

PROCESSAMENTO DE *BACKLOG* DE VESTÍGIOS DE CRIMES SEXUAIS NO ESTADO DO PARANÁ

Data de aceite: 01/11/2023

L.D.G. Kobachuk

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Genética, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), Brasil

C.C. Teixeira

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

P.E. Fornari

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

C.M.S. Becker

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil
Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba (PR), Brasil.

A.C.M. Braga

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

J.A.M.T. Luz

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

J. Brodzinski

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

M.M.T. Rosário

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

R. Maia

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

C.M. Stuhler

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

F. L. S. Rodrigues

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

M. Malaghini

Polícia Científica do Paraná, Laboratório de Genética Molecular Forense, Curitiba (PR), Brasil

RESUMO: O Projeto *Backlog* de Vestígios de Crimes Sexuais foi idealizado pelo Comitê Gestor da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos, que direcionou investimentos para suprir com equipamentos e insumos os Estados da Federação que tivessem apresentado metas de processamento de seus passivos relacionados a crimes sexuais. O Laboratório de Genética Molecular Forense (LGMF) da Polícia Científica do Estado do Paraná comprometeu-se com o processamento de dois mil vestígios do seu passivo, sendo assim contemplado com a plataforma automatizada *ID STARlet Hamilton*. Foram processados vestígios de crimes sexuais que ocorreram entre os anos de 2010 e 2021, provenientes de aproximadamente 900 vítimas. A lise diferencial foi realizada de forma manual, enquanto a purificação e demais etapas ocorreram na plataforma *ID STARlet Hamilton*. Em um período inferior a um ano, após a instalação dos equipamentos recebidos pela Secretaria Nacional de Segurança Pública, o LGMF finalizou o processamento e análise dos dois mil vestígios a que se propôs inicialmente. Assim, foram inseridos 786 perfis genéticos masculinos no Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG), resultando em 350 coincidências observadas, envolvendo 196 vítimas. Além disso, a interseção desses *matches* gerou 79 Laudos de Informes de Coincidência, contemplando coincidências com: outros estados, condenados, suspeitos identificados e casos ainda sem suspeitos. O Projeto *Backlog* de Vestígios de Crimes Sexuais permitiu um incremento significativo do Banco de Perfis Genéticos da Polícia Científica do Paraná, que ficou classificado em 3º lugar no *ranking* nacional de número absoluto de vestígios inseridos no BNPG em 2021.

PALAVRAS-CHAVE: Genética Forense; Estupro; CODIS; RIBPG; Violência Sexual.

ABSTRACT: The *Backlog* of Sexual Crimes Traces Project has been idealized by the Management Committee of the Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos, which directed investments to supply equipment and supplies to the States that had presented goals for processing their sexual crimes backlog. The Forensic Molecular Genetics Laboratory (LGMF) of the Paraná's Scientific Police committed to processing two thousand traces of its backlog. It has been contemplated with the automated platform *ID STARlet Hamilton*. Traces of sexual crimes that occurred between the years 2010 and 2021 from approximately 900 victims were processed. Differential lysis was performed manually, while purification and other steps took place on the *ID STARlet Hamilton* platform. In less than a year after installing the equipment received from the Secretaria Nacional de Segurança Pública, the LGMF finished the processing and analysis of the two thousand traces it had initially proposed. Thus, 786 male genetic profiles were inserted in the National Bank of Genetic Profiles (BNPG), resulting in 350 observed matches involving 196 victims. In addition, the intersection of these matches generated 79 Coincidence Reports, contemplating matches with other states, convicted offenders, identified suspects, and other cases without suspects. The *Backlog* of Sexual Crimes Traces Project allowed a significant increase in the Genetic Profile Bank of the Paraná's Scientific Police, which ranked 3rd in the national ranking of the absolute number of traces inserted in the BNPG in 2021.

KEYWORDS: Forensic Genetics; Rape; CODIS; RIBPG; Sexual Assault.

