como as impressões digitais, sejam passíveis de genotipagem (representação na **Figura 6**) (QUINONES, 2012). A capacidade de gerar perfis de DNA de itens tocados trouxe grande dependência do DNA de toque em investigações criminais hoje (TAN, 2019). Os perfis genéticos (ver exemplo na **Figura 7**) são gerados a partir da análise de sequências de DNA repetitivo. Os mais conhecidos são os STRs (Short Tandem Repeats), que são marcadores moleculares presentes em regiões não-codificantes espalhadas ao longo da molécula de DNA (aproximadamente a cada 10.000 nucleotídeos) e que são capazes de individualizar uma pessoa (JIANG, *et al.*, 2020).

Figura 6. Imagens de impressões papilares.



Fonte: Forenscope, 2022.

Figura 07. Exemplo de perfil genético gerado a partir da análise de STRs.



Fonte: COQUOZ, 2015.

Atualmente os STRs são os principais e mais poderosos marcadores usados para geração de perfil genético, pois são altamente polimórficos e são capazes de produzir ensaios multiplex de até 15 loci, o que aumenta muito o seu poder de discriminação e minimiza o consumo de amostras e reagentes, pois, deste modo, muitas reações podem ser feitas em apenas um tubo. Além disso, seu pequeno tamanho (tipicamente de 2 a 6 pbs) os torna passíveis de análise de amostras de DNA degradado, o que é bastante interessante para as ciências forenses, que muitas vezes detém de amostras com baixíssimas quantidades de DNA ou até mesmo de uma quantidade razoável, porém com baixo grau de integridade (BUDOWLE *et al.*, 2009). E já havia sido relatado em 1997, por Van Oorschot e Jones, pioneiros nos trabalhos com impressões digitais, que perfis de STR poderiam ser obtidos a partir de células depositadas em superfícies e coletadas com swabs (OORSCHOT, 1997).

Num local de crime, são vários os tipos de vestígios biológicos que podem ser encontrados e coletados para posterior estudo nos laboratórios forenses, tais como sangue, sêmen, fios de cabelo, pelos, fluidos corporais e as tão populares impressões digitais. Após sua análise, estes vestígios podem servir de base para vincular um indivíduo a uma prática delituosa, ou mesmo excluí-lo de tal conduta (BUTLER, 2011).

As impressões digitais são vestígios que, em geral, apresentam poucas células para análise, e, por conseguinte, tendem a deixar uma quantidade muito limitada de material genético. Na literatura, essas amostras com baixas quantidades de DNA muitas vezes são denominadas de LCN, do inglês, *Low Copy Number*, ou baixo número de cópias. O perfil de DNA de baixo número de cópias (LCN) é uma técnica sensível o suficiente para analisar apenas algumas células (GILL, 2001).

A tipagem de baixo número de cópias (LCN), particularmente para a tipagem de repetição curta em tandem (STR) atual, refere-se à análise de qualquer amostra que contenha menos de 200 pg de DNA molde (BUDOWLE *et al.*, 2009). Mas, apesar de oferecer pouco material para análise e da quantidade muito baixa de DNA, muitos estudos já comprovaram que é possível sim, muitas, vezes, obter um perfil genético a partir deste tipo de evidência. Para facilitar a obtenção de um perfil genético a partir de pouquíssimas quantidades de DNA, técnicas já existentes com uma grande sensibilidade, como a PCR, foram otimizadas, por exemplo, pelo aumento do número de ciclos (LOWE *et al.*, 2002).

Um outro ponto a ser observado é o fato de existirem alguns fatores que influenciam na propensão que cada pessoa tem de depositar mais ou menos células nas superfícies em que tocam. É o que os cientistas denominam de “*shedder status*”, do inglês, “derramador”. O status *shedder* descreve a capacidade de uma pessoa de depositar DNA em um objeto tocado (SCHWENDER *et al.*, 2021)

Alguns dos fatores mencionados acima são: idade, sexo, atividades realizadas antes da amostragem, tempo de toque, pressão, lavagem prévia das mãos, se a pessoa é destra ou canhota, uso de luvas, condições da pele, se a pessoa passou as mãos em outras partes do corpo etc. (SCHWENDER *et al.*, 2021). Além destes, estudos demonstram que as características do próprio objeto bem como sua natureza também podem influenciar na quantidade de DNA que é depositada por uma pessoa (DALY *et al.*, 2010).

Os primeiros trabalhos acerca desta terminologia começaram a ser publicados a partir de meados de 2002, merecendo destaque o artigo publicado por Lowe *et al.* (2002) sobre a propensão de indivíduos para depositar DNA e a transferência secundária de DNA para superfícies inertes (LOWE *et al.*, 2002).

Neste trabalho foi feita uma espécie de categorização dos doadores das impressões em “bom derramador” e “mau derramador”. Eles mostraram que há uma diferença entre os indivíduos em sua tendência de depositar DNA em um item quando tocado (LOWE *et al.*, 2002). No entanto, ainda não está clara a melhor forma de categorizar um indivíduo em uma classe de *shedder*, ou como alocar uma pontuação de *shedder* em uma escala móvel (GORAY; OORSCHOT, 2021).

