

Risco de contaminação por DNA de alto peso molecular e por *amplicons* em Laboratório de Genética Forense no Brasil

P.A.C. Francez ^a; A.M.L. Pombo ^{a,*}; R.S. Silva ^b.

^a Instituto Nacional de Perícias e Ciências Forenses, Macapá (AP), Brasil

^b Instituto de Administração Penitenciária, Macapá (AP), Brasil

*Endereço de e-mail para correspondência: am.pombo@bol.com.br. Tel.: +55-96-991588307.

Recebido em 07/12/2017; Revisado em 30/10/2018; Aceito em 11/05/2020

Resumo

O DNA forense vem sendo usado na identificação criminal desde 1985, e, desde então, é considerado crucial para a identificação humana em situações como: identificação de suspeitos em casos de crimes sexuais, identificação de cadáveres desconhecidos, investigação de vínculo genético em casos de gravidez resultante de estupro, paternidade criminal, dentre outras aplicações. Desde a década de 70 as boas práticas de biossegurança vêm sendo cada vez mais difundidas e valorizadas nos Laboratórios de análises clínicas, experimentais e forenses. Em centros de investigação criminal, estes cuidados são particularmente importantes, visto que analisam as evidências biológicas que podem resultar na incriminação ou exoneração de suspeitos relacionados a casos criminais. Os exames de DNA nos Laboratórios de Genética Forense são particularmente sensíveis à contaminação, degradação, troca de amostras ou quebra da cadeia de custódia, pois podem acarretar erros analíticos que resultariam em um grande risco de erros processuais e judiciais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de contaminação por DNA de alto peso molecular, bem como DNA amplificado (*amplicons*) em diferentes áreas e equipamentos do Laboratório de Genética Forense da POLITEC-AP. Para tanto, foram efetuadas coletas empregando *swabs* estéreis umedecidos em diferentes pontos e empregando amostragens em diferentes pontos do Laboratório, antes e depois da aplicação de protocolos de limpeza e desinfecção das áreas e equipamentos examinados. Após os experimentos realizados, foi possível identificar contaminação em diferentes pontos do Laboratório por DNA de alto peso molecular e em menor escala por *amplicons*, após um primeiro protocolo de limpeza e desinfecção evidenciou-se uma redução substancial desta contaminação, porém somente com um segundo processo de limpeza e desinfecção empregando um protocolo adaptado, foi possível eliminar completamente a contaminação em todas as áreas do Laboratório de Genética Forense.

Palavras-Chave: Contaminação, Biossegurança, Genética Forense, DNA, Perícia Criminal.

Abstract

Forensic DNA has been used in criminal identification since 1985, and since then it has been considered crucial for human identification in situations such as: identification of suspects in cases of sexual crimes, identification of unknown bodies, investigation of genetic link in cases of pregnancy resulting from rape, criminal paternity, among other applications. Since the 1970s, good biosafety practices have been increasingly disseminated and valued in laboratories for clinical analysis, experiments and forensics. In criminal investigation centers, these precautions are particularly important, seen as biological analyzes that can result in incrimination or dismissal of suspicions related to criminal cases. DNA tests at the Forensic Genetics Laboratories are particularly dangerous for contamination, degradation, code changes or breaking the chain of custody, as they can cause analytical errors that result in a high risk of procedural and judicial errors. The present study aimed to evaluate the occurrence of contamination by high molecular weight DNA, as well as amplified DNA (*amplicons*) in different areas and equipment of the Forensic Genetics Laboratory at POLITEC-AP. For this purpose, effective collections were made with the use of moistened swabs at different points and sample collection at different laboratory points, before and after the application of cleaning and decontamination protocols for areas and equipment examined. After the experiments carried out, it is possible to identify the contamination at different points in the DNA laboratory of high molecular weight and on a smaller scale of *amplicons*, after a first cleaning and decontamination protocol evidenced as a substantial reduction of this contamination, however cleaning and decontamination using an adapted protocol, it is possible to completely remove the contamination in all areas of the Laboratory of Forensic Genetics.

Keywords: Contamination, Biosafety, Forensic Genetics, DNA, Criminal Expertise.

1. INTRODUÇÃO

O exame de DNA vem sendo usado na identificação humana desde os anos 80. Em 1985 polimorfismos genéticos foram empregados pela primeira vez em um caso criminal na Inglaterra. Esta tecnologia pode auxiliar na identificação de suspeitos em casos de crimes sexuais, identificação de cadáveres desconhecidos utilizando diferentes tecidos, investigação de vínculo genético em casos de gravidez resultante de estupro (paternidade criminal), entre outras análises.