INTRODUÇÃO

A violência sexual pode ser definida como qualquer ato ou contato sexual onde a vítima é usada para a gratificação sexual de seu agressor sem seu consentimento, por meio do uso da força, intimidação, coerção, chantagem, suborno, manipulação, ameaça ou aproveitamento de situação de vulnerabilidade [1]. Em 2020, foram registrados 60.926 casos de violência sexual no Brasil, sendo 86,9% das vítimas do sexo feminino [2]. A impunidade tem sido considerada responsável pela perpetuação desse crime, visto que o índice de condenação em crimes sexuais é de aproximadamente 1% no Brasil [3,4].

A inserção e busca de perfis genéticos, proveniente de vestígios de crimes sexuais, em bancos de perfis genéticos é ferramenta de grande utilidade para a justiça. Essa estratégia permite identificar autores de crimes não solucionados, confirmar a identidade de criminosos já identificados, excluir suspeitos injustamente acusados, além de conectar casos distintos com a mesma autoria (crimes seriais).

O Projeto de Backlog de Vestígios de Crimes Sexuais foi proposto e elaborado entre 2018 e 2019 pelo Comitê Gestor da Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos (RIBPG), o qual fez levantamentos e propôs documentos, procedimentos, aquisições e capacitações. O projeto visava o processamento do passivo (*backlog*) de mais de 150 mil amostras biológicas de crimes sexuais que aguardavam análise nas unidades de perícia oficial do país [5]. O Estado do Paraná possuía um passivo de seis mil amostras de crimes sexuais e se comprometeu com o processamento de dois mil vestígios no período de 1 ano.

Durante o ano de 2020, o Laboratório de Genética Molecular Forense da Polícia Científica do Paraná (LGMF) efetuou o levantamento de dados referentes aos vestígios a serem periciados. Nesse ano a Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP) entregou equipamentos e insumos para o desenvolvimento do Projeto, avaliados em mais de 1,5 milhão de reais. O Paraná foi contemplado com a plataforma de automação de grande porte *ID STARLet Hamilton*, equipamento essencial para a realização do processamento desta quantidade de vestígios no prazo estipulado pelo programa. Até então, os exames genéticos eram realizados no LGMF por métodos manuais e sistemas semi-automatizados, com processamento simultâneo de número reduzido de amostras e incompatível com a demanda do projeto.

Em 2021 o LGMF realizou o processamento completo dos dois mil vestígios a que se propôs, provenientes de cerca de 900 vítimas de crimes sexuais, crimes estes ocorridos entre os anos de 2010 e 2021. Como resultado foram inseridos 786 perfis genéticos masculinos na RIBPG, os quais propiciaram 350 coincidências observadas, envolvendo 196 vítimas.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção das amostras

Foram selecionadas duas categorias de amostras. A primeira foi nomeada como “backlog” e contemplava os casos de violência sexual ocorridos entre os anos de 2010 e 2017, em que ao menos uma amostra vestígio apresentava como resultado preliminar a presença de “vários espermatozoides” determinada após o exame de microscopia óptica. Também foi considerado como critério para inclusão a vinculação do caso a Boletim de Ocorrência ou Inquérito Policial, de forma a permitir futuras ações investigativas das forças policiais. A segunda categoria foi nomeada como “rotina” e nela foram processados os casos de violência sexual da casuística do LGMF, com solicitação oficial para realização de exame genético, recebidos durante o ano de 2021, período de execução do projeto, independente do resultado preliminar de pesquisa de sêmen.

