

MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE SÊMEN NA APURAÇÃO DE CRIMES SEXUAIS

Eniffer Durão Rigo¹, Sara Santos de Assis¹, Thais Pereira Damasceno¹, Wedson Correa dos Santos²

1- Acadêmicas do Curso de Biomedicina

2- Mestre em Ciências Farmacêuticas – Docente Multivix – Vitória

RESUMO

Os crimes sexuais compõe um perigoso problema de saúde pública a ser enfrentado pela sociedade, levando em conta que os índices de impunidade são altos e a ocorrência real dos casos é de difícil estimativa. Em casos de hipótese de estupro, é fundamental a realização de exames periciais para comprovar o ato do abuso sexual com penetração, sendo capaz de aplicar diferentes técnicas laboratoriais para a identificação de sêmen. Objetivo: analisar se a partir da identificação do sêmen é possível apurar os casos relacionados aos crimes sexuais. Método: Trata-se de um estudo de revisão de literatura, realizado no período de março a novembro de 2022, nas bases de dados Google Acadêmico, Pubmed e BVS. Resultados: o estudo especulativo torna possível a identificação e coleta do sêmen; teste presuntivo que avalia a constituição e detecta a fosfatase ácida, enzima exclusiva do líquido seminal; teste confirmatório como a microscopia para avaliação de espermatozoide e, em casos de inexistência de espermatozoide o teste de Antígeno prostático específico (PSA) possibilita a detecção espermática; e por fim, a identificação individual que permite a partir do DNA encontrar o agressor por meio da biologia molecular.

Palavras-Chave: marcadores de crimes sexuais; sêmen; provas; perícia.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (2013), a violência e/ou abuso sexual inclui inúmeros tipos de atos, compreendendo tentar ou forçar relações sexuais, contato sexual sem consentimento, forçar menores de idade ou adultos a participar de um ato sexual contra a vontade, comentários sexuais indesejados, mutilação genital e prostituição forçada (BRASIL, 1940).

Nessa perspectiva, entre março de 2020 a dezembro de 2021, foram registrados um total de 56.098 casos de estupros, incluindo vulneráveis, apenas do

gênero feminino no Brasil, resultando em 1 estupro a cada 10 minutos (BARROS et al., 2022). O índice médio de estupro foi de 51,8 para cada 100.000 habitantes, ao qual estados como Rondônia (102,3), Amapá (107,7), Mato Grosso do Sul (129,7) e Roraima (154,6) tiveram taxas superiores a cem estupros para cada cem mil habitantes (BARROS et al., 2022).

A violação sexual é um crime em que não há concordância ou consentimento da parte da outra pessoa, vários casos podem ocorrer o não reconhecimento do agressor pela vítima (BRASIL, 1940). Ainda assim, Decanine (2016) relata que em casos em que a vítima consegue identificar o agressor, se não existir prova alguma que comprove a acusação e o mesmo negar a autoria do crime, ele é inocentado. Por essa razão, a identificação de esperma é uma das evidências que podem apurar e comprovar casos de crimes sexuais quando esses vestígios são encontrados (MAUCK, 2009).

Para a identificação dessas ações criminosas e até mesmo para o descobrimento do autor do crime, entende-se que a atuação da perícia criminal na realização de exames que investigam os vestígios deixado pelo criminoso, se torna indispensável (ABRAHÃO, 2014). Os estudos que foram realizados sobre a perícia criminal, certificam que os agressores de crimes sexuais possuem agilidades e fundamentos específicos oportunos para seu domínio, como principalmente na manipulação das vítimas (FORTUNE, 2015).

Assim, a análise dos líquidos seminais, sua presença, pode auxiliar na apuração desses crimes, delimitando o tema dessa pesquisa. Ainda, a problemática, se a identificação de sêmen é um teste importante para apuração de crimes sexuais? Nos dias de hoje, existem diversas técnicas que a perícia utiliza para detectar de forma individual os suspeitos de crimes sexuais (MAUCK, 2009). Um dos métodos para que ocorra essa identificação individual é a técnica de análise de DNA, visto que, o perfil genético pode ser definido com base na tipagem de DNA do sêmen (MAUCK, 2009).

Dessa forma, o objetivo geral do presente estudo é avaliar os principais métodos laboratoriais para identificação do sêmen e na apuração de casos relacionados aos crimes sexuais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PERÍCIA CRIMINAL

Segundo Ferreira (2019), a perícia é um meio de confirmação que traz informações formada por conhecimentos técnicos, científicos e artísticos, fundamentos esses que uma pessoa comum não possui.

Em casos de ocorrência, é indispensável uma análise criminal para determinado crime, é através da investigação que se faz a possível comprovação do caso, as provas obtidas no decorrer das investigações que revelam a possível verdade sobre o que ocorreu no momento do crime (GARCIA, 2019).

Desse modo, de acordo com Tourinho Filho (2013) provar é esclarecer a existência da verdade e as provas são esse meio. Ainda, Noronha (2003) expõe que provar é proporcionar o conhecimento do fato, contendo para si e para o outro, a convicção da substância ou a verdade do fato.

Sendo assim, para que se alcance a verdade sobre a ocorrência do crime que está sendo investigado, a prova é o melhor meio possível. Entretanto, a veracidade de uma ocorrência pode ser esclarecida através de algo material ou não (FERREIRA, 2019).

O perito é encarregado de executar os estudos técnicos-científicos com o intuito de descrever a dinâmica dos casos, desvendar a autoria do crime e investigar os pontos e objetos envolvidos (RODRIGUES; SILVA; TRUZZI, 2010; PRADO, 2015). Geralmente, a investigação se dá início no ambiente que aconteceu o delito e nos vestígios conectados ao crime (VARGAS; KRIEGER, 2014; PRADO, 2015). Em vista disso, a investigação é analisada de forma criteriosa e com base em estudos com metodologia científica, uma vez que os resultados alcançados pelos peritos não devem ser distorcidos ou manipulados (PRADO, 2015; SALA, 2018).

Existe uma grande dedicação da parte dos peritos para que os crimes possam ser solucionados o mais rápido possível (FERREIRA, 2019). O trabalho exige sempre muito cuidado, atenção e empenho. Além disso, os peritos necessitam estar sempre se capacitando para acompanhar o avanço dos crimes devido as suas modernizações (SALA, 2018; FERREIRA, 2019).