Várias medidas de segurança devem ser tomadas nos Laboratórios de Genética Forense com intuito de buscar resultados confiáveis e que possam embasar Laudos periciais robustos. Dentre estas medidas, um adequado gerenciamento dos processos e das amostras submetidas a exame, bem como as boas práticas de biossegurança durante os exames laboratoriais, em particular o uso dos EPIs (jalecos, luvas, máscaras, gorros, sapatos fechados), assim como utilização de **procedimentos operacionais padrão (POPs)** adequados, buscando evitar o risco de contaminações indesejadas que possam ocasionar alterações nos resultados dos laudos emitidos [1].

O progresso desta área das ciências forenses teve um grande marco em meados dos anos 80, quando as técnicas de investigação, fundamentadas na análise direta do ácido desoxirribonucleico (DNA), tornaram-se uma das mais poderosas ferramentas para a identificação humana e investigações criminais. Esta análise do DNA tem sido bastante empregada atualmente na solução de vários casos por meio da análise de polimorfismos genéticos, particularmente os STRs (*Short Tandem Repeats*), empregando a técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Esta técnica possibilita que o DNA de uma única célula possa ser amplificado *in vitro* e confrontado com amostras de referência.

Atualmente a identificação humana por análise forense do DNA tem sido aceita em vários processos judiciais em todo o mundo, o número de tribunais que têm aceitado evidências baseadas no DNA vem crescendo a cada dia. Porém para que se possa garantir a precisão dos resultados, regras rígidas de coleta e processamento das amostras devem ser adotadas [2].

A biossegurança é a aplicação do conhecimento, técnicas e equipamentos que tem a finalidade de prevenir a exposição do trabalhador a agentes potencialmente nocivos para a saúde ou para o meio ambiente. A boas práticas de biossegurança têm o papel de definir quais condições são consideradas adequadas para o manuseio, acondicionamento, conservação, transporte, etc. de agentes potencialmente infectantes.

Segundo Bonaccorso (2005), para obter resultados confiáveis nas análises realizadas em vestígios provenientes de um local de crime, deve-se atentar para o protocolo de coleta adotado, materiais empregados para o acondicionamento e a autorização legal daquele profissional em efetuar a coleta. Se estes pontos não forem observados, pode-se caracterizar a quebra da cadeia de custódia e consequente fragilização daquele vestígio como uma prova pericial válida, podendo ser questionado pela parte interessada (advogados, assistentes técnicos) ou mesmo pelo Juiz [3].

No processo de coleta e acondicionamento dos vestígios é necessário buscar a manutenção de sua integridade, evitando assim a contaminação por contato, por mistura ou por material biológico do coletor. Deve-se buscar um ambiente laboratorial adequado e adotar protocolos de limpeza e desinfecção que evitem ao máximo qualquer tipo de contaminante nas amostras analisadas. Uma das formas de se avaliar o risco de contaminação por DNA em um Laboratório de Genética Forense é efetuando coletas de amostras em diferentes ambientes e objetos e posteriormente submetê-las à amplificação de DNA por meio da técnica da PCR, promovendo um biomonitoramento laboratorial [4].

A PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi descrita por Kary Mullis que, em 1993, recebeu o prêmio Nobel em química por seu feito. Desde o início, a PCR foi reconhecida como uma solução para a análise genética de amostras envolvendo pequenas quantidades de material biológico, frequentemente observadas em casos criminais. [5,6 e 7].

1.1 Técnica da PCR

A PCR é uma técnica simples, extremamente sensível, pelos quais moléculas de DNA são amplificadas milhares de vezes de uma forma bastante rápida. Todo o procedimento é realizado *in vitro*, gerando DNA em quantidade suficiente para análises posteriores. A PCR é dividida em três etapas, a primeira é a desnaturação, que significa a quebra das pontes de hidrogênio e separação da dupla fita de DNA, ocorrendo em uma temperatura, de 95 a 100°C. Em seguida ocorre o anelamento que consiste na adição de iniciadores que irão se ligar à fita de DNA servindo como ponto de partida para a adição dos nucleotídeos complementares ao longo do resto da fita molde. Logo depois haverá a extensão do iniciador ao longo da sequência alvo de DNA que ocorre quando se adicionado os nucleotídeos com ajuda da enzima Taq DNA Polimerase. Esta etapa ocorrerá em uma temperatura de 70 a 75°C. Por fim haverá a formação de novas fitas de DNA a cada ciclo de amplificação [8].

1.2 Amostras biológicas de interesse forense

Qualquer tipo de tecido ou fluido biológico pode ser utilizado como fonte de DNA, uma vez que são formados por células. Nas células, o DNA de interesse forense encontra-se tanto no núcleo como nas mitocôndrias [9]. Os tipos de amostras mais comuns são sangue, sêmen, cabelo, saliva, urina, pele, unha, ossos, dentes, músculos. Como o DNA é uma amostra biológica, vários fatores contribuem para sua degradação, assim ele fica mais susceptível a contaminações tanto nos laboratórios como nos locais de crime.