Apesar disso, é inegável a importância das impressões digitais num processo investigativo. Muitas vezes, a impressão digital pode ser o único vestígio deixado num local de crime. Além disso, nos dias atuais, trabalhar com poucas quantidades de material genético é um problema que pode ser superado por meio da técnica da PCR, que pode copiar milhões de vezes uma pequena amostra coletada numa cena de crime. Mais conhecimento sobre os mecanismos por trás do status de derramamento de DNA é de fato altamente desejável para a disciplina forense (JANSSON *et al.*, 2021).

2.3 PCR e Quantificação por PCR em Tempo Real (RT-qPCR)

“Essa técnica simples permitiria que eu reproduzisse quantas cópias eu quisesse de qualquer sequência de DNA que eu escolhesse, e qualquer pessoa da face da Terra que trabalhasse com DNA iria querer utilizá-la”, Kary Mullis, em seu livro autobiográfico intitulado *Dancing Naked in the Mind Field*, lançado em 1998. Kary Banks Mullis (1944-2019), foi o inventor da técnica de biologia molecular mais difundida no mundo e que revolucionou a genética a tal ponto que passou a ser utilizada como procedimento de rotina em todos os laboratórios de biologia molecular. Por este feito, ele recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1993.

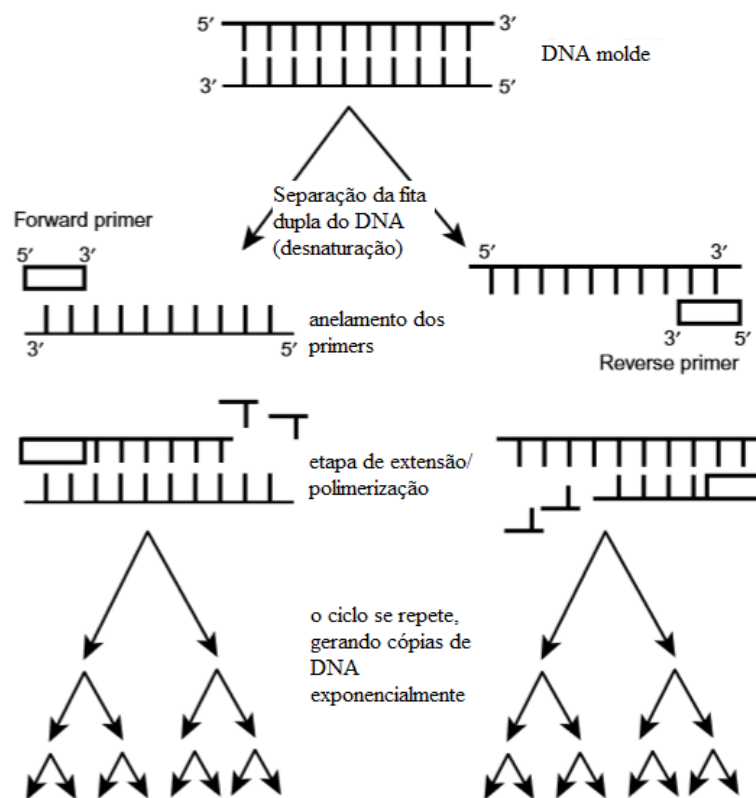
A reação em cadeia da polimerase (PCR) tornou-se uma técnica laboratorial padrão (MULLIS, 1990). Hoje, e desde a sua invenção, a PCR faz parte da vida de milhões de pessoas em todo o globo, direta ou indiretamente. Por PCR, essencialmente, qualquer sequência de ácido nucleico presente em uma amostra complexa pode ser amplificada em um processo cíclico para gerar um grande número de cópias idênticas que podem ser facilmente analisadas (KUBISTA *et al.*, 2006).

São vastas as aplicações possíveis da PCR, dentre as quais estão: genotipagem, detecção/identificação de organismos, diagnósticos e uso forense (INNIS *et al.*, 2012). Ademais,

esta técnica é parte do fluxo de trabalho de outras técnicas como sequenciamento, clonagem e a PCR em Tempo Real (qPCR), que é uma variação da técnica de PCR convencional.

Basicamente, a reação em cadeia da polimerase consiste na amplificação (multiplicação) totalmente *in vitro* de fragmentos de material genético de interesse. O processo é baseado na variação de temperatura ao longo de dezenas de ciclos que se repetem de 28 a 32 vezes e que apresentam 3 etapas principais (ver **Figura 8**): desnaturação do DNA (as pontes de hidrogênio que ligam as bases nitrogenadas umas às outras são rompidas e, conseqüentemente, há a separação da fita dupla); anelamento/hibridização dos primers (os primers se acoplam à extremidade daquele fragmento específico que se quer amplificar, atuando como iniciadores); e extensão/polimerização do DNA (síntese de uma nova fita dupla de DNA a partir de uma fita molde realizada pela enzima TaqPolimerase) (GOODWIN, 2011).