No ambiente judiciário existe uma comprovação de que as provas materiais necessitam partir de um princípio científico que lhes deem segurança e confiabilidade suficiente (RODRIGUES; SILVA; TRUZZI, 2010; PRADO, 2015). Necessitam por si só o uso de métodos e procedimentos provenientes da química, física e biologia, os exames como de materiais biológicos, especificação de substâncias ilícitas, a

comparação de padrões de impressão digital e projetáveis e a determinação de dinâmicas de acidentes de trânsito (PRADO, 2015).

O trabalho da perícia criminal é essencial para sentença judicial se basear em parâmetros científicos e objetivos (PRADO, 2015). Da mesma forma, a perícia criminal também é fundamental para defesa dos direitos e liberdade das pessoas. Posto isso, o exame pericial precisa ser realizado de forma correta não meramente para comprovação de uma ação criminosa, mas também para evitar alto índices da criminalidade e impunidade (PRADO, 2015; SALA, 2018).

O estudo forense não é um órgão que defende ou acusa um cidadão, e sim um órgão que está a todo momento buscando a verdade (RODRIGUES; SILVA; TRUZZI, 2010). Logo, a investigação nada mais é que a busca pela verdade por trás dos fatos, em razão disso, o perito precisa realizar de forma cuidadosa a investigação do caso para que ocorra uma sentença justa (FERREIRA, 2019).

2.2 COMPOSIÇÃO DO SÊMEN

O sêmen é um líquido viscoso excretado pelo sexo masculino no decorrer da ejaculação, formado por espermatozoides, glândulas do sistema genital masculino e da vesícula seminal (TAMAI, 2015). O sêmen quando encontrado em sua constituição normal, tem aspecto de um líquido branco opalino e suavemente alcalino.

De acordo com Tamai (2015), Testículos, Epidídimos, Vesículas seminais, Próstatas e Glândulas bulbouretrais são estruturas que estão diretamente envolvidas em sua construção, como exposto na tabela 1:

Tabela 1 –Estruturas do sêmen

ESTRUTURAS DO SÊMEN	DEFINIÇÃO
Testículos	Fazem a síntese de hormônios e espermatozoides, sendo fundamentais para a reprodução.
Epidídimos	São responsáveis pelo armazenamento e pelo processo de amadurecimento dos espermatozoides que foram produzidos nos testículos.
Vesículas seminais	Produzem o líquido seminal, que formam a maior parte do esperma. Elas estão situadas no fundo da bexiga e o reto.
Próstata	É uma glândula localizada abaixo da bexiga urinária e que está ligada às vesículas seminais e a uretra, sendo responsável pela produção de uma pequena parte do sêmen.
Glândulas bulbouretrais	Localizadas na porção inferior da próstata, ao passar pela uretra o seu líquido bulbouretral é adicionado ao sêmen. O líquido gerado por essa glândula é arremessado na uretra para lubrificar e proteger os espermatozoides ao longo da ejaculação.

Fonte: Produzido pelo autor

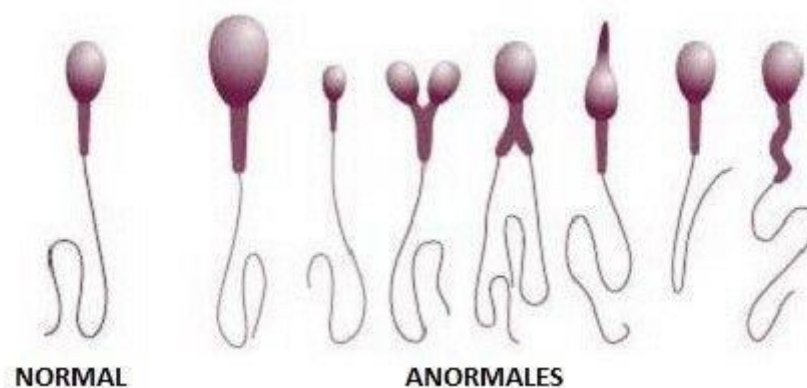
O sêmen quando examinado minuciosamente, pode ser identificado úmido ou seco, em indivíduos ou cadáveres e em lugares diversificados, como por exemplo, ânus, vagina, pele, peças íntimas, toalhas de banho, roupas de cama ou demais peças (FIODERLICE, 2014).

Com volume normal de 2ml a 5ml, geralmente o sêmen se torna plenamente liquefeito 30 minutos após a ejaculação (MONTROYA, 2009; TAMAI, 2015). O seu pH é ligeiramente alcalino entre 7,2 a 8,2, esse pH pode ser alterado pela relação entre a quantidade de líquidos prostáticos e líquido seminal. Se a relação entre líquido prostático e líquido seminal for normalmente elevada, o pH poderá ser mais ácido (TAMAI, 2015).

Segundo Tamai (2015), embora a fertilização seja levada a efeito por um único espermatozoide, a quantidade de espermatozoides no sêmen é um dado importante para avaliar a fertilidade masculina. Em geral, homens férteis apresentam de 20 a 160 milhões de espermatozoides por ml de sêmen. Homens com menos de 10 milhões de espermatozoides por ml, podem ter a fertilidade comprometida (TAMAI, 2015).

Os espermatozoides medem de 40 a 70 milésimos e são constituídos por três partes: a cabeça, a cauda e peça intermediária (MONTROYA, 2009; TAMAI, 2015). Contudo, existem fatores que podem acarretar em modificações estruturais do sistema reprodutor masculino. Como resultado, conseqüentemente essas modificações acabam influenciando na formação dos espermatozoides (figura 1) ou até mesmo do próprio sêmen (TAMAI, 2015).

Figura 1 - Morfologia dos espermatozoides



Fonte: TAMAI, 2015.

As estruturas do sistema reprodutor masculino, como testículos, epidídimo, canais deferentes, vesículas seminais, próstata, pênis e escroto, precisam de um total

desempenho para constituir um sêmen saudável e que seja capaz de transportar os espermatozoides (TAMAI, 2015).

A produção do esperma no testículo, espermatogênese, no homem adulto, ocorre de forma constante (TAMAI, 2015). Porém, para o homem ser fértil, precisa ter a capacidade de produzir uma quantidade apropriada de sêmen para conseguir afetar a sua reprodução (MONTROYA, 2009; TAMAI, 2015).