A degradação biológica do DNA pode ser decorrente da ação de enzimas produzidas por fungos e bactérias, por causa da umidade e do calor. Embora o DNA tenha uma relativa resistência ao calor, existe o problema da contaminação, que é a deposição de material biológico exógeno na amostra. Assim deve-se ter total atenção sobre as amostras para que uma não contamine a outra, bem como não contamine o local de trabalho, podendo levar a erros nos resultados. Assim as amostras biológicas merecem total atenção devido a sua susceptibilidade à degradação e contaminação. Este controle é obtido mediante procedimentos de registro de do manuseio e da transmissão de posse da amostra entre os profissionais envolvidos. Este processo é denominado cadeia de custódia. [10]

1.3 Biossegurança aplicada em laboratórios forense

A evolução dos conhecimentos científicos e tecnológicos tem avançado cada vez mais, e com o passar dos anos as técnicas de engenharia genética e biologia molecular tem se destacado bastante, facilitando assim o avanço das ciências biológicas. Porém, observa-se como consequência desses avanços, a necessidade de buscar uma ampliação do rigor e melhoria dos procedimentos de biossegurança empregados nestes exames. Os preceitos de boas práticas laboratoriais e de biossegurança vem sendo cada vez mais discutido e valorizado no entendimento de profissionais que manipulam agentes biológicos, com intuito de prevenção dos riscos provenientes de suas atividades [11, 12].

Em meio a tantas possibilidades de contaminação que estão presentes no ambiente laboratorial, várias medidas de proteção devem ser tomadas para que seja diminuída a probabilidade de erros na rotina laboratorial, que venham a interferir nos resultados obtidos. Dentre estas medidas, vale a pena destacar a importância dos métodos de desinfecção e esterilização do ambiente laboratorial, que quando realizadas de maneira correta fornecem resultados confiáveis. [11].

A esterilização tem o papel de destruir ou remover todas as formas de multiplicação de

microrganismos incluindo esporos bacterianos, príons e toxinas que causam infecção ou intoxicação. A desinfecção visa excluir microrganismos, esporos bacterianos ou suas endotoxinas. O Ministério da Saúde permite que alguns princípios ativos sejam usados para o processo de desinfecção, sendo que os principais produtos utilizados são: aldeídos, fenóis quaternários de amônia, compostos orgânicos e inorgânicos liberadores de cloro ativo, iodo e derivados, álcoois e glicóis, biguanidas e outros. As normas de biossegurança abrangem todas as medidas que visam evitar riscos físicos (radiação ou temperatura), ergonômicos (posturais), químicos (substâncias tóxicas), biológicos (agentes infecciosos) e psicológicos como estresse. Todas essas ações são de grande importância para se garantir a saúde do trabalhador e a integridade laboratorial. No que se refere ao laboratório de DNA forense, essas medidas contribuem para minimizar a possibilidade de contaminação das amostras, fornecendo maior confiabilidade aos resultados obtidos [13].

Este estudo é resultado de um experimento que foi desenhado no ano de 2013, após a suspeita de que o Laboratório de Genética Forense da POLITEC-AP (LGF – POLITEC-AP) apresentava contaminação por DNA humano e possivelmente por DNA amplificado (*amplicons*), em diferentes ambientes e em alguns equipamentos deste laboratório. Através deste experimento se buscou a confirmação da existência de contaminação no laboratório, a intensidade desta possível contaminação, bem como, validar um protocolo de limpeza e desinfecção efetiva.

2. METODOLOGIA

2.1 Tipo de pesquisa e local do estudo

Esta pesquisa é um estudo experimental analítico, realizado no laboratório de Genética Forense da Polícia Técnico Científica do Amapá (POLITEC), na BR-156, KM 02, no bairro São Lázaro- Macapá/AP CEP: 68.090-130.

2.2 Etapas da pesquisa

Amostragem

Foram efetuadas duas amostragens de diferentes ambientes e equipamentos do LGF através da coleta de amostras empregando *swab* umedecido com água estéril sob diferentes superfícies (Tabelas 1 e 2). Em seguida as amostras foram armazenadas em microtubos de 1,5 ml acompanhados de 200 µl de água destilada. Foram selecionados quinze pontos de coleta (Tabela 01) para a amostragem 01 e dez pontos de coleta (Tabela 02) para a amostragem 02.

Após a realização da 1ª coleta em todos os pontos das duas amostragens, foi efetivada a limpeza e desinfecção das bancadas, maçanetas e equipamentos utilizando Hipoclorito de Sódio a 1% e Álcool etílico a 70%, juntamente com o auxílio de papel toalha. Em seguida foram coletadas as amostras em todos os pontos descritos nas tabelas 1 e 2.