Extração do DNA

Foi realizado protocolo de extração diferencial do DNA. Para tal, 400 μL de tampão de extração (10 mM Tris; 10 mM EDTA; 100 mM NaCl; 2% SDS) e 10 μL de Proteinase K (20mg/mL) foram adicionados a 200 μL de amostra (macerado de *swabs*, vestes ou demais vestígios em PBS). Os microtubos foram incubados em termoblocos a 56°C com agitação de 750 rpm por 30 minutos. Após essa primeira lise, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 13.000 rpm. Em seguida, 50 μL do sobrenadante (fração não espermática - FNE) foi transferido para um novo microtubo, que foi armazenado (2-8°C) e o restante do sobrenadante foi desprezado. O precipitado foi submetido a uma segunda lise com 340 μL de tampão de extração e 10 μL de Proteinase K, nas mesmas condições da primeira lise, durante 15 minutos. Após centrifugação durante 5 minutos a 13.000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 750 μL de água ultrapura por duas vezes, resultando na fração espermática (FE), após a remoção do sobrenadante final [6]. Foram adicionados nas frações FNE e FE 500 μL de tampão de lise do kit PrepFiler™ Automated Forensic DNA Extraction (*Applied Biosystems*®) e, apenas na fração FE, também foi adicionado 8,3 μL de DTT (ditiotreitól) a 1M. As amostras foram incubadas em termobloco a 70°C com agitação de 750 rpm por 40 minutos [7]. Após a incubação, as amostras foram submetidas a purificação automatizada no equipamento *ID STARlet Hamilton* conforme recomendações do fabricante [8], com o volume final de extrato de 65 μL . Esta plataforma de automação permite o processamento de até 85 amostras simultaneamente.

Quantificação do DNA (qPCR)

A quantificação do DNA foi realizada por meio de PCR quantitativa no equipamento *7500 real-time PCR System (Applied Biosystems®)*, utilizando-se os kits *PowerQuant System (Promega®)* e *Investigator Quantiplex Pro (Qiagen®)* de acordo com os protocolos dos fabricantes [9,10]. O preparo das reações foi realizado no equipamento *ID STARlet Hamilton* conforme recomendações do fabricante [8].

Amplificação do DNA (PCR)

Os extratos de DNA das frações FEs e FNEs foram amplificados utilizando os kits *GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems®)*, *Yfiler™ Plus (Applied Biosystems®)*, *PowerPlex Fusion® 6C (Promega®)* e *PowerPlex Y23® (Promega®)* em termocicladores *Veriti® (Applied Biosystems®)*, segundo instruções dos fabricantes [11,12,13,14]. As reações de amplificação foram preparadas na automação *ID STARlet Hamilton*.

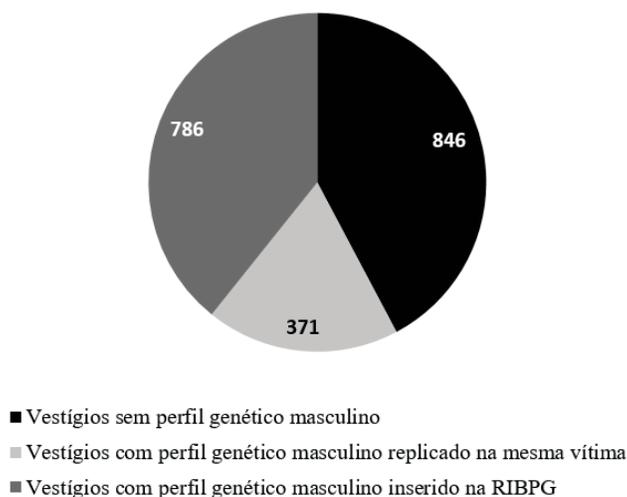


Figura 1. Relação entre o número de vestígios processados, a obtenção de perfis genéticos masculinos viáveis e a inserção no BNPBG.

Eletroforese capilar

As amostras amplificadas foram submetidas a eletroforese capilar no analisador genético *ABI 3500® (Applied Biosystems®)* com o *ABI 3500 Series Data Collection Software 3 (Applied Biosystems®)*. O preparo das placas foi realizado no equipamento *QIAgility (Quiagen®)* utilizando $1\mu\text{L}$ do produto de PCR amplificado, $9,6\mu\text{L}$ de formamida *HiDi™ (Applied Biosystems®)* e $0,4\mu\text{L}$ de *GeneScan™ 600 LIZ® dye Size Standard v2.0 (Applied Biosystems®)* nas reações com kits *Globalfiler™* e *Yfiler™* ou $9,5\mu\text{L}$ de formamida

HiDi™ (Applied Biosystems®) e 0,5 µL de WEN Internal Lane Standard 500 (Promega®) nas reações com kits PowerPlex Fusion® 6C e e PowerPlex Y23®).