2.3 IDENTIFICAÇÃO DO SÊMEN NA APURAÇÃO DE CRIMES SEXUAIS

O esperma é considerado um indicador muito relevante em casos de crimes sexuais (TAMAI, 2015; SAKURADA; WATANABE; AKUTSU, 2020), sendo capaz de ser identificado no exame da própria vítima ou em pontos que são apontados como importantes (ESPÍNDULA, 2006; TAMAI, 2015). Sendo assim, através da investigação realizada pela perícia, os vestígios de esperma deixado pelo autor do crime podem ser encontrados em diversos lugares, como em manchas nas roupas, tapetes, travesseiros, assentos, lençóis, objetos, materiais, no piso, móveis, entre outros (ESPÍNDULA, 2006).

Segundo Abrahão (2014), quando se trata de fluidos biológicos deixado exatamente na vítima ou no local onde ocorreu o crime, se utiliza um swab ou diferentes tipos de suportes perante a forma de manchas para a pesquisa desses vestígios.

Se tratando de manchas, Guilherme Osvaldo Arbenz (1988, p. 57) diz que “manchas são sinais deixados pela deposição ou impugnação de substâncias sólidas, líquidas e eventualmente gasosas, de origem animal, vegetal ou mineral, humanas ou não, num suporte de qualquer espécie”. Dessa forma, compreende-se que para formação de provas contra o agressor, as manchas são vestígios de suma importância (SAKURADA; WATANABE; AKUTSU, 2020).

Após a amostra de prováveis evidências do local do crime ser coletada, se faz necessário o cuidado e a proteção dessas amostras durante todo o transporte, uma vez que os exames que se realizam ao sêmen, são baseados basicamente na detecção de espermatozoides (SILVA; PASSOS, 2006; DOREA; STUMVOLL; QUINTELA, 2010). Além disso, muitos peritos da área acreditam que somente a presença do espermatozoide completo seja o meio de comprovação (SOUSA; QUEIROZ, 2012).

Além de comprovar o contato sexual com os estudos dos líquidos seminais que são encontrados diretamente na vítima ou no local em que ocorreu o crime, os estudos desses fluidos têm por finalidade individualizar a evidência biológica para afrontar prováveis suspeitos e identificar o autor do crime (GREGÓRIO et al., 2017).

Além da coleta realizada na cavidade vaginal, a obtenção de amostras na região bucal, na cavidade retal, na pele e nas mamas também são essenciais para a confirmação de contato sexual. Além disto, se faz necessário a coleta na região peniana dos suspeitos (ABRAHÃO, 2014).

Sabe-se que o sêmen contém milhões de células espermáticas, e antes de secar, o seu odor é muito específico. Porém, depois que seca, os espermatozoides morrem, apresentando uma tonalidade de branco acinzentada ou amarelada e o seu odor característico desaparece (GUZICK, et al, 2001).

De acordo com Espíndula (2006), o esperma pode estar submetido a análises forenses que são essenciais para descoberta da autoria do crime. As análises forenses são: o reconhecimento do sêmen, a definição sobre a sua origem (se realmente é humana), reconhecimento do modo da ejaculação (interna ou externa), a detecção do tipo sanguíneo, as análises genéticas (DNA), entre outros.

As técnicas que são utilizadas pela perícia, como esfregaço vaginal, uso de fluorescência, tecnologia a laser, separação de espermatozoides e células epiteliais, extração de DNA e análise de DNA, são métodos indispensáveis para reconhecer o possível agressor (SIMMONS et al., 2014; MAYTA et al., 2010; KIM et al., 2020).

O reconhecimento do DNA humano é muito importante em casos de apuração e resolução de violência sexual. Dessa forma, o DNA forense é uma tecnologia e uma aplicação da ciência forense que também atua nas ocorrências desses crimes. Além do mais, há cuidados que precisam ser respeitados na hora da coleta para evitar qualquer tipo de contaminação, como a utilização das luvas descartáveis, gorros cirúrgicos e máscara (ABRAHÃO, 2014).

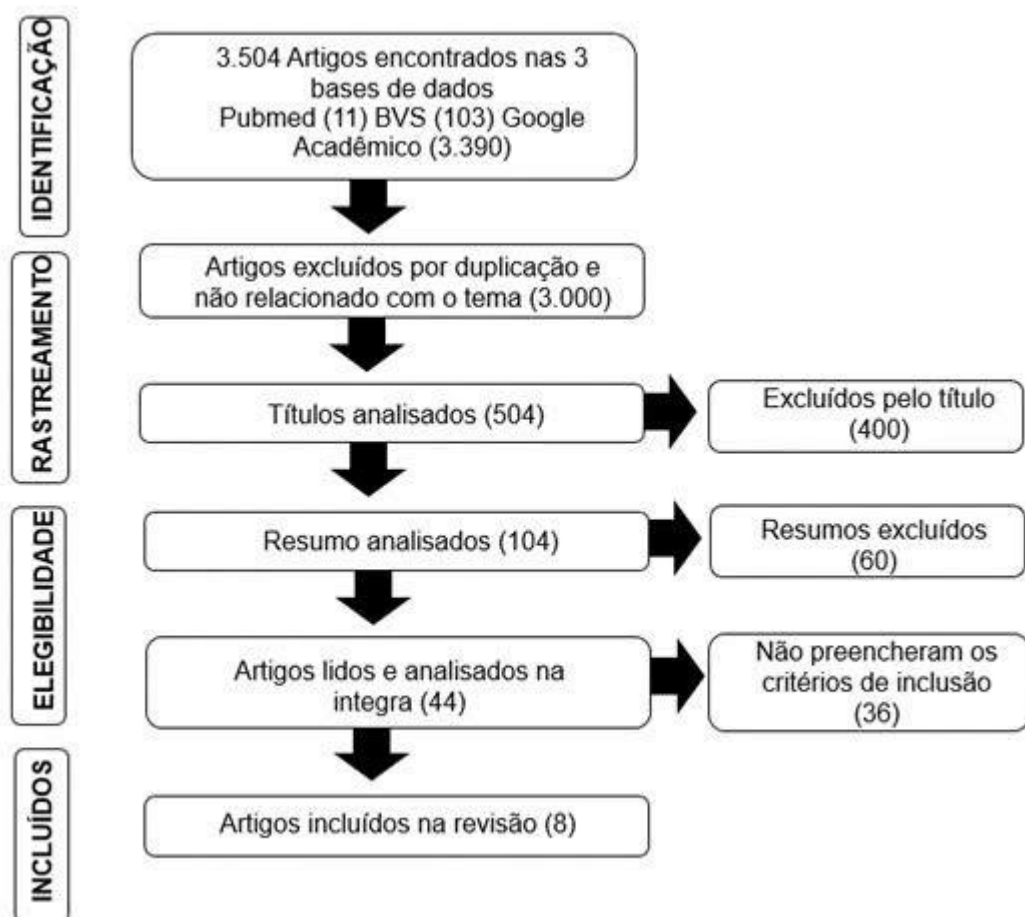
Através dos vestígios encontrados no local do crime, o DNA pode ser extraído e utilizado para apontar o perfil genético do agressor, determinando algum tipo de ligação entre a pessoa e o local em que ocorreu o crime. O DNA por ser uma herança única para cada indivíduo e está presente em fluidos biológicos como o sêmen, consequentemente colabora para uma prova individual e coopera com a apuração e as investigações dos crimes sexuais (KOCH; ANDRADE, 2008).

3. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão sistemática bibliográfica, por meio de pesquisa qualitativa. Baseando-se em coleta de dados, em períodos que variam de 2004 a 2022 por intermédio de revisão sistemática bibliográfica utilizando as seguintes bases de dados eletrônicas: Google Acadêmico, Pubmed, BVS. As palavras chaves utilizadas para realizar a busca serão: crimes sexuais, sêmen, provas, perícia.

O processo empregado para execução deste estudo será inicialmente de uma leitura exploratória de materiais há cerca do tema. Após esse processo, uma seleção desses materiais, deixando apenas os que mais se adequam a pesquisa sugerida. Em seguida será realizado uma leitura analítica, que consiste em ler e entender sobre o que foi pesquisado. E, por fim, selecionar as obras.

FIGURA 2 – Fluxograma da busca de artigos e critérios de seleção



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra do presente estudo foi composta por 8 artigos científicos, que apresentaram resultados relacionados as técnicas laboratoriais para a identificação

de sêmen a fim de comprovar crimes sexuais, conforme a tabela 2 apresentado abaixo:

Tabela 2 – Artigos originais publicados nas bases de dados Google Acadêmico, Pubmed, BVS segundo ano de publicação, autores, objetivos, método e principais resultados.

Ano	Autores	Objetivos	Método	Principais Resultados	
2018	HERMAN, Y; FEINE, I; GAFNY, R.	Verificar como o teste de fosfatase ácida pode ser associado com o teste de folha Phadebas - amido para identificação de saliva.	Execução de ensaio bioquímico de fosfatase ácida em folhas de Phadeba®	A folha de Phadebas permite a comprovação do sêmen mesmo que este esteja diluído em saliva 1:50, obtendo perfil de DNA.	
2021	NITTIS, M. et al	Examinar as diferenças qualitativas e quantitativas entre esfregaços realizados por examinadores forenses e esfregaços preparados posteriormente pela equipe do laboratório forense.	as e seguido de microscopia.	Esfregaço corado com coloração de "árvore de natal"	O esfregaço realizado pelo examinador forense terá uma maior concentração de espermatozoides e maior porcentagem de células espermáticas intactas, ao invés do esfregaço preparado posteriormente por um técnico de laboratório, evitando assim, alterações que podem levar a uma perda nas concentrações de DNA.
2020	KIM, J. Y; et al	Criar um método de isolamento que possa ser aplicado no campo forense para separar espermatozoides de vestígios seminais, a fim de facilitar a identificação genética.	Coloração de células espermatocíticas com reagentes hematoxilina e nigrosina, seguida pela técnica de extração diferencial de espermatozoides.	O método diminui a perda de espermatozoides, permitindo a visualização das células coradas durante o diferencial procedimento de extração, auxiliando na consecutiva análise genética.	
2018	SUTTIPASIT, P; WONGWITTAYAP ANICH, S.	Efetuar o teste de esperma, PSA e Semenogelina, em amostras de casos a fim de determinar a persistência de cada marcador, comparar o desempenho quando os testes de esperma são positivos ou negativo ao longo do tempo, definir a	Validação do kit de teste de Sg, o Rapid Stain Identification (RSID™) Semen Field Test, com sensibilidade Sg seminal I e II alternando de 4 a 68 ng/mL, comparado com kit teste de PSA ABACard™, com uma sensibilidade	O teste de esperma deve ser o primeiro a ser realizado, caso não encontre, o teste de Sg é mais adequado que o teste de PSA só pode ser executado até 72 h após a agressão. O teste Sg de espécimes forenses é mais confiável ao invés do PSA teste, com base em sua taxa de detecção e persistência.	

		ordem de prioridade para a execução desses testes de triagem.	registrada de identificação de PSA de 4 ng/mL.	
2007	PANG, B. C. M; CHEUNG, B. K. K.	Analisar a viabilidade da identificação de semenogelina a fim de confirmar se a identificação dessa proteína é um método eficiente para a detecção de sêmen.	Validação do dispositivo de tira de membrana fornecido no RSID-SemenTest em manchas de sêmen.	O emprego deste kit comercialmente disponível para detecção de Semenogelina possibilita uma abordagem alternativa para a identificação forense de plasma seminal.
2004	BUTLER, J. M.	Fazer descrição de métodos que incluem kits comerciais para a análise de STR loci comumente usados em testes de identidade humana.	Tipagem de repetição curta em tandem baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR).	A disponibilidade de kits comerciais promovem uma amplificação segura por PCR de marcadores de STR.
2017	TOBE, S. et al	Demonstrar o potencial de incorporar PCR direto em casos de agressão sexual para obter resultados mais rapidamente e alcançar uma maior sensibilidade.	Realização de PCR direta de fluido seminal associada à isolamento diferencial antes da amplificação	Espermatozoides são capazes de serem analisados por PCR direto sem a necessidade de trabalhosos métodos de extração, pois, os resultados das amostras pós-PCR mostram que as células espermáticas são degradadas durante o processo de reação e contribuem diretamente para a construção de um perfil.
2021	KARADAYI, S. et al	Expor os efeitos ao decorrer do tempo no processo de detecção de manchas seminais em roupas que foram lavadas	Utilização do teste rápido SeratecVR PSA Semiquant, para identificação do antígeno prostático específico.	O SeratecVR PSA Semiquant, demonstrou resultados positivos apesar da criação de manchas com sêmen diluído 1:1000, onde também revelou a forte influência da temperatura de lavagem. Todos os testes de PSA feitos após a lavagem do tecido em temperaturas menores, demonstraram resultados positivos.