Por fim, foi realizado uma segunda etapa de limpeza e desinfecção das bancadas, maçanetas e equipamentos utilizando Hipoclorito de Sódio a 2% e Álcool etílico a 70%. Na sequência foram coletadas novas 25 amostras e processadas para avaliar a presença de contaminação.

Tabela 1 – Locais e equipamentos do laboratório de Genética Forense no qual foram realizadas as coletas do material na primeira amostragem.

	LOCAL	SETOR NO LABORATÓRIO
1	Maçaneta	Sala de amplificação e sequenciamento
2	Maçaneta	Sala de extração
3	Termociclador	Sala de amplificação e sequenciamento
4	Sequenciador	Sala de amplificação e sequenciamento
5	Workstation UV	Sala de amplificação e sequenciamento
6	Centrífuga	Sala de Extração
7	Teclado e mouse	Sala de amplificação e sequenciamento
8	Pipeta 05 - 10µl	Sala de Extração
9	Pipeta 10 - 100µl	Sala de Extração
10	Pipeta 10 - 100µ	Sala de amplificação e sequenciamento
11	Pipeta 2 - 15µl	Sala de amplificação e sequenciamento
12	Bancada	Sala de amplificação e sequenciamento
13	Bancada	Sala de Extração
14	Maçaneta	Sala de Pré-PCR
15	Fluxo laminar	Sala de Pré-PCR

Tabela 2 – Locais e setores do laboratório de DNA forense no qual foram realizadas as coletas do material na segunda amostragem.

	LOCAL	SETOR NO LABORATÓRIO
1	Bancada	Sala de Extração
2	Pipeta de 200 µl	Sala de Extração
3	Cabine de fluxo Laminar 1	Sala de Extração
4	Cabine de fluxo Laminar 2	Sala de Pré-PCR
5	Centrífuga	Sala de Extração
6	Maçaneta	Sala de amplificação e sequenciamento
7	Termociclador	Sala de amplificação e sequenciamento

		sequenciamento
8	Pipeta de 2,5µl	Sala de amplificação e sequenciamento
9	Bancada da Capela	Sala de amplificação e sequenciamento
10	Botão do Sequenciador	Sala de amplificação e sequenciamento

Etapa de pós pcr

As amostras coletadas das duas amostragens foram submetidas a dois tratamentos, o primeiro foi a eletroforese capilar direta do material coletado com intuito de avaliar se havia contaminação por amplicons no Laboratório. No segundo tratamento as amostras coletadas foram previamente submetidas a PCR (Reação em cadeia da Polimerase) antes de serem submetidas à eletroforese capilar.

No segundo tratamento as amostras passaram por uma etapa de co-amplificação empregando 15 (Quinze) marcadores genéticos autossômicos (D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX, FGA e Amelogenina) pelo método de PCR, utilizando os kits Powerplex16 HS (Promega). Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese capilar em analisador genético ABI 3130 AvantMR (AppliedBiosystemsMR) e os perfis genéticos obtidos foram analisados, com o auxílio dos softwares ABI Prism 3100- Avant Data Collection v2.0, 3100 e GeneMapper ID v3.2 após leitura das fluorescências.

POP de limpeza e desinfecção

Depois de analisar os resultados do presente estudo, foi organizado um POP (Procedimento Operacional Padrão), descrevendo os procedimentos de limpeza e desinfecção no laboratório de DNA Forense da POLITEC- AP (Vide documento em anexo).

Interpretação dos resultados

As avaliações dos níveis de contaminação estão divididas em três categorias representados pela RFU – Unidade Relativa de Fluorescência, correspondentes aos sinais: (“+”, “++”, “+++”), onde: “+” até 1000 RFU, “++” de 1000 a 4000 RFU e “+++” de 4000 a 8000 RFU.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processamento das amostras coletadas e submissão das mesmas diretamente à eletroforese capilar, foi possível verificar que três das 25 amostras apresentavam contaminação por DNA amplificado (Tabela 03).

Outras 22 das 25 amostras apresentaram diferentes graus de contaminação por DNA de alto peso molecular e cuja contaminação só foi evidenciada após

submissão destas amostras à reação da PCR (Tabelas 03 e 04).

Tabela 3 – Resultados obtidos para a contaminação por DNA e DNA amplificado na primeira amostragem (utilizando 1µl da amostra).

	LOCAL	DNA	AMPLICON
1	Maçaneta	+++	-
2	Maçaneta	++	-
3	Termociclador (botões)	++	-
4	Workstation UV	+++	+
5	Sequenciador (botões)	++	-
6	Centrifuga (botões)	+	-
7	Teclado e mouse	+++	-
8	Pipeta 0,5 - 10µl	-	-
9	Pipeta 10 - 100µl	-	-
10	Pipeta 10 - 100µl	+++	-
11	Pipeta 2 - 15µl	++	+
12	Bancada (próximo ao workstation UV)	+	+
13	Bancada	-	-
14	Maçaneta	+	-
15	Fluxo laminar	++	-

Tabela 4 - Experimento para verificação de DNA exógeno nos locais coletados do laboratório de DNA Forense da POLITEC-AP (utilizando 1µl da amostra).