Análise dos perfis genéticos e inserção no Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG)

Os perfis genéticos obtidos foram analisados no *GeneMapper®ID-X Software v.1.4* (Applied Biosystems®) e os que atenderam os critérios de admissibilidade previstos no Manual de Procedimentos Operacionais da RIBPG v.4 [15] foram inseridos no *software CODIS* da Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos.

RESULTADOS

Ao todo 2003 vestígios, provenientes de 913 vítimas de crimes sexuais, foram processados e analisados no Projeto *Backlog* de Vestígios de Crimes Sexuais no Estado do Paraná. Dos vestígios processados, 1157 apresentaram perfis genéticos masculinos viáveis, resultando em 786 inserções no BNPG (Fig.1).

A proporção entre o número de vestígios processados e o número de perfis genéticos masculinos viáveis obtidos está representada na Fig.2. É possível observar a diferença de proporção entre os resultados provenientes das amostras selecionadas das categorias: “*backlog*” e “rotina” (mencionados no título 2.1).

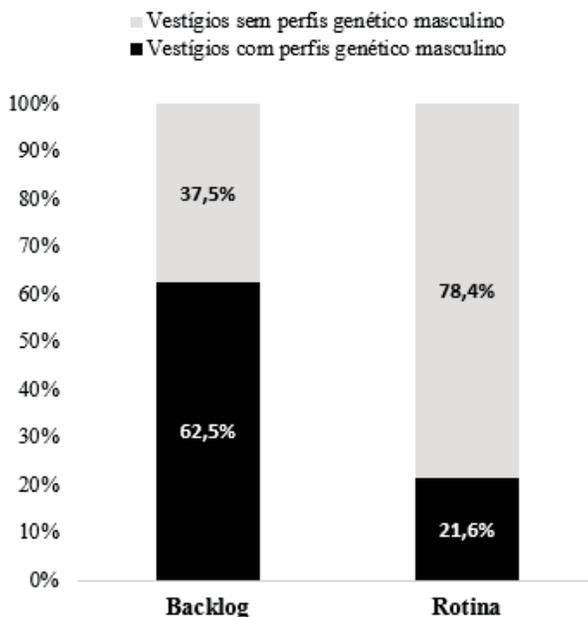


Figura 2. Proporção de perfis genéticos masculinos obtidos das amostras provenientes do *backlog* (espermatozoides positivos) e da rotina (espermatozoides positivos e negativos).

Após a inserção dos 786 perfis genéticos masculinos no BNPG, foram identificadas 350 coincidências com os dados do banco, resultando em 79 laudos de Informe de Coincidência de Perfil Genético. Estas coincidências foram classificadas em quatro categorias definidas para esse estudo (Fig. 3).

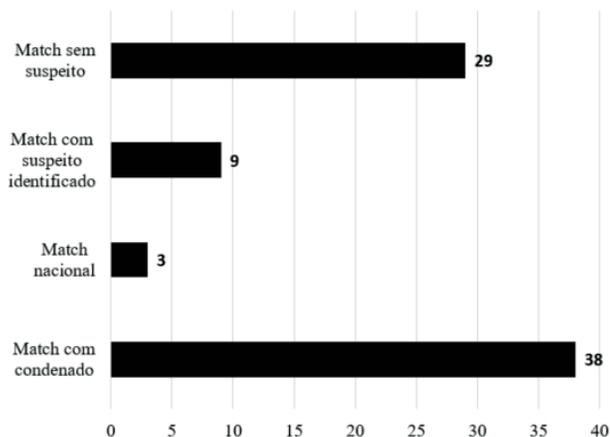


Figura 3. Número de informes de coincidências subdivididos nas categorias definidas para esse estudo.