Nossos resultados demonstraram que os processos investigativos de violação sexual, as técnicas frequentemente utilizadas para o reconhecimento do sêmen são efetuadas no laboratório de análises forenses, são elas: estudo especulativo de sêmen, teste presuntivo para sêmen, teste confirmatório para sêmen e teste de identificação individual, ao qual cada uma dessas etapas utilizam métodos distintas de análise.

O estudo especulativo do esperma é muito importante no processo de identificação, por meio deste, ocorre a detecção de manchas de sêmen nos materiais de apoio, como por exemplo, cotonetes, roupas, absorventes higiênicos, entre outros. Contudo, quando o volume e a região onde foi depositado o sêmen não são evidentes, para uma melhor visualização é aconselhável o uso de um aparelho de fonte luminosa com comprimento de onda variável (SAKURADA; WATANABE; AKUTSU, 2020).

Manchas ressecadas de sêmen brilham mediante a fontes de luminosas com excitações de comprimentos de onda 300 a 480 nm. A fluorescência é muito empregada como primeiro instrumento não destrutivo na procura investigativa de sêmen, contudo, alguns comprimentos de onda podem desencadear danos no DNA (SIMMONS et al., 2014).

Já o teste presuntivo, avalia a composição do sêmen (espermatozoides e plasma seminal) na detecção da fosfatase ácida (AcP), uma enzima fosfomonoesterase inespecífica, encontrada em quantidades elevadas no sêmen, onde o teste tem sido efetuado através de métodos colorimétricos há muito tempo (MAYTA et al., 2010; SAKURADA; WATANABE; AKUTSU, 2020).

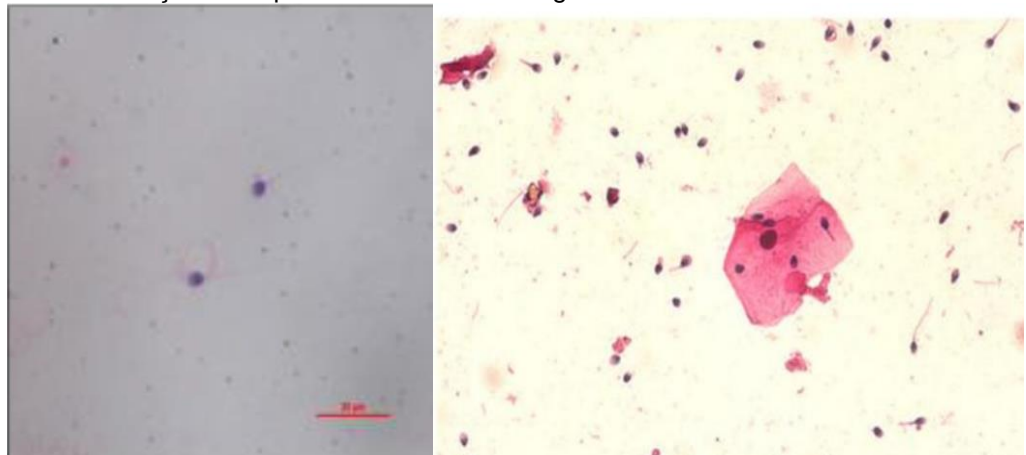
Produzido em 1957 por Stuart Kind, o reagente de fosfatase ácida (AP) é frequentemente utilizado reagindo com AcP encontrada no líquido seminal para resultar numa coloração roxa. A fosfatase ácida catalisa a quebra de moléculas de organofosforados em um produto que reage com o sal de diazônio, que traz como consequência a mudança de cor da solução (SIMMONS et al., 2014; HERMAN et al., 2018; SUTTIPASIT; WONGWITTAYAPANICH, 2018).

O antígeno específico da vesícula seminal (SVSA), frequentemente chamado de semenogelinas (Sg) são proteínas essenciais excretadas pela vesícula seminal no sêmen, a qual se ligam de forma não covalente, e por meio de pontes de dissulfeto a fim de criarem rapidamente um coágulo logo depois da ejaculação. Os coágulos se liquefazem poucos minutos depois, através da atividade de uma serina, protease prostática, que fraciona a Sg em partes. A detecção de semenogelinas em modelo de

membranas em tira foi há pouco tempo divulgada de forma comercial e possibilita uma interpretação alternativa nas análises periciais de plasma seminal (PANG; CHEUNG, 2007).

Após a avaliação presuntiva ser positivada, um teste de esperma confirmatório é executado, onde normalmente é efetuada a análise microscópica. Diversas técnicas de coloração podem ser empregadas como, por exemplo a coloração por hematoxilina e eosina como pode ser notada na figura 3.

FIGURA 3 – Coloração de espermatozoides com reagentes de hematoxilina-eosina



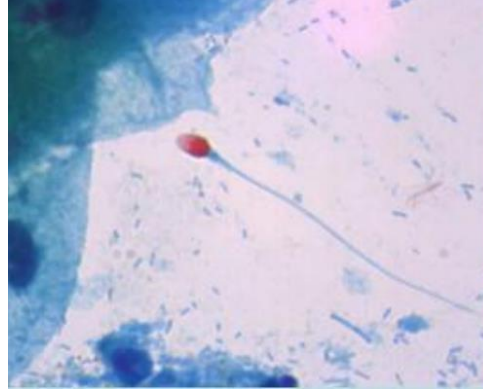
Fonte: KIM et al., 2020; TOBE et al., 2017.

A realização de um esfregaço feito a partir da coleta de amostra, em materiais de apoio, é uma análise pericial que pode ser concedida para uma vítima de violência sexual. O propósito principal é avaliar a existência de esperma, a qual auxilia no estudo forense permitindo a avaliação quantitativa e morfológica dos espermatozoides, sendo possível estimar a probabilidade de quando ocorreu a violação sexual (MAYTA et al., 2010; GREGÓRIO et al., 2017; NITTIS et al., 2021). Além disso, o rastreamento de amostras utilizando a microscopia de esperma permite a escolha ideal para o método de obtenção de DNA a fim de se obter os melhores vestígios (NITTIS et al., 2021).