	LOCAL	DNA
1	Bancada	+
2	Pipeta de 200 µl	+
3	Cabine de fluxo Laminar 1	++
4	Cabine de fluxo Laminar 2	+
5	Centrifuga	+++
6	Maçaneta	+
7	Termociclador	++
8	Pipeta de 2,5µl	+++
9	Capela da Bancada	+++
10	Botão do Sequenciador	++

Conforme pode ser evidenciado nas tabelas 3 e 4, as três amostras que apresentaram contaminação por *amplicons* foram observadas na área de pós-PCR (sala de amplificação e sequenciamento), notadamente na workstation, que é a área de manipulação de DNA amplificado e onde se manuseia a escada alélica (ladder) e o padrão de peso molecular. Estes materiais são constituídos por DNA de baixo peso molecular e com grande quantidade de cópias (*amplicons*) e apresentam maior potencial de contaminação, devendo se ter uma atenção especial para a desinfecção destes ambientes e equipamentos.

A contaminação por DNA de alto peso molecular, resultante do manuseio de amostras e de aerossóis produzidos durante as etapas de extração do DNA e pré-PCR, foram observados em maior ou menor grau em 22 das 25 amostras coletadas. Embora o risco de uma contaminação por DNA de alto peso molecular seja menor que o de *amplicons*, deve-se buscar meios para eliminar este tipo de contaminação, pois podem levar a problemas na interpretação dos resultados, particularmente em amostras questionadas com pequena concentração de DNA (*low-copy-number*).

Após a realização do procedimento de limpeza no laboratório de DNA forense baseado no POP de limpeza e desinfecção (vide POP em anexo), tanto nos equipamentos como nas diferentes áreas, foi realizado outro experimento de PCR, onde foi feito a coleta nos mesmos 25 pontos já especificados anteriormente. Foram utilizados para este experimento 1µ da amostra. Não foram mais observadas contaminações por amplicons entre as 25 amostras coletadas (Tabelas 05 e 06).

Não obstante a redução significativa da contaminação por DNA de alto peso molecular, ainda foi evidenciado contaminação em 10 das 25 amostras examinadas, conforme pode ser avaliado nas tabelas 05 e 06.

Tabela 5 - Experimento após limpeza do laboratório de DNA Forense da POLITEC-AP baseado no POP (Anexo 1) de limpeza e desinfecção.

	LOCAL	DNA	AMPLICON
1	Maçaneta	+	-
2	Maçaneta	-	-
3	Termociclador (botões)	+	-
4	Workstation UV	+	-
5	Sequenciador (botões)	+	-
6	Centrifuga (botões)	-	-
7	Teclado e mouse	++	-
8	Pipeta 0,5 - 10µl	-	-
9	Pipeta 10 - 100µl	-	-
10	Pipeta 10 - 100µl	++	-
11	Pipeta 2 - 15µl	++	-
12	Bancada (próximo ao workstation UV)	-	-
13	Bancada	-	-
14	Maçaneta	+	-
15	Fluxo laminar	-	-
16	Controle negativo - água	-	-
17	Controle negativo - água	-	-
18	Controle negativo - swab	-	-
19	Controle negativo - swab	-	-

Tabela 6 - Experimento após limpeza do laboratório de DNA Forense da POLITEC-AP baseado no POP (Anexo 1) de limpeza e desinfecção.

	<i>LOCAL</i>	<i>DNA</i>
1	Bancada	-
2	Pipeta de 200 µl	+
3	Cabine de fluxo Laminar 1	-
4	Cabine de fluxo Laminar 2	-
5	Centrífuga	-
6	Maçaneta	-
7	Termociclador	+
8	Pipeta de 2,5µl	-
9	Bancada da Capela	-
10	Botão do Sequenciador	-

O hipoclorito de sódio irá atuar de forma inespecífica com os ácidos nucleicos, onde as bases e os nucleotídeos livres são destruídos, ocorrendo assim a desestabilização e a quebra da hélice do DNA. Desta forma foi possível evidenciar que o procedimento de limpeza e desinfecção aplicado foi eficiente em diminuir ou eliminar a contaminação observada nos pontos avaliados no experimento (Figuras 01, 02 e 03). Em 15 das 25 amostras, a contaminação não foi detectada nos eletroferogramas, nas demais houve uma redução significativa da contaminação [14].