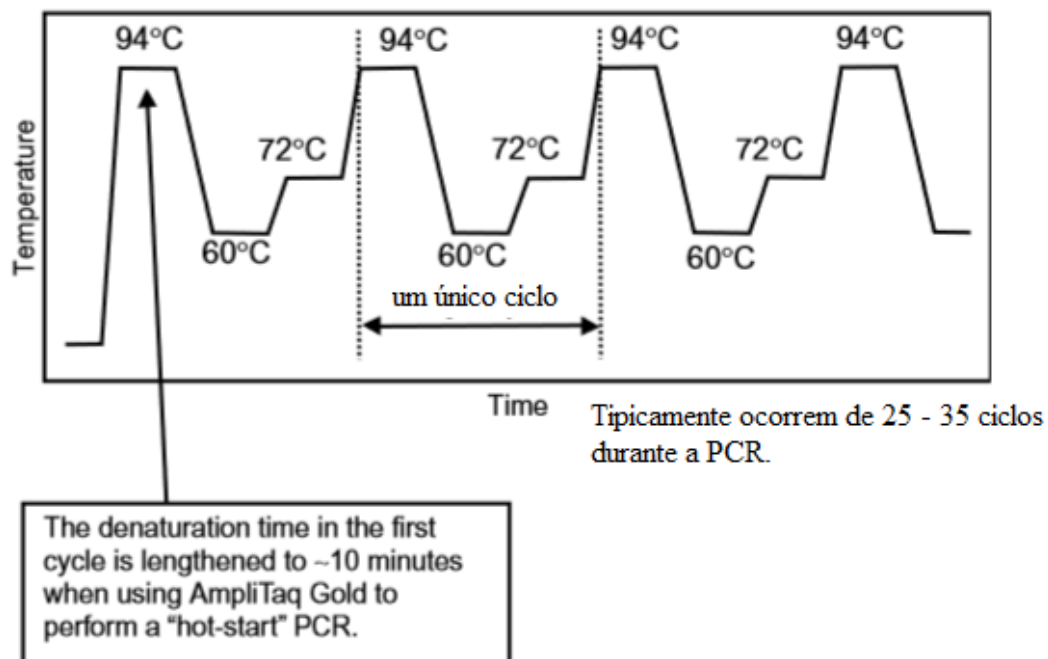
Figura 8. Ciclos da PCR.



Fonte: Adaptada de: BUTLER, 2011.

Cada uma das três etapas possui uma temperatura específica e ideal para que aquele processo ocorra (ver **Figura 9**). A desnaturação ocorre a 94°C; o anelamento ocorre a 50 - 60°C; e a extensão ocorre a 72°C. A enzima que catalisa a reação de PCR, a TaqPolimerase, é uma enzima termoestável, extraída de bactérias termófilas que vivem em fontes termais e que são toleráveis a variações de temperatura. Além do DNA molde e da DNA polimerase mencionada acima, também são adicionados à reação os dNTPs (desoxirribonucleotídeos fosfatados que vão sendo incorporados à nova fita pela polimerase), Mg⁺ (que atua como cofator da TaqPolimerase), os primers (que são os iniciadores da polimerização pela DNA polimerase), e tampão (para que a reação tenha condições ideais de pH e salinidade para ocorrer) (GOODWIN, 2011).

Figura 9. Variação da temperatura ao longo da termociclagem.

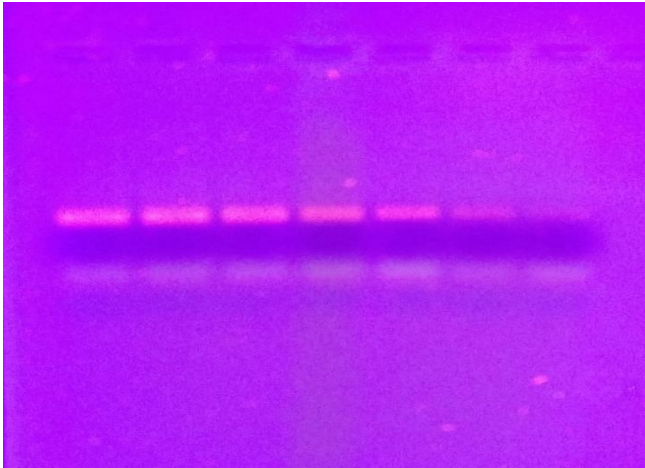


Fonte: Adaptada de: BUTLER, 2011.

No entanto, apesar da imensa gama de aplicações que a PCR convencional possui e da facilidade com que é operado o procedimento, existem algumas limitações que devem ser levadas em consideração. Em primeiro lugar, é necessário fazer um pós-processamento para se visualizar e analisar o alvo amplificado, geralmente por meio de eletroforese em gel, de agarose (**Figura 10**),

poliacrilamida, ou capilar. Isto, por conseguinte, também limita a sensibilidade e a resolução da análise do resultado. Em segundo lugar, a PCR convencional é empregada principalmente para a análise qualitativa do produto amplificado, uma vez que a análise quantitativa não é muito precisa.

Figura 10. Gel de agarose com bandas de DNA amplificado por PCR.