Através do cruzamento de informações no BNPG foi possível concatenar casos diferentes de violência sexual relacionados a um único e mesmo autor, caracterizando crimes seriais. No total, 39 agressores em série foram detectados, sendo que em 9 dos casos a autoria foi identificada, e em 30 casos, o autor dos crimes não foi identificado. A Fig. 4 apresenta o número de agressores seriais, identificados, para os quais foram relacionadas 2, 7, 9 e 17 vítimas. Já a Fig. 5 traz o número de agressores seriais, não identificados, envolvidos em crimes com 2, 3, 4, 5, 8 e 14 vítimas.

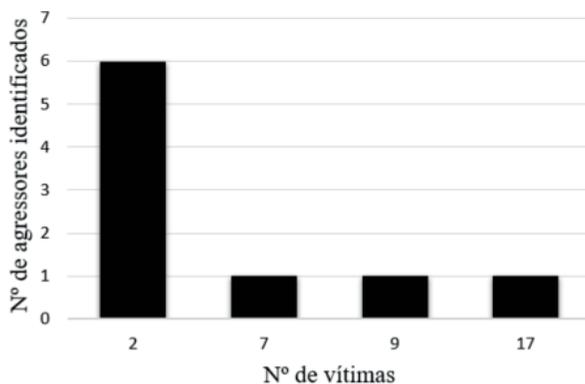


Figura 4. Nº de agressores seriais identificados com 2, 7, 9 e 17 vítimas de violência sexual.

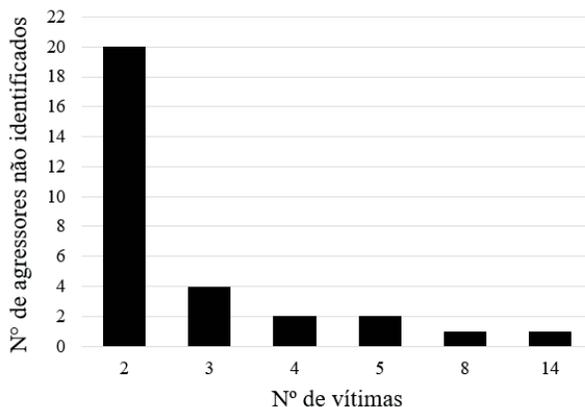


Figura 5. Nº de agressores seriais não identificados com 2, 3, 4, 5, 8 e 14 vítimas de violência sexual.

Foram inseridos no BNPG os perfis genéticos masculinos identificados em vestígios de 786 vítimas de violência sexual. A Figura 6 apresenta o número de vítimas cujos perfis masculinos tiveram algum tipo de coincidência com dados do banco.

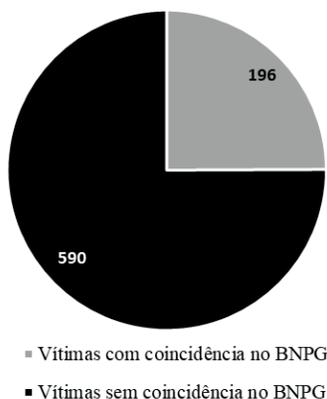


Figura 6. Relação entre o número de vítimas com e sem coincidência no BNPG, dentre as que tiveram perfil de agressor inserido.

DISCUSSÃO

O Banco Nacional de Perfis Genéticos já auxiliou na elucidação de mais de 3,4 mil investigações criminais no Brasil e destas, 227 contaram com auxílio de perfis mapeados pela Polícia Científica do Paraná. O Projeto de *Backlog* de Vestígios de Crimes Sexuais proposto e financiado pela SENASP permitiu que o Estado do Paraná tivesse aumento significativo no número de perfis genéticos, provenientes de crimes sexuais, inseridos no BNPG. Como resultado do processamento dos 2003 vestígios houve a inserção de 786 perfis genéticos de vestígios na rede, um incremento impressionante de, aproximadamente,

49% na categoria de vestígios inseridos. Este número representa expressiva contribuição nas investigações de crimes que ocorreram entre os anos de 2010 e 2021. Na Fig. 1 é possível verificar que não foram inseridos 371 perfis viáveis porque eles estavam replicados em mais de um vestígio proveniente da mesma vítima. Em situações em que é coletado mais de um material da mesma vítima (ex: *swab* vaginal e calcinha), é comum que estes vestígios apresentem o mesmo perfil genético masculino.