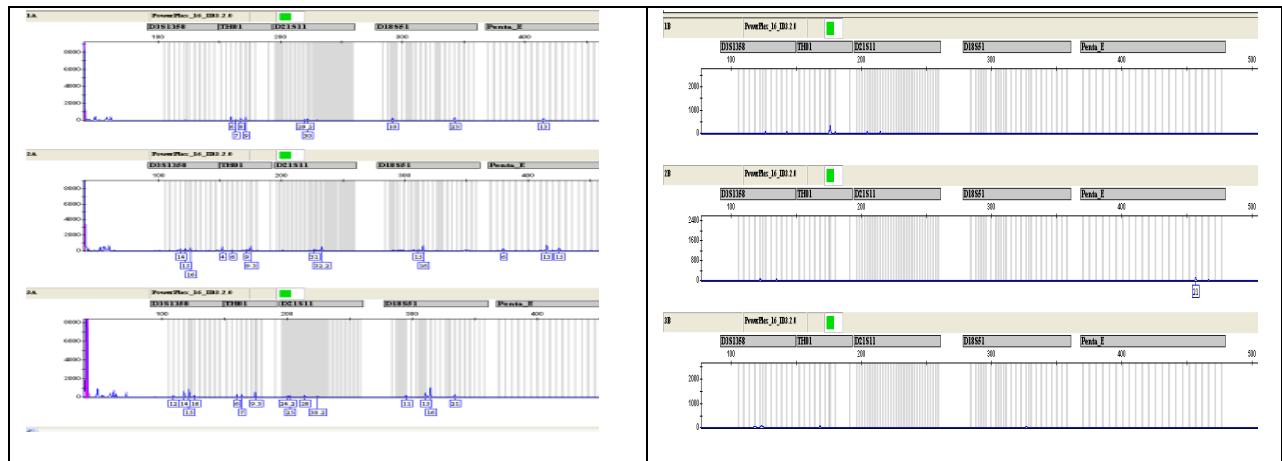


Figura 1 - Comparação dos eletroferogramas obtidos em três amostras após amplificação antes e depois da aplicação do POP de limpeza e esterilização.

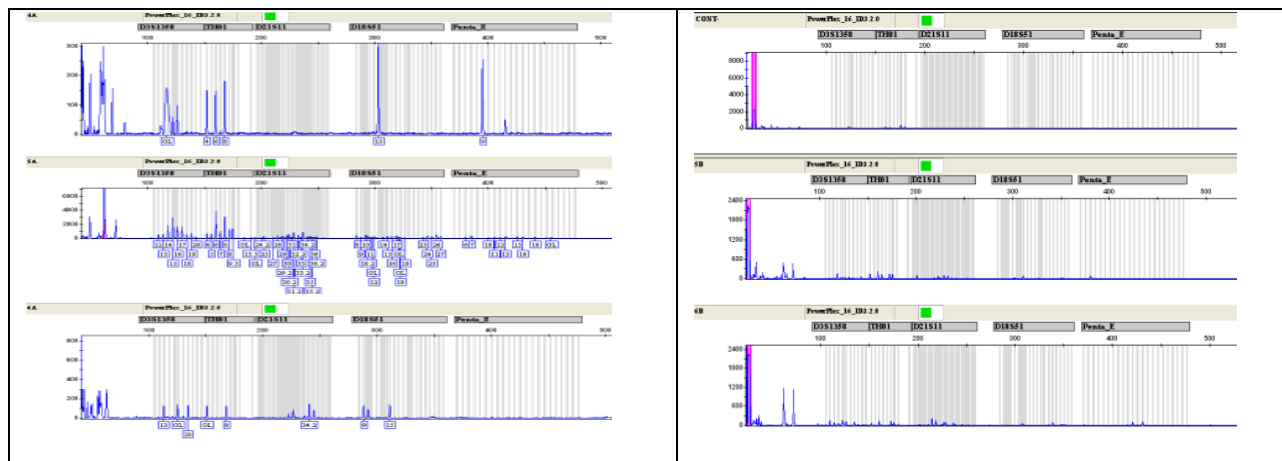


Figura 2 - Comparação dos eletroferogramas obtidos em três amostras após amplificação antes e depois da aplicação do POP de limpeza e esterilização.