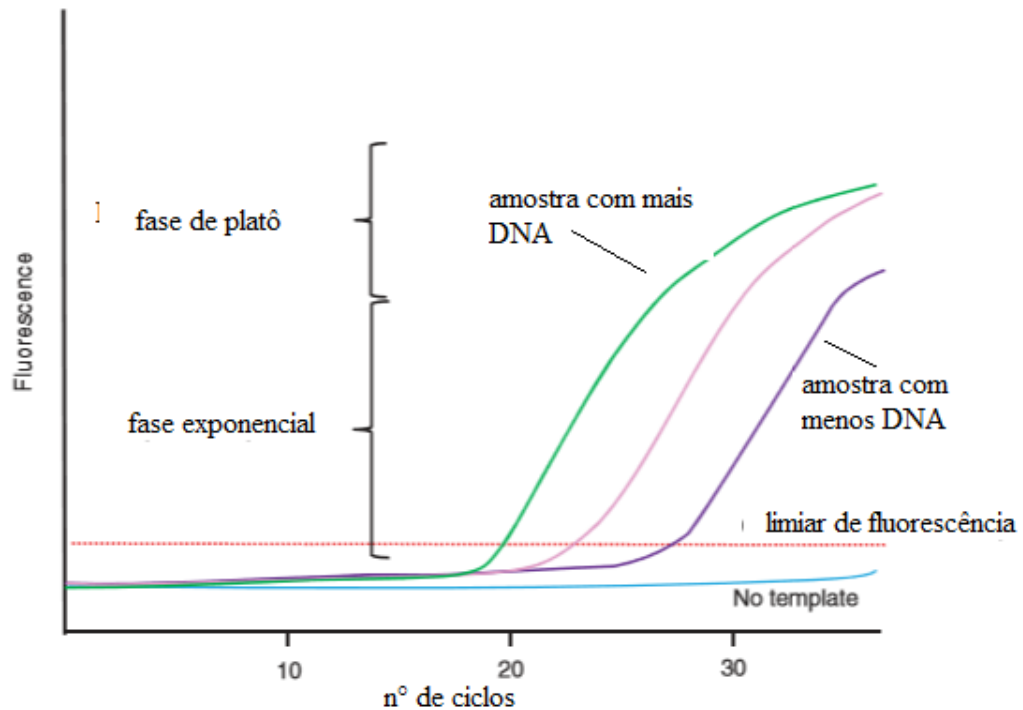
Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Visando uma análise quantitativa mais precisa, já que a PCR original é limitada quanto a esta possibilidade, em 1992 foi desenvolvida a PCR em Tempo real por Higuchi *et al.* (1992).

A PCR em Tempo Real, qPCR (Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction), é uma variação, um refinamento da PCR convencional, que utiliza os mesmos princípios, mecânica e etapas desta, com a diferença de que, neste caso, são adicionados à reação agentes intercalantes de DNA, ou sondas marcadas com fluoróforos, que, quando excitados, emitem sua fluorescência proporcionalmente à quantidade de produto que está sendo gerado e ao número de ciclos de amplificação que ocorrem, e esta quantidade do produto amplificado é monitorada durante o curso da reação (KUBISTA *et al.*, 2006). A cinética de acumulação de fluorescência durante a termociclagem está diretamente relacionada ao número inicial de cópias de DNA (HIGUCHI *et al.*, 1993).

Disto, pode-se concluir que, quanto menor for o número de moléculas na amostra, mais ciclos serão necessários para que a fluorescência seja detectada e, quanto maior, menor será o número de ciclos (HIGUCHI *et al.*, 1993). Ver **Figura 11**.

Figura 11. Quantificação por PCR em Tempo Real.



Fonte: Adaptada de: GOODWIN, 2011.

A qPCR oferece um meio para ensaios mais rápidos, sem comprometer a precisão, e tem várias vantagens sobre a análise de PCR de ponto final, incluindo a eliminação de etapas de processamento pós-PCR e uma ampla faixa dinâmica de detecção com alto grau de sensibilidade (TRAEGER-SYNODINOS, 2006).

O que torna a qPCR mais eficiente que a PCR original é justamente sua capacidade de amplificar o fragmento alvo e detectá-lo, em tempo real, ao longo da termociclagem. Isso melhora e automatiza a PCR, trazendo maior facilidade no trabalho laboratorial, clínico e em qualquer outro âmbito que requeira eficiência e boa produtividade no processamento de amostras (HIGUCHI *et al.*, 1992).

Dentre as aplicações típicas da qPCR estão: detecção de patógenos (testes laboratoriais, por exemplo para detecção de SARS-CoV-2), diagnósticos de diversas doenças, análises de expressão gênica de organismos e quantificação de DNA de amostras forenses (KUBISTA *et al.*, 2006).

2.4 A PCR em Tempo Real nos laboratórios forenses

A quantificação de DNA em uma amostra forense é de grande importância para a amplificação adequada de DNA e obtenção de perfil de STR (NICKLAS, 2003). A avaliação da quantidade de DNA humano em uma amostra pode ser usada antes desta amostra ser encaminhada para a tipagem de marcadores STR (BUTLER, 2011).

A quantidade de DNA extraído de uma amostra varia muito entre os tipos de material biológico. Amostras coletadas em locais de crime quase sempre detém muito pouco DNA para análise, ou apresentam condições de degradação muito acentuadas. Isso se deve a fatores externos que podem que podem acelerar o processo de degradação, o que pode dificultar bastante a quantificação deste material (GOODWIN, 2011).

A principal finalidade da qPCR é estabelecer a quantidade de DNA que pode ser amplificado a partir de uma amostra. Como a PCR convencional é passível de falhas devido à contaminação por inibidores, pela condição de pureza ou grau de degradação e até mesmo pela baixa quantidade de material presente em uma amostra. A qPCR vem como uma alternativa excelente e confiável para determinar com precisão tanto a quantidade quanto qualidade do material genético e indicar quais caminhos devem ser tomados ao analisar uma amostra. Nos laboratórios forenses, isso é de grande valia, pois pode diminuir custos e potencializar o trabalho dos profissionais da área (BUTLER, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Quantificar o DNA deixado em impressões digitais latentes em diferentes tipos de superfícies através da técnica de PCR em Tempo Real com o intuito de saber em qual o tipo de substrato há maior ou menor quantidade de material genético.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o DNA depositado nas diferentes superfícies de vidro, plástico e metal, obtido de impressões digitais latentes;
- Comparar a quantidade de DNA deixado em cada um dos substratos (vidro, plástico e metal);
- Verificar se as amostras analisadas contêm DNA em quantidade suficiente para a tipagem genética por marcadores STR.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção das superfícies