A hematoxilina é um corante proveniente da madeira tora, é frequentemente empregado em estudos de citologia, histologia, histoquímica, como também na avaliação de espermatozoides, a qual pigmenta especialmente o núcleo das células, sendo muito proveitoso no diagnóstico de patologias e observação morfológica de tecidos e células (KIM et al., 2020). Segundo Kim et al. (2020) a hematoxilina cora de forma eficiente a porção da cabeça das células espermática. A eosina cora a peça intermediária e região da cauda, contudo, não cora a cabeça da célula espermática. Após a coloração, a lâmina pode ser observada através da microscopia com o

aumento de 400 onde a presença e agrupamento de espermatozoides podem ser examinados. Além disso, há técnicas variantes de coloração, que inserem a “coloração da árvore de Natal”, onde se utiliza vermelho rápido nuclear e picro indigo carmim para pigmentar os espermatozoides em tons diferentes de verde e vermelho, como exposto na figura 4 (SIMMONS et al., 2014; GREGÓRIO et al., 2017; SAKURADA; WATANABE; AKUTSU, 2020).

FIGURA 4 – Coloração de espermatozoides com reagente vermelho rápido nuclear



Fonte: MAYTA et al., 2010.

O Antígeno prostático específico (PSA), método confirmatório anteriormente chamado de proteína p30, é uma glicoproteína de cadeia simples produzida pelo tecido da próstata e secretado no plasma seminal em níveis elevados. O PSA é considerado um biomarcador tumoral, utilizado para diagnóstico e tratamento de tumor prostático (DIAMANDIS; YU, 1997). Acreditava-se que o PSA era uma proteína especificamente produzida pelos tecidos epiteliais da próstata, conseqüentemente, essa proteína ficou conhecida como antígeno prostático específico (DIAMANDIS; YU, 1997). Contudo, através da realização de estudos imunohistoquímicos e com base na utilização de metodologias mais sensíveis, a existência do PSA em variadas classificações de tumores, fluidos biológicos femininos e masculinos e tecidos saudáveis se tornou mais visível (KRANIOTI et al., 2017).

Através de pesquisas desenvolvidas e realizadas por profissionais que utilizaram métodos de ciência forense em torno dos elementos específicos do sêmen, o isolamento e a caracterização de proteínas do plasma seminal deram-se origem ao descobrimento do PSA. Cientistas sugeriram que o Antígeno prostático Específico era bioquimicamente igual a p30, uma proteína do plasma seminal com PM = 30kDa (WANG et al., 1981; GRAVES; KAMAREI; STAMEY, 1990; SENSABAUGH; BLAKE, 1990; JOHNSON; KOTOWSKI, 1993).

O PSA faz parte da família das calicreínas, que são proteases do soro que desempenham funções em diversos processos biológicos. Elas são representadas por uma família de genes, constituída por quinze membros, encontrados extensamente ao longo do cromossomo 19q13.4. no qual o gene KLK-3 codifica a protease PSA (YOUSEF2; DIAMANDIS, 2003). A síntese de espermatozoides em indivíduos vasectomizados, azoospérmicos ou oligozoospérmicos é inexistente. Apesar disso, o PSA atualmente também é considerado um marcador que possibilita a detecção de esperma em casos criminais que envolvem esses indivíduos (SENSABAUGH, 1978; BAECHEL, 1983; POYNIS; MARTIN, 1984; JOHNSON; KOTOWSKI, 1993; HOCHMEISTER et al, 1999).

Por meio do isolamento e da purificação do PSA no sêmen humano, tornou-se possível o desenvolvimento de técnicas imunológicas para a sua identificação (SENSABAUGH, 1978). Técnicas imunológicas como quimioluminescentes imunoenzimáticos, enzimaímunoensaios e imunorradiométricos são utilizadas em equipamentos automatizados e completamente computadorizados para a realização da determinação quantitativa do PSA. A detecção do PSA em diversos fluidos biológicos extraprostáticos deu-se origem a partir de 1994. Essas técnicas possuem uma sensibilidade de ao menos 0,001 ng/mL (FEINEA; GAFNYA; PINKAS, 2017).

Compreende-se que a identificação individual é extremamente necessária em diversas ocorrências, como por exemplo na explicação de autores de crimes sexuais (DA SILVA LEITE et al., 2013). O DNA permite identificar um indivíduo e/ou indicar o elo biológico entre eles com a menor margem de erro (FRANÇA, 2001).

Os recursos tecnológicos moleculares para o estudo do DNA, faz parte do teste de identificação individual, ilustradas por métodos de genotipagem humana (biologia molecular), utilizando repetições curtas em tandem (STR) proporcionou uma grande evolução nas pesquisas forenses (GREEN et al., 2005). STRs são localizações do DNA onde pequenas sequências de pares de bases são repetidas lado a lado, a qual é empregado para a técnica de tipagem baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR) frequentemente utilizado na atualidade (BUTLER, 2004).

A PCR é um procedimento enzimático *in vitro* que amplifica de forma exponencialmente a quantidade de sequências-alvo de DNA (TABERLET et al., 1996). Essa técnica disponibiliza boa especificidade e grande sensibilidade de detecção (BUTLER, 2005).

As técnicas de genotipagem de STR mais sofisticadas utilizam PCR a fim de amplificar os loci de interesse, proporcionando a coleta de dados específicos do genótipo com pequenas quantidades de DNA (ROEWER, 2009). Atualmente a alta sensibilidade da amplificação por PCR auxilia para que diversas opções nas sequências de DNA alvo possam ser realizadas, dependendo da pretensão do ensaio (NUSSBAUMER et al., 2006). As variadas estratégias relacionadas ao alvo dos ensaios permitem realizar a quantificação com a indicação do sexo do doador a partir da amplificação de regiões diversas dos cromossomos (SYNDERCOMBE COURT, 2021).

Porções masculinas típicas do cromossomo Y humano são frequentemente usadas na análise forense de DNA, especialmente quando os perfis de DNA autossômico padrão são inconclusivos, pois permitem a compreensão do sexo do doador, a partir de evidências da cena do crime (ROEWER, 2009; KAYSER, 2017; SYNDERCOMBE COURT, 2021). A pesquisa dos haplótipos YSTR usada nas investigações pode eliminar suspeitos de um crime, verificar as origens paternas de criminosos, isolar vários criminosos homens para um rastreamento e fornecer indícios investigativos para encontrar criminosos de sexo masculino não conhecidos (KAYSER, 2017).