Dentre os 2003 vestígios processados, apenas 26 eram provenientes de vítimas do sexo masculino e a análise desses vestígios foi condicionada a existência do perfil de referência da vítima masculina. Dessa forma foi possível detectar nestas amostras a presença de perfil masculino do suposto agressor.

Os critérios de seleção utilizados para elencar as amostras da categoria “*backlog*” permitiram a obtenção de perfis genéticos masculinos em 62,5% dos vestígios processados. Por outro lado, entre as amostras provenientes da categoria “rotina”, que não apresentavam necessariamente resultado preliminar de pesquisa de sêmen positivo, a porcentagem de perfis genéticos masculinos obtidos em relação ao número de vestígios processados foi consideravelmente menor (21,5%), como demonstra a Fig.2. Devido ao elevado número de casos de violência sexual no passivo do LGMF, esse projeto utilizou os critérios de seleção para as amostras do *backlog* a fim de aplicar os recursos recebidos em casos que houvesse indicativos de se obter perfis passíveis de inserção no BNPG. Por isso, foram elencados os que possuíam, ao menos, um vestígio com a presença de vários espermatozoides, para após a extração diferencial, portarem chances reais de apresentar perfis genéticos masculinos. Entretanto, essa não é a realidade da rotina laboratorial forense. Apenas 20% de todos os vestígios de vítimas de crimes sexuais processados possibilitam a obtenção de perfis dos agressores, como foi demonstrado nesse estudo. Isso se deve a diversos fatores, entre eles: o tempo decorrido entre a agressão e a coleta do vestígio; a conduta da vítima após a agressão (tomar banho, lavar as vestes, escovar os dentes); azoospermia ou oligospermia do agressor, entre outros.

A obtenção de 350 coincidências na RIBPG, após a inserção dos 786 perfis genéticos foi um recorde para o LGMF. Além disso, a interseção desses *matches* resultou em 79 Laudos de Informes de Coincidência, que para fins de estudo subdividimos em *matches* nacionais, *matches* com condenados, *matches* com suspeitos identificados e *matches* sem suspeitos (Fig. 3). Dois, dos três *matches* nacionais, ocorreram com suspeitos dos Estados de Rio Grande do Sul e de São Paulo, enquanto o terceiro *match* nacional se deu com um vestígio do Estado de São Paulo. A obtenção de 38 *matches* com condenados reflete a importância da inserção de perfis dessa categoria no BNPG, trabalho que vem sendo desenvolvido pelo Estado do Paraná desde 2019, contabilizando, atualmente, 4576 perfis genéticos de condenados. Os *matches* com suspeitos identificados referem-se a coincidências com perfis provenientes de casos previamente inseridos no banco e que já apresentavam inclusão com suspeitos selecionados durante a investigação policial. Por

fim, as 29 coincidências entre vestígios para as quais não foi possível relacionar, através da RIBPG, nenhum suspeito, foram classificadas como *matches* sem suspeito.

O agressor sexual tende a ser reincidente no crime, não sendo rara a identificação de diferentes vítimas de um mesmo criminoso [16]. A RIBPG conectou casos distintos com a mesma autoria, evidenciando crimes seriais. Alguns *matches* de crimes de mesma autoria se deram com suspeitos identificados (Fig. 4) enquanto outros foram com casos sem suspeitos identificados (Fig. 5). No Estado do Paraná há um agressor serial identificado que possui até o momento 17 vítimas e há outro agressor com 14 vítimas que até o momento não foi identificado. A análise dessas figuras permite concluir que agressores sexuais tendem a ser reincidentes na prática desse crime, evidenciando a importância da contínua inserção dos perfis dos vestígios no BNPG, para identificar conexões muitas vezes ainda não relacionadas na investigação policial. O Informe de Coincidência, encaminhado às autoridades competentes, relacionando as diferentes vítimas de um mesmo criminoso, tende a auxiliar na elucidação desses crimes. Até esse momento, através deste projeto, o BNPG auxiliou em investigações envolvendo 196 vítimas de violência sexual no Estado do Paraná (Fig.6).

Embora o número de coincidências tenha sido bastante relevante, não foi constatada nenhuma correlação no BNPG para 75% das vítimas que tiveram perfil do respectivo agressor inserido no *software CODIS* da RIBPG (Fig.6). Espera-se que as investigações policiais possam indicar novos suspeitos para esses crimes e a inserção de perfis de condenados venha a contribuir para a identificação desses agressores.

CONCLUSÃO

O Projeto *Backlog* de Vestígios de Crimes Sexuais no estado do Paraná foi plenamente realizado em um período inferior a um ano a partir da data de instalação da plataforma de automação de grande porte *ID STARLet Hamilton*, permitindo o incremento expressivo do Banco de Perfis Genéticos da Polícia Científica do Paraná. Tal aumento pode ser evidenciado pela classificação em 3º lugar do Estado do Paraná no *ranking* nacional de número absoluto de vestígios inseridos no BNPG, servindo de importante contribuição no auxílio das investigações policiais.

AGRADECIMENTOS

À Secretaria Nacional de Segurança Pública pela aquisição dos insumos e equipamentos que possibilitaram o desenvolvimento desse projeto. À equipe do Laboratório de Genética Molecular Forense da Polícia Científica do Paraná pelo comprometimento e por ter aceito esse desafio sem prejudicar a realização dos exames da rotina solicitados em 2021.

REFERÊNCIAS

1. S.C. Mello; A. Leila. Violência sexual no Brasil: perspectivas e desafios: *Secretaria Especial de Políticas para as Mulheres*, 20 (2005).
2. Fórum brasileiro de segurança pública. *Anuário Brasileiro de Segurança Pública* – Edição 15.07.2021: Os registros de violência sexual durante a pandemia de covid-19, 110-117 (2020).
3. H. Buchmüller. Crimes sexuais: a impunidade gerada por um estado omissivo. *Congresso em Foco* (2016).
4. Pesquisa Violência Sexual Percepções e comportamentos sobre violência sexual no Brasil. *Instituto Patricia Galvão* (2016).
5. XIII Relatório da rede integrada de bancos de perfis genéticos (RIBPG). *Ministério da Justiça e Segurança Pública* (2020).
6. M.D. Timken; S.B. Klein; S. Kubala; G. Scharnhorst; M.R. Buoncristiani; K.W.P. Miller. Automation of the standard DNA differential extraction on the Hamilton AutoLys STAR system: A proof-of-concept study. *Forensic Sci Int Genet.* **40**:96-104 (2019).
7. M.D. Timken; S.B. Klein; M.R. Buoncristiani. Improving the efficacy of the standard DNA differential extraction method for sexual assault evidence. *Forensic Sci Int Genet.* **34**:170-177 (2018).
8. ID STARlet Operator's Manual. Hamilton (2012).
9. Technical Manual PowerQuant™ System. Instructions for use of products. Promega Corporation (2020).
10. Investigator® Quantiplex® Pro Handbook. Quiagen (2018).
11. GlobalFiler™ Amplification Kit. User Guide. Thermo Fisher Scientific (2019).
12. Yfiler™ Plus PCR Amplification Kit. User Guide. Thermo Fisher Scientific (2019).
13. PowerPlex® Fusion 6C System for use on the Applied Biosystems® Genetic Analyzers. Technical Manual. Promega Corporation (2018).
14. PowerPlex® Y23 System for use on the Applied Biosystems® Genetic Analyzers. Technical Manual. Promega Corporation (2021).
15. BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Comitê Gestor da Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos. Manual de procedimentos operacionais da rede integrada de bancos de perfis genéticos. Brasília: 2019. v.4. 13p. Retirado em: 20 de jun. 2020 de: <https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg/manual>
16. S. Bengtson; J. Lund. Criminal recidivism among sexual offenders. *Ugeskr Laeger.* **49**:4035-9 (2008).