As superfícies utilizadas para realizar este trabalho foram: vidro (lâminas histológicas, béquers, copos), plástico (caixas de armazenamento de microtubos) e metal (tampas de caixas de metal, tampas de porta-pipetas), sempre em 3 unidades de cada objeto. Cada uma delas foi previamente limpa com álcool 70% e deixadas para secar em temperatura ambiente durante 10 minutos. A escolha dos objetos de vidro, plástico e metal fazem referência aos instrumentos que comumente são utilizados para perpetrar crimes ou que são encontrados nos locais de crime, como garrafas de bebida, facas, copos, armas de fogo etc, além de superfícies que são tocadas durante a ação delitativa, como maçanetas de portas e veículos, vidros de portas ou janelas de residências ou veículos, móveis etc.

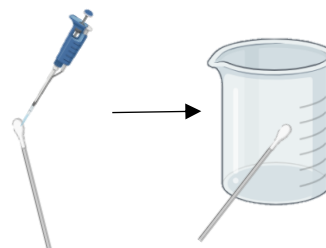
4.2 Deposição das impressões digitais nas superfícies selecionadas

Passado o tempo de secagem, após a limpeza, os doadores, com as mãos não lavadas, depositaram suas impressões digitais. Para a deposição destas impressões, o doador segurava o objeto com uma das mãos durante 1 minuto, depositando assim as impressões digitais dos cinco dedos. Após a deposição das impressões digitais, o local das impressões foi demarcado com caneta hidrográfica. Um mesmo doador tocou as três superfícies, sendo repetido este procedimento por mais duas vezes.

4.3 Coleta das impressões digitais

Foi coletado um total de 30 amostras. Para a coleta utilizou-se suabes umedecidos com 40 μ l de solução de extração SEB (Tris HCl 10 mm, NaCl 100 mm, EDTA 10 mm e SDS 2%). Para visualizar o local da impressão digital no objeto, este foi colocado sob a luz fluorescente. Depois de visualizada a impressão, o suabe umedecido foi passado de modo a remover o máximo de células possível, fazendo movimentos giratórios para aproveitar toda a superfície do algodão. A **Figura 12** demonstra o procedimento.

Figura 12. Procedimento de coleta das impressões digitais.



Fonte. Criado com [BioRender.com](https://www.biorender.com).

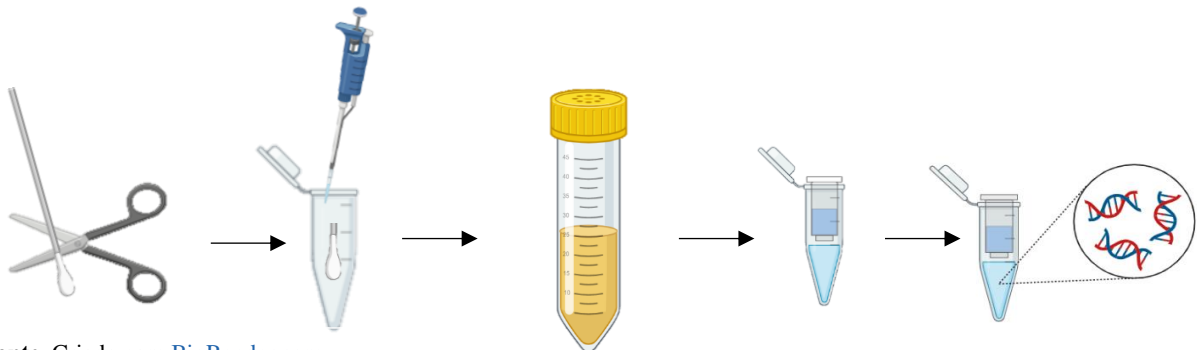
4.4 Extração e purificação do DNA das impressões digitais coletadas

Para a etapa de extração do DNA das células coletadas, utilizou-se o método orgânico, com fenol/clorofórmio. Após coletada a impressão, cortou-se a extremidade de algodão do suabe, contendo as células, colocando-a em um microtubo de 2 ml devidamente identificado. Adicionou-se 300 µl de solução de extração SEB (Tris HCl 10 mM - pH8,0, NaCl 100 mM, EDTA 10 mM e SDS 2%) juntamente com 20 µl de proteinase K (20 ng/ml). Agitou-se a preparação em agitador e, a seguir, incubou-se em banho-maria por 2 horas, à temperatura de 56°C.

Terminado o tempo de incubação, a extremidade de algodão foi transferida para um tubo de 0,5 ml perfurado, o qual foi colocado novamente no tubo de 2 ml e centrifugado por 2 minutos a 14.100 g. Este procedimento foi feito com o intuito de recuperar todo o líquido do algodão e transferi-lo para o tubo de 2 ml. Feito este procedimento, foram descartados o tubo perfurado e o algodão. Adicionou-se à preparação 300 µl de fenol/clorofórmio. Agitou-se manualmente até o líquido ficar com aparência leitosa e, a seguir, centrifugou-se por 3 minutos a 14.100 g.