O método mais frequente de tipagem de STR utiliza a determinação de fluorescência provocada por laser de produtos de PCR sinalizados com corante depois da divisão baseada no tamanho da eletroforese capilar (BUTLER, 2004).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estupro é uma agressão sexual cometida contra a vontade da pessoa, ao qual o seu combate é extremamente importante para a segurança da sociedade. Esse ato é um crime que deixa vestígios e com técnicas adequadas somado a uma equipe pericial treinada é possível encontrar o autor do crime.

Diversas técnicas foram desenvolvidas e aperfeiçoadas para se tornar mais fácil a detecção do sêmen, sendo elas: o estudo especulativo que torna possível a identificação e coleta do sêmen; teste presuntivo que avalia a constituição e detecta a fosfatase ácida, enzima exclusiva do líquido seminal; teste confirmatório como a microscopia para avaliação de espermatozoide e, em casos de inexistência de espermatozoide o teste de Antígeno prostático específico (PSA) possibilita a detecção

espermática; e por fim, a identificação individual que permite a partir do DNA encontrar o agressor por meio da biologia molecular.

Desse modo, é notório que as técnicas laboratoriais na procura por evidências estão cada dia mais seguras para que seja possível a incriminação do suspeito. Capacitar cada vez mais os profissionais da perícia são de suma importância para que esses além de encontrar, não contaminem as evidências e, aperfeiçoem os exames e métodos laboratoriais na detecção de DNA para que a justiça dos 56.098 casos de estupros possa ser solucionados no Brasil (BARROS et al., 2022).



Graphical Abstract: métodos laboratoriais para identificação de sêmen na apuração de crimes sexuais.

6. REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, P. J. A perícia do esperma no crime de estupro. **Conteúdo Jurídico**, Brasília-DF, 2014. Disponível em: <<https://conteudojuridico.com.br/consulta/artigos/42071/a-pericia-do-esperma-no-crime-de-estupro>>. Acesso em: 02 jun 2022.

ARBENZ, G. O. **Medicina Legal e Antropologia Forense**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988.

BAECHTEL, F. S. Immunological Methods for Seminal Fluid Identification. In: **Proceedings of a Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence**. Washington DC, FBI Laboratory, July 6-8, p. 85-87, 1983.

BARROS, B. W. et al. **Violência contra mulheres em 2021**. Fórum Brasileiro de Segurança Pública. 2022. Disponível em: <<https://forumseguranca.org.br/wp-content/uploads/2022/03/violencia-contra-mulher-2021-v5.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2022.

BRASIL. Decreto-lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940. **Código Penal**. Diário Oficial da União, Rio de Janeiro, 31 dez. 1940.

BUTLER, J. M. Tandem short repeat analysis for human identity testing. **Current protocols in human genetics**, v. 41, n. 1, p. 14.8. 1-14.8. 22, Sept. 2004.

BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing**. Biology, Technology, and Genetics of STR Markers. 2ª. ed. New York: Academic Press, 2005. 660p.

SYNDERCOMBE COURT, D. The y chromosome and its use in forensic dna analysis. **Emerging Topics in Life Sciences Portland Press Ltd**, v. 5, n. 3, p. 427-441, Set. 2021.

DECANINE, Daniela. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Rev. Bras. Crimin**, v. 5, n. 2, p. 18-27, Mai. 2016.

DIAMANDIS, E. P.; YU, H. Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. **The Urologic Clinics of North America**, v. 24, n. 2, p. 275-282, May. 1997.

DOREA, L.E.C.; STUMVOLL, V. P.; QUINTELA, V. **Criminalística**. 4. ed. Campinas: Millennium, 2010.

ESPÍNDULA, A. **Perícia criminal e Cível**. 2ª. ed. São Paulo: Milenium Editora, 2006.

FEINEA, I.; GAFNYA, R.; PINKAS, I. Combination of prostate-specific antigen detection and micro-Raman spectroscopy for confirmatory semen detection. **Forensic Science International**, v. 270, p. 241–247, Jan. 2017.

FERREIRA, W. A. **A relevância da prova pericial na investigação dos Crimes sexuais**. João Pessoa. 2019.

FIODERLICE, B. O Esperma e sexologia criminal. **JusBrasil**. São Paulo. 2014. Disponível em <<https://beafiordelice.jusbrasil.com.br/artigos/148747900/o-esperma-na-sexologia-criminal>>. Acesso em: 24 mai. 2022.

FORTUNE, C.; BOURKE, P.; WARD, T. Expertise and child sex offenders. **Aggression and Violent Behavior**, v. 20, p. 33-41, Jan/Feb. 2015.

FRANÇA, G. V. **Medicina Legal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Kogan, v. 3, p. 32-63, 2001.

GARCIA, E. A importância da perícia criminal. **JusBrasil**. São Paulo. 2019. Disponível em: <<https://elencrisbte.jusbrasil.com.br/artigos/863668580/a-importancia-da-pericia-criminal#:~:text=A%20per%C3%ADcia%20criminal%20%C3%A9%20important e,que%20foi%20alegado%20aos%20autos>>. Acesso em: 09 jun. 2022.

GRAVES, H. C.; KAMAREI, M.; STAMEY, T. A. Identity of prostate specific antigen and the semen protein P30 purified by a rapid chromatography technique. **Journal of Urology**, v. 144, n. 6, p. 1510-1515, Dec. 1990.

GREGÓRIO, I. et al. Statistical approach for ATR-FTIR screening of semen in sexual evidence. **Talanta**, v. 174, p. 853–857, Nov. 2017.

GREEN, Robert L. et al. Developmental Validation of the Quantifiler™ Real-Time PCR Kits for the Quantification of Human Nuclear DNA Samples. **Journal of Forensic Science**, v. 50, n. 4, p. JFS2004478-17, Jul. 2005.

GUZICK, David S. et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 19, p. 1388-1393, Nov. 2001.

HERMAN, Y.; FEINE, I.; GAFNY, R. Acid phosphatase test on Phadebas sheets — An optimized method for presumptive saliva and semen detection. **Forensic Science International**, v. 288, p. 218–222, Jul. 2018.

HOCHMEISTER, Manfred N. et al. Evaluation of Prostatic-Specific Antigen (PSA) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid. **Journal of Forensic Sciences**, v. 44, p. 1057-1060, 1999.