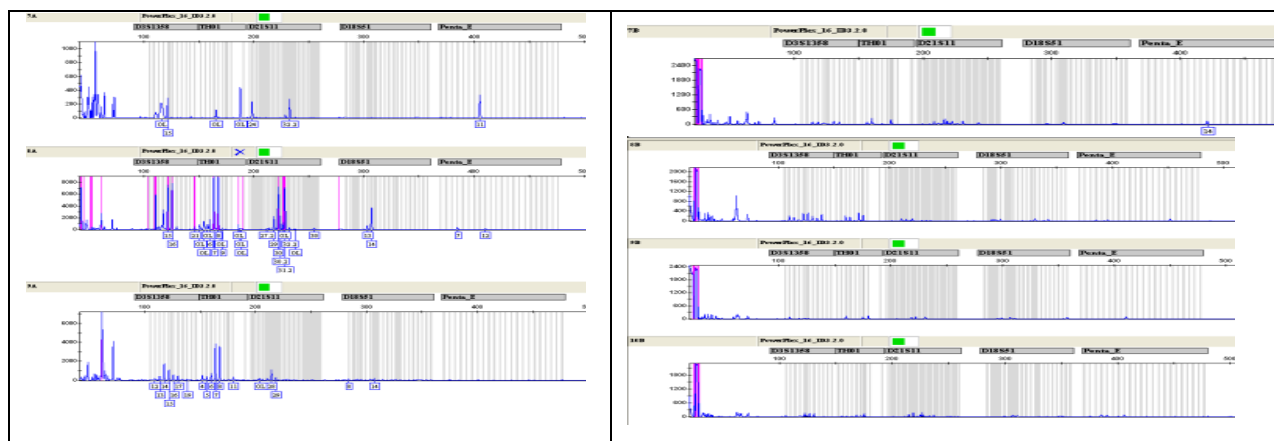


Figura 3 - Comparação dos eletroferogramas obtidos em três amostras após amplificação antes e depois da aplicação do POP de limpeza e esterilização.

Como ainda restava algumas amostras com traços de contaminação, mesmo após o procedimento de limpeza, efetuou-se uma nova etapa de limpeza e desinfecção, utilizando Hipoclorito de Sódio a 2% e Álcool etílico a 70%. Além disso, os equipamentos móveis, tais como as pipetas, foram submetidas, adicionalmente, a um banho com Luz ultravioleta por 30 minutos. Após esta segunda etapa de limpeza e desinfecção, e nova coleta e processamento, nenhuma das 25 amostras apresentava traços de contaminação, demonstrando a efetividade do protocolo utilizado.

Este experimento demonstrou a necessidade de se manter uma rotina correta de biossegurança nos Laboratórios de Genética Forense, empregando protocolos adequados de limpeza e desinfecção, realização periódica de experimentos de biomonitoramento, participação de exercícios de proficiência e submissão do Laboratório a processos de auditoria interna e externa [15].

4. CONCLUSÃO

Com os resultados deste trabalho observa-se a importância em ter a devida conduta em relação a biossegurança nos Laboratórios de Genética Forense. Uma parcela significativa das amostras coletadas apresentava algum tipo de contaminação por DNA exógeno ou *amplicons*, e este fato não deve ser tolerado,

pois pode contribuir para erros na interpretação dos perfis genéticos analisados. Esta contaminação pode ser evitada, com boas práticas de biossegurança, uso dos EPIs, trocar de luvas no manuseio das amostras ou ao manusear os equipamentos, além da implementação de uma rotina diária de limpeza e desinfecção dos ambientes e equipamentos. Sugere-se, ainda, que os Laboratórios de Genética Forense promovam estes biomonitoramentos periodicamente, participem de exercícios inter-laboratoriais e de proficiência, bem como, se submetam a auditorias internas e externas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio da Polícia Técnico-Científica do Amapá pelo financiamento do presente estudo e por permitir a divulgação dos resultados obtidos, tendo em vista que poderão ser úteis para outros Laboratórios de Genética Forense no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] G.M. Moore; A.R. Robertson. Suicide attempts by firearms and by leaping from heights: a comparative study of survivors. *Am. J. Psychiatry* **156**: 1425-1431 (1999).
- [2] DOLINSKY, L.C.; PEREIRA, L.M.C.V. DNA Forense Artigo de Revisão. *Saúde e Ambiente em Revista*, Duque de Caxias, 2007.
- [3] BONACCORSO, N.S. **Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes**. Dissertação (Mestrado de Direito da Faculdade de Direito da USP), São Paulo, 2005.

- [4] PACHECO, A. C. **Emprego de miniSTRs “non-CODIS” em amostras biológicas de DNA forense.** Dissertação (Mestrado USP) - Instituto Butantan/IPT, São Paulo, 2010.
- [5] AMABIS, J.M.; MARHO, G. R. Identificando Pessoas Pelo DNA: Uma simulação. **Folha de São Paulo**, 1995. Disponível em: < <http://www.folha.uol.com.br/>>. Acesso em: 14 set. 2016.
- [6] ALVES, E.G.R. **Direitas Fundamentais Limitações Necessárias:** Aplicação do Exame Pericial do DNA Para a Identificação de Pessoas. Brasília - Fundação Escola Superior do Ministério Público do Distrito Federal e Territórios, 2009.
- [7] JEFFREYS, A.J; WILSON, V.; NEUMANN, R.; KEYTE, J. US National Library of Medicine National Institutes of health- PUBMED. Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction: towards DNA fingerprinting of single cells. 1988
- [8] SILVA R. F.; PEREIRA, S.D.R.; DURAGE, J.E.; BARCELOS, R.S.S.; GODINHO, N.M.O.; SOUTO, R. Genetics and molecular biology: a literature review of forensic dentistry application. **Braz. J. Si.**, Campinas, 2007.
- [9] BEZZERRA, C.C. Exame de DNA: Técnicas de Coleta em Locais de Crimes. **Revista Perícia Federal**, Brasília, 2004.
- [10] SILVA, L.A.F.; PASSOS, N.S. **DNA Forense-coletas de amostras biológicas em locais de crimes para estudo do DNA.** Maceió: Editora UFAL, 2006.
- [11] MASTROENI, M.F.; **Biossegurança aplicada a laboratórios e serviços de saúde-2 Edição.** Edição: Atheneu, 2005.
- [12] ALMEIDA, M.L.B. **Equipamentos de Biossegurança.** In: Manual de Biossegurança. São Paulo: Editora USP, 2000.
- [13] SEQUEIRA, E.D.D **Saúde ocupacional e medidas de biossegurança.** In: Martins MA. Manual de infecções hospitalares. 2ªed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2001. P 643-73.
- [14] NASCIMENTO, I. L.O.; SCHAEER, R. E.; MEYER, R.; FREIRE, S. M. **Manual de Biossegurança:** Biossegurança no Laboratório de Diagnóstico e de Pesquisa, São Paulo, 2001.
- [15] DIAS-FILHO, C.R.; RODRIGUES, E.L.; MALAGHINI, M.; FRANCEZ, P.A.C.; GARRIDO, R.G. Introdução à Genética Forense, 1ª edição, Millennium Editora, Campinas, 614pp, 2019.

	Procedimento Operacional Padrão (POP)		
Documento nº: POP 001	Data emissão	Data vigência	Versão nº 01
ÁREA EMITENTE: Laboratório de Genética Forense			
ASSUNTO: LIMPEZA E DESINFECÇÃO NO LABORATÓRIO DE GENÉTICA FORENSE			

OBJETIVO

Estabelecer o procedimento correto no processo de limpezas e desinfecção no Laboratório de Genética Forense, evitando contaminação nas áreas do laboratório.

APLICAÇÃO

Este POP aplica-se aos funcionários responsáveis pela limpeza do Laboratório de Genética Forense como também aos peritos do laboratório.

DIVULGAÇÃO

Este POP é divulgado impresso em forma de livro, estando disponível á todos os servidores que atuarem no laboratório de Genética Forense da POLITEC.

EMIÇÃO, REVISÃO E APROVAÇÃO

Este pop foi:

- Elaborado por:
- Revisado por:
- Aprovado por:
- Emitido por:

HISTÓRICO

VERSÃO	DATA	PÁGINA	NATUREZA DA MUDANÇA

1- INTRODUÇÃO

O processo da limpeza inclui uma etapa de limpeza seca, sendo realizada diariamente e uma etapa de limpeza úmida, sendo realizada semanalmente. O processo de desinfecção envolve o uso de hipoclorito de sódio que reduza ou elimine os patógenos, DNA de outras análises, DNases e RNases.

2- MATERIAL DE CONSUMO

- Hipoclorito de sódio 2%
- Álcool etílico 70%

3- PROCEDIMENTOS

Limpeza seca:

- Diariamente as bancadas devem ser limpas com hipoclorito de sódio a 2%, posteriormente devem ser limpas com álcool etílico 70%, antes e após as atividades a fim de eliminar fisicamente os materiais orgânicos. Não deve ser utilizado álcool nas superfícies de acrílico e não deve ser utilizado por hipoclorito de sódio nas superfícies em inox, deve-se dar preferência para desinfetantes enzimáticos neste tipo de material;

Limpeza úmida:

- Semanalmente deve ser feito a lavagem de todo o laboratório, sendo incluídos o piso, as bancadas e janelas, além dos equipamentos.

- As janelas devem ser limpas semanalmente, utilizando hipoclorito de sódio a 2%, e logo após limpar com álcool etílico 70%. Os equipamentos devem ser limpos com álcool etílico 70%;

- No piso devem utilizar dois copos de 150 ml de hipoclorito de sódio para um balde de água;

Observações:

- A área com DNA não amplificado não deve receber qualquer resíduo proveniente da área de DNA amplificado. Desta forma, deve-se limpar, primeiramente, a área de DNA não amplificado para, só então, limpar a sala de amplificação e sequenciamento.

- O pano utilizado na sala de amplificação e sequenciamento deve ser limpo com hipoclorito de sódio (água sanitária) antes da próxima limpeza.

4- EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

- Luvas e Jaleco