Após a centrifugação, o sobrenadante do tubo foi transferido para um filtro Microcon YM-100, do kit Microcon® Centrifugal Filters (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), para concentrar o DNA. Antes de transferir este sobrenadante, o filtro foi umedecido com 50 µl de água destilada. Após a transferência, centrifugou-se as amostras por 15 minutos a 9,7 g. Após a centrifugação descartou-se o filtrado. A seguir, adicionou-se ao filtro 500 µl de água destilada e deionizada e centrifugou-se por mais 20 minutos à 9,7 g. Esse procedimento foi repetido 2 vezes. Depois da segunda lavagem, foram adicionados 30 µl de água destilada e deionizada ao filtro concentrador para fazer a recuperação do DNA. Inverteu-se, então, a coluna num tubo coletor limpo e centrifugou-se por 7 minutos a 3,3 g para a recuperação do DNA extraído e purificado. A **Figura 13** ilustra as etapas de extração e purificação.

Figura 13. Procedimento de extração e purificação do DNA das impressões digitais.



Fonte. Criado com [BioRender.com](https://www.biorender.com).

4.5 Quantificação do DNA por PCR em Tempo Real

As reações de qPCR foram feitas sempre um dia após a extração e purificação do DNA das amostras. Para esta etapa, foi utilizado o kit de quantificação de DNA Quantifiler™ Duo (Applied Biosystems™, USA) e o termociclador modelo 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems™, USA). O preparo das amostras foi feito segundo recomendação do fabricante, porém com o volume de DNA de 4 µl (o protocolo do fabricante sugere 2 µl), sendo este volume utilizado também para os padrões de concentração. Os DNA padrões com concentração conhecida foram: 1 ng/µl, 0,1 ng/µl, 0,01 ng/µl e 0,005 ng/µl. O protocolo de termociclagem seguiu a orientação do fabricante sem modificações. Todo o processo bem como os resultados foram acompanhados e analisados utilizando o software 7500 V2.0.6 (Applied Biosystems™, USA).

4.6 Análise estatística

Foi feita a análise estatística descritiva para estimativa da média, variância e desvio padrão dos dados obtidos. Para a comparação das concentrações médias de DNA depositados nos diferentes substratos, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA). A análise estatística foi feita com os programas computacionais Microsoft Excel e IBM SPSS Statistics 20 (IBM, USA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se que, dentre as superfícies estudadas (vidro, plástico e metal), a que apresentou a maior quantidade de DNA deixado por impressões digitais foi a superfície de metal, com média de 0,9453 ng/ μ l, seguida de plástico, com média de 0,1362 ng/ μ l e de vidro, com média 0,0545 ng/ μ l (**Tabela 1 e Gráfico 1**). Estes resultados estão em consonância com os obtidos em outros estudos, como o de Daly *et al.* (2012), que conseguiram obter DNA de impressões digitais depositadas em madeira, tecido e vidro. Castella (2008) quantificaram DNA de impressões digitais coletadas em superfícies de casos reais de investigações. Pang (2007) igualmente obtiveram DNA de uma gama objetos tocados, como mouses, maçanetas, interruptores etc.

Já tem sido mostrado que é possível obter perfis genéticos completos ou parciais através da análise do DNA recuperado de impressões digitais (OORSCHOT, 1997). Daly *et al.* (2012) sugerem como ponto de corte, para casos de rotina, a concentração mínima de 0,03 ng/ μ l de DNA para a geração de perfil genético. Prinz *et al.* (2006) obtiveram resultados que sugerem que amostras contendo de 20 – 100 pg de DNA podem gerar perfis suficientes para deposição no banco de dados, enquanto perfis produzidos a partir da amplificação de 10 a 20 pg de DNA podem ser úteis para comparação direta. Por sua vez, Sewell (2008), obteve perfis genéticos completos ou quase completos de amostras contendo 0,04 ng/ μ l ou mais. No presente estudo, 25 amostras apresentaram DNA em concentração apropriada, acima de 0,03 ng/ μ l, para a obtenção de perfis genéticos o que corresponde a 83,33% das amostras analisadas.

É importante salientar que a natureza do substrato em que se deposita a impressão digital é um dos fatores que influenciam na quantidade de DNA obtido. Nos estudos de Daly *et al.* (2012), obtiveram maiores quantidades de DNA em superfícies de madeira e menores quantidades de DNA superfícies de vidro, e demonstraram, desta forma, que superfícies porosas carregam mais DNA do que superfícies lisas. Da mesma forma, no presente estudo, foi recuperado mais DNA das superfícies de metal do que das de plástico e vidro, que são de natureza lisa.

Rezende *et al.* (2016) avaliaram a variabilidade das quantidades de DNA em superfícies de alumínio, madeira, papel, plástico e vidro e demonstram que nas superfícies lisas (vidro, papel e plástico) obteve-se as menores quantidades de DNA, enquanto que as superfícies porosas

apresentaram quantidades mais elevadas. Estudos demonstram que superfícies mais ásperas tendem a reter mais células e mais moléculas de DNA (TOKUTOMI *et al.*, 2009), o que coincide com os resultados do presente estudo.