JOHNSON, E. D.; KOTOWSKI, T. M. Detection of Prostate Specific Antigen by ELISA. **Journal of Forensic Sciences**, v. 38, n. 2, p. 250-258, Mar. 1993.

KAYSER, Manfredo. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. **Human Genetics Springer Verlag**, v. 136, n. 5, p. 621-635, Mar. 2017.

KIM, J. Y. et al. Application of hematoxylin reagent for sperm cell separation in sexual crime evidence. **Forensic Science International**, v. 307, p. 110114, Feb. 2020.

KOCH, A.; ANDRADE, F. M. de. A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão. **Rbac**, v. 40, n. 1, p. 17-23, 2008.

KRANIOTI, E. K. et al. Sexual dimorphism of the tibia in contemporary Greek-Cypriots and Cretans: forensic applications. **Forensic Science International**, v. 271, p. 129. e1-129. e7, Feb. 2017.

DA SILVA LEITE, Viviane et al. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, v. 10, n. 34, p. 21, 2013.

MARTINI, F. H.; TIMMONS, M. J.; TALLITSCH, R. B. **Anatomia Humana** - Coleção Martini. Artmed Editora, 2009.

MAUCK, Christine K. Biomarkers of semen exposure. **Sexually transmitted diseases**, v. 36, n. 3, p. S81-S83, Mar. 2009.

MAYTA, S. E. Q. *et al.* Investigación forense del fluido seminal en víctimas de violencia sexual, por el Laboratorio de Biología Forense Forensic investigation of semen in

sexual assault victims by Forensic Laboratory. **BIOFARBO**, v. 18, n. 2, p. 91-95, Dec. 2010.

MONTOYA, A. I. T. Espermograma. **Medicina & laboratorio**, v. 15, n. 03-04, p. 145-169, 2009.

NITTIS, M. et al. Preparing semen slides in cases of sexual assault: Do they who smear first smear best?. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 79, p. 102130, Apr. 2021.

NORONHA, E. M. **Curso de Direito Processual Penal**. São Paulo:Ed. Saraiva, 15ª ed., 2003.

NUSSBAUMER, C.; GHAREHBAGHI-SCHNELL, E.; KORSCHINECK, I. Messenger RNA profiling: A novel method for body fluid identification by Real-Time PCR. **Forensic Science International**, v. 157, n. 2–3, p. 181–186, Mar. 2006.

PANG, B. C. M.; CHEUNG, B. K. K. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. **Forensic Science International**, v. 169, n. 1, p. 27–31, Jun. 2007.

POYNTZ, F. M.; MARTIN, P. D. Comparision of p30 and Acid Phosphatase Levels in Post-Coital Vaginal Swabs from Donor and Casework Studies. **Forensic Science International**, v. 24, n. 1, p. 17-25, Jan. 1984.

PRADO, E. A importância da perícia criminal e a escassez do quadro de funcionários. **Revista Jus Navigandi**, ISSN 1518-4862, Teresina, ano 20, n. 4205, 5 jan. 2015. Disponível em: <<https://jus.com.br/artigos/31602>>. Acesso em: 09 jun. 2022.

RODRIGUES, C. V.; SILVA, M. T. da; TRUZZI, O. M. S. Perícia criminal: uma abordagem de serviços. **Gestão & Produção**, v. 17, p. 843-857, Dez. 2010.

ROEWER L. Y chromosome STR typing in crime casework. **Forensic Sci Med Pathol**. v. 5, n. 2, p. 77-84, May. 2009.

SALA, D. A perícia criminal: evidências, profissional perito e nulidade pericial—uma revisão literária. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 7, n. 3, p. 28-31, Set. 2018.

SAKURADA, K.; WATANABE, K.; AKUTSU, T. Current methods for body fluid identification related to sexual crime: focusing on saliva, semen, and vaginal fluid. **Diagnostics**, v. 10, n. 9, p. 693, Set. 2020.

SENSABAUGH, G. F. Isolation and Characterization of a Semen-Specific Protein from Human Seminal Plasma: A Potential New Marker for Semen Identification. **Journal of Forensic Sciences**, v. 23, n. 1, p. 106-115, Jan.1978.

SENSABAUGH, G. F.; BLAKE, E. T. Seminal Plasma Protein p30: Simplified Purification and Evidence for Identity with Prostate Specific Antigen. **Journal of Urology**, v. 144, n. 6, p. 1523-1526, Dec. 1990.

SILVA, L.A.F.; PASSOS, N.S. **DNA forense**: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudo do DNA. 2. ed. Maceió: UFAL, 2006.

SIMMONS, R. et al. The effect of mark enhancement techniques on the subsequent detection of semen/spermatozoa. **Forensic Science International**, v. 244, p. 231–246, Set. 2014.

SOUSA, J. M.; QUEIROZ, P. R. M. Coleta e preservação de vestígios biológicos para análises criminais por DNA. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 3, Jul. 2012.

STUBBINGS, N. A.; NEWALL, P. J. An Evaluation of Gamma-Glutamyl Transpeptidase (GGT) and p30 Determination for the Identification of Semen on Postcoital Vaginal Swabs. **Journal of Forensic Sciences**, v. 30, n. 3, p. 604-614, Jul. 1985.

SUTTIPASIT, P.; WONGWITTAYAPANICH, S. Detection of prostate specific antigen and semenogelin in specimens from female rape victims. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 54, p. 102–108, Fev. 2018.

TABERLET, Pierre et al. Genotipagem confiável de amostras com quantidades muito baixas de DNA usando PCR. **Pesquisa de ácidos nucleicos**, v. 24, n. 16, pág. 3189-3194, 1996.

TAMAI, H. T. Estudo da aplicação do esperma na sexologia forense. **JusBrasil**. São Paulo. 2015. Disponível em: <<https://hugotadahide.jusbrasil.com.br/artigos/252635539/estudo-da-aplicacao-do-esperma-na-sexologia-forense>>. Acesso em: 23 mai. 2022.

TOBE, S. S. et al. A proof of principal study on the use of direct PCR of semen and spermatozoa and development of a differential isolation protocol for use in cases of alleged sexual assault. **International Journal of Legal Medicine**, v. 131, n. 1, p. 87–94, Jan. 2017.

TOURINHO FILHO, