**Análise comparativa dos testes de Antígeno Prostático Específico (PSA), em relação à quantificação de DNA, nos casos de violência sexual, realizado no centro de perícias científicas “Renato Chaves” no ano de 2016, Belém, Pará.**

Os casos de violência sexual típicos na legislação penal brasileira são classificados como Crimes Contra a Dignidade Sexual. Entre eles, destaca-se o crime de estupro, caracterizado no artigo 213 do Código Penal como "constranger alguém, mediante violência ou grave ameaça, a ter conjunção carnal ou a praticar ou permitir que com ele se pratique outro ato libidinoso", fenômeno universal que atinge, indistintamente, todas as classes sociais, idades, etnias, religiões e culturas, acreditando-se ser uma das condições de maior sub-notificação e sub-registro no mundo1,2.

Avanços nas tecnologias de DNA surtiram um enorme impacto no campo da ciência forense, proporcionando à justiça uma poderosa ferramenta nas investigações de crimes sexuais1. Umas dessas ferramentas é a possibilidade de identificação do suspeito de realizar o crime de violência sexual através de seu sêmen.

Deve-se ter cautela na utilização dos exames preliminares de forma isolada e alguns aspectos devem ser considerados quando da sua realização, tais como: o período decorrido da agressão à coleta do material biológico, a realização de higiene íntima, a contaminação por fungos, o uso de preservativo, a ausência de ejaculação, o volume de sêmen depositado na cavidade vaginal para realização dos exames para a pesquisa de sêmen no laboratório, onde processados swabs das regiões anal, vaginal da vítima para pesquisa de PSA6.

O PSA é uma glicoproteína produzida pelo tecido da próstata e é secretado no plasma seminal. Ele é utilizado na investigação do líquido seminal em perícias criminais, sendo um marcador na determinação dos vestígios de sêmen coletados das vítimas3.

A presença de PSA no esperma em concentrações milhões de vezes maiores que no soro de homens a caracterizou como um marcador valioso, já testado e validado pela comunidade forense, para a identificação de fluido seminal em evidências criminais4.

Portanto o Teste de PSA é empregado para demonstrar a presença de sêmen na vagina. Este teste tem destacada importância porque pode evidenciar a presença de esperma mesmo no caso de cópulas com indivíduos azoospérmicos por processo patológico ou por esterilização cirúrgica, e ainda nas situações que falhem a identificação de espermatozoides, por erro de observação, por autólise ou por contaminação bacteriana3.

Após a comprovação da presença de células do suspeito e possível realizar a quantificação de DNA do mesmo, para verificar a possibilidade de uma possível amplificação e obtenção do perfil genético do suspeito. O perfil de DNA ou perfil genético tem sido considerado um método importante na identificação individual, pois a informação contida no DNA é determinada pela sequência como as letras do alfabeto genético estão dispostas nos cromossomos7.

Quando da análise de material contendo fluido vaginal e/ou esperma, em função da natureza do evento sexo-relacionado, podem estar presentes, além de espermatozoides, outros tipos de células, frequentemente células epiteliais5. Em tais casos, executa-se uma metodologia de extração diferencial com lise celular em duas etapas, que permite a separação entre o DNA proveniente das células outras que não espermatozoides (FNE) e aquele proveniente dos espermatozoides (FE)7.

Foi realizada a coleta de dados de 38 casos de abuso sexual acorridos no ano de 2016 no Centro de Perícias “Renato Chaves”, Belém/Pará para realizar uma análise comparativa entre o teste de PSA e a quantificação de DNA, demonstrando a importância destes testes nas ciências forenses em casos de violência sexual. Foram selecionadas apenas amostras positivas com presença de sêmen no Teste de PSA que posteriormente foi feita extração deste material, quantificação e possivelmente obtenção do DNA do suspeito.

Os Testes de PSA foram realizados em equipamento “Elisys Uno (Human)”, utilizando os Kits, PSA 3ª Geração e PSA Total, que contem placas com 96 microcavidades para teste de Elisa. A quantificação de DNA foi realizada em equipamento automatizado, modelo “7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems)”, utilizando dois tipos de reagentes comerciais.

Os 19 casos com o reagente comercial “Quantifiler™ DUO - DNA quantification kit” desenvolvido pelo laboratório Applied Biosystems, que quantifica o DNA humano total presente e a fração específica do DNA masculino (cromossomo Y) encontrado na amostra analisada e os outros 19 casos com o reagente comercial “Quantifiler™ Trio - DNA quantification kit” desenvolvido pelo mesmo laboratório. Este kit quantifica a fração específica de Cromossomo Y e o DNA humano total informando a degradação do mesmo, através das quantidades de fragmentos curtos e fragmentos longos de DNA.

No Laboratório do CPC Renato Chaves a amplificação é realizada pelo método de PCR multiplex e seus kits de amplificação preconizam que o quantitativo de DNA possível de se amplificar é a partir de 0,3 ng/mL, somente sendo possível adicionar 15 mL de DNA da amostra extraída para realizar a amplificação, esses valores são multiplicados e os peritos forenses observam a quantidade de DNA presente no 1 mL da quantificação e realizam as modificações necessárias, aumentando a quantidade de amostra extraída ou diluído a mesma. Então a quantificação a partir de 0,02 ng/mL é utilizado no seguinte trabalho como o mínimo de DNA encontrado possível de se utilizar para a amplificação.

Com o kit Quantifiler™ DUO, dos 19 somente 5 casos não apresentaram quantidade de DNA suficiente na FE para realizar amplificação e não foi possível detectar a presença de DNA masculino em 4 desses casos. Com o kit Quantifiler™ Trio apenas 9 casos não apresentaram quantidade de DNA suficiente na FE para realizar amplificação e fração do cromossomo Y apresentou quantidade inferior a 0,02 ng/mL em 5 desses casos e em 4 casos a fração do cromossomo Y não foi detectada. A quantidade encontrada de fragmentos curtos de DNA mostrou um nível muito alto de degradação das amostras. De 38 casos, apenas 13, que equivale a mais de 70%, não apresentaram quantidade de DNA favorável na FE para possivelmente obter o perfil genético do suspeito.

Vários autores informam sobre a presença de inibidores e contaminantes nas amostras que trazem problemas na amplificação do DNA e que uma das explicações para a condição desfavorável das amostras é a demora das vítimas em procurar a medicina legal. Alaeddini (2012) informou que os inibidores de PCR são uma das causas mais comuns de problemas na amplificação do DNA. Akane *et al.* (1994) informou que em amostras forenses é comum encontrar inibidores de PCR. Segundo Khaldi *et al.*(2004), por ser uma glicoproteína, o PSA pode sofrer degradação, resultando falso-negativo.

Foi possível observar a importância do Teste de PSA e presença de inibidores e degradação do material influenciou grandemente nos resultados, onde algumas amostras obtiveram parte do DNA não detectado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROCHA, T. C. L. *et al*. A importância da coleta de material peniano do suspeito em casos de crimes sexuais: Um relato de caso**. Saúde, Ética & Justiça**.. 2013.

2. DREZETT, J. *et al*. Influência do exame médico-legal na responsabilização do autor da violência sexual contra adolescentes. **Revista Brasileira de Crescimento e Desenvolvimento Humano**. vol. 21 n°. 2 São Paulo. 2011.

3. BUENO, M. & MASSUDA, T. Análise de interferentes na detecção de PSA para aplicação forense. **Cadernos da Escola de Saúde**. Curitiba. 1984.

4. SAWAYA, M. C. T. & ROLIM, M. R. S. Antígeno específico da próstata em fluidos biológicos: aplicação forense. **Visão Acadêmica**. Curitiba. vol. 5, n°. 2, pg. 109-116, Jul.- Dez. 2004.

5. COLLINS, K.A. *et al*. Identification of Sperm and Non-Sperm Male Cells in Cervicovaginal Smears Using Fluorescence *in situ* Hibridization: applications in alleged sexual assault cases. **Journal of forensic sciences,** v.39, n.6, p.1347-1355. 1994.

6. KHALDI N. *et al.* Evaluation of Three Rapid Detection Methods for the Forensic Identification of Seminal Fluid in Rape Cases. **Journal Forensic Science**. v. 49, n. 4. 2004.

7. YOSHIDA K. *et al.* The Modified Method of Two-Step Differential Extraction of Sperm and Vaginal Epithelial Cell DNA from Vaginal Fluid Mixed with Semen. **Forensic Science International**. v. 72, n. 1, p. 25-33. 1995.