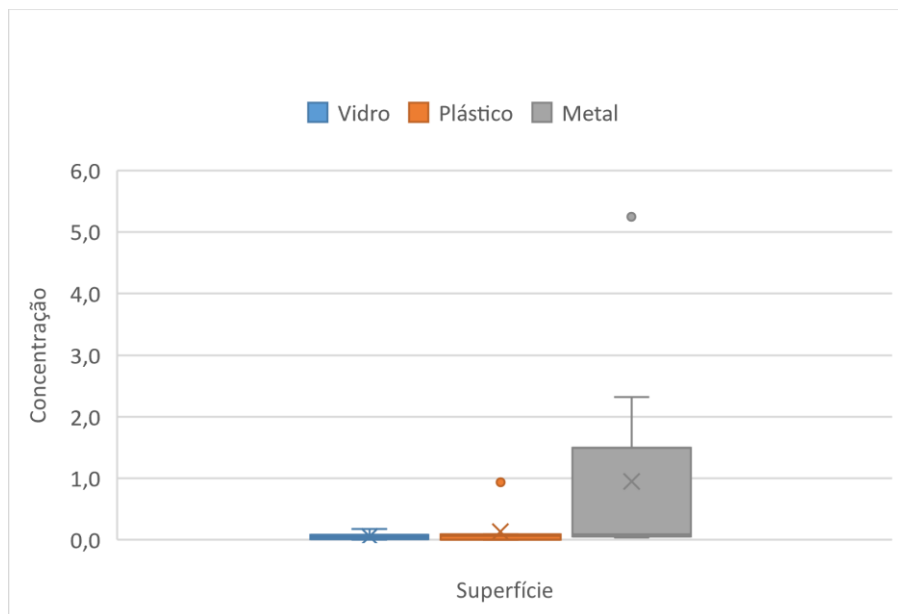
Também, neste trabalho, verificou-se que não houve diferença significativa entre as quantidades médias de DNA recuperado das superfícies estudadas, conforme resultado do teste de ANOVA ($F= 2,3445$; $p=0,1158$).

Tabela 1 - Resultados da quantificação por qPCR de 30 amostras de DNA de impressões digitais. Na tabela estão descritos: a identificação da amostra, a quantidade de DNA obtida (em ng/μl), a média e o desvio padrão (dp). Os valores em negrito são aqueles que estão acima da concentração mínima de 0,03 ng/μl para tipagem genética descrita na literatura.

Amostra	Quantidade em ng/μl	Média ng/μl	dp ng/μl
Vidro			
V1	0,0738		
V2	0,0550		
V3	0,0511		
V4	0,0136		
V5	0,0003		
V6	0,0834		
V7	0,0082		
V8			
V9	0,1793		
V10	0,0259		
		0,0545	0,0552
Plástico			
P1	0,0581		
P2	0,0756		
P3	0,0331		
P4	0,0098		
P5	0,0044		
P6	0,0004		
P7	0,0925		
P8	0,0861		
P9	0,9344		
P10	0,0677		
		0,1362	0,2825
Metal			
M1	0,0721		
M2	0,0421		
M3	0,1182		
M4	5,2459		
M5	0,0577		
M6	0,2613		
M7	2,3163		
M8	0,0583		
M9	1,2223		
M10	0,0586		
		0,9453	1,6847

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Gráfico 1 – Distribuição das concentrações de DNA dos diferentes substratos.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

6. CONCLUSÃO

Estudados há muito tempo, as impressões digitais e o DNA de toque estão entre as evidências mais importantes encontradas em cenas de crimes, e que, com o crescente avanço da tecnologia e das técnicas de biologia molecular, tendem a contribuir cada vez mais para a elucidação de casos criminais. Isso demonstra o quão relevante é a análise do DNA de toque para as ciências forenses. Além disso, é importante ressaltar o poder da técnica utilizada, a qPCR, e como ela se tornou uma aliada e tanto dos profissionais da área.

Foi possível fazer a quantificação de DNA de impressões digitais depositadas em superfícies de metal, vidro e plástico, utilizando a técnica de qPCR.

Os resultados obtidos demonstraram que impressões digitais depositadas em superfície de metal apresentaram maior quantidade de DNA, seguida das depositadas em superfícies de plástico e de vidro. Entretanto, verificou-se, por meio do teste de ANOVA que não houve diferença significativa entre as quantidades médias de DNA recuperadas das três superfícies.

Das impressões digitais analisadas no presente estudo, 83,33% apresentaram DNA em quantidade suficiente para a obtenção de perfis genéticos de marcadores STR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADITYA, Sangeeta *et al.* Generating STR profile from “Touch DNA”. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 18, n. 7, p. 295-298, 2011.

AMANKWAA, Aaron Opoku. Trends in forensic DNA database: transnational exchange of DNA data. **Forensic Sciences Research**, 2019.

BUDOWLE, Bruce; EISENBERG, Arthur J.; DAAL, Angela van. Validity of low copy number typing and applications to forensic science. **Croatian medical journal**, v. 50, n. 3, p. 207-217, 2009.

BUKYA, Jaya Lakshmi *et al.* DNA Profiling in Forensic Science: A Review. **Global Medical Genetics**, v. 8, n. 04, p. 135-143, 2021.

BURRILL, Julia; DANIEL, Barbara; FRASCIONE, Nunzianda. A review of trace “Touch DNA” deposits: Variability factors and an exploration of cellular composition. **Forensic Science International: Genetics**, v. 39, p. 8-18, 2019.

BUTLER, John M. **Advanced topics in forensic DNA typing: methodology**. Academic press, 2011.

CASTELLA, Vincent; MANGIN, Patrice. DNA profiling success and relevance of 1739 contact stains from caseworks. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 1, n. 1, p. 405-407, 2008.

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

DU, Jiang *et al.* Forensic applications and genetic characterization of Liaoning Han population revealed by extended set of autosomal STRs. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 8, n. 12, p. e1517, 2020.

FORENSCOPE. **Touch DNA Series I**. <https://forenscope.com/es/blog-detail/touch-dna-series-i>
Acesso em: 26 de Ago. 2022.

FORENSCOPE. **What is a fringerprint?** <https://forenscope.com/es/blog-detail/what-is-a-fingerprint9> Acesso em: 26 de Ago. 2022.

GILL, Peter *et al.* Application of low copy number DNA profiling. **Croatian medical journal**, v. 42, n. 3, p. 229-232, 2001.

GOODWIN, William; LINACRE, Adrian; HADI, Sibte. **An introduction to forensic genetics.** John Wiley & Sons, 2010.

GORAY, M.; VAN OORSCHOT, R. A. H. *Shedder* status: Exploring means of determination. **Science & Justice**, v. 61, n. 4, p. 391-400, 2021.

HIGUCHI, Russell *et al.* Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. **Bio/technology**, v. 10, n. 4, p. 413-417, 1992.

INNIS, Michael A. *et al.* (Ed.). **PCR protocols: a guide to methods and applications.** Academic press, 2012.

JANSSON, Linda *et al.* Individual *shedder* status and the origin of touch DNA. **Forensic Science International: Genetics**, v. 56, p. 102626, 2022.

KITA, Toshiro *et al.* Morphological study of fragmented DNA on touched objects. **Forensic Science International: Genetics**, v. 3, n. 1, p. 32-36, 2008.

KUBISTA, Mikael *et al.* The real-time polymerase chain reaction. **Molecular aspects of medicine**, v. 27, n. 2-3, p. 95-125, 2006.

LOWE, Alex *et al.* The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. **Forensic Science International**, v. 129, n. 1, p. 25-34, 2002.

MANOLI, Panayiotis *et al.* Sex-specific age association with primary DNA transfer. **International journal of legal medicine**, v. 130, n. 1, p. 103-112, 2016.

MAPES, Anna A. *et al.* Objective data on DNA success rates can aid the selection process of crime samples for analysis by rapid mobile DNA technologies. **Forensic science international**, v. 264, p. 28-33, 2016.

MARTIN, Belinda *et al.* DNA profiles generated from a range of touched sample types. **Forensic Science International: Genetics**, v. 36, p. 13-19, 2018.

MULLIS, K. B. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. In: **Annales de biologie clinique**. 1990. p. 579-582.

MULLIS, Kary. **Dancing naked in the mind field**. Vintage, 2010.

NICKLAS, Janice A.; BUEL, Eric. Quantification of DNA in forensic samples. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 376, n. 8, p. 1160-1167, 2003.

PANG, B. C. M.; CHEUNG, B. K. K. Double swab technique for collecting touched evidence. **Legal Medicine**, v. 9, n. 4, p. 181-184, 2007.

PRINZ, Mechthild *et al.* Maximization of STR DNA typing success for touched objects. In: **International Congress Series**. Elsevier, 2006. p. 651-653.

PULIATTI, Lucas; HANDT, Oliva; TAYLOR, Duncan. The level of DNA an individual transfers to untouched items in their immediate surroundings. **Forensic Science International: Genetics**, v. 54, p. 102561, 2021.

QUINONES, Ignacio; DANIEL, Barbara. Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces. **Forensic science international: Genetics**, v. 6, n. 1, p. 26-30, 2012.

RESENDE, Raquel Vaz *et al.* Extração de DNA de Impressões Digitais Latentes Depositadas em Diferentes Suportes e Reveladas com Spray de Ninidrina e Pó Preto Volcano HI-FI. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 5, n. 4, p. 410-430, 2016.

ROEDER, Amy D. *et al.* Maximizing DNA profiling success from sub-optimal quantities of DNA: a staged approach. **Forensic Science International: Genetics**, v. 3, n. 2, p. 128-137, 2009.

SCHWENDER, Max *et al.* The diversity of *shedder* tests and a novel factor that affects DNA transfer. **International Journal of Legal Medicine**, v. 135, n. 4, p. 1267-1280, 2021.

SEWELL, Jonathan *et al.* Recovery of DNA and fingerprints from touched documents. **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, n. 4, p. 281-285, 2008.

TABERLET, Pierre *et al.* Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. **Nucleic acids research**, v. 24, n. 16, p. 3189-3194, 1996.

TAN, Jiayu *et al.* *Shedder* status: does it really exist? **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 7, n. 1, p. 360-362, 2019.

TOKUTOMI, Tomoharu *et al.* Identification using DNA from skin contact. **Legal Medicine**, v. 11, p. S576-S577, 2009.

TRAEGER-SYNODINOS, Joanne. Real-time PCR for prenatal and preimplantation genetic diagnosis of monogenic diseases. **Molecular aspects of medicine**, v. 27, n. 2-3, p. 176-191, 2006.

VAN OORSCHOT, Roland AH; JONES, Maxwell K. DNA fingerprints from fingerprints. **Nature**, v. 387, n. 6635, p. 767-767, 1997.

WICKENHEISER, Ray A. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. **Journal of Forensic Science**, v. 47, n. 3, p. 442-450, 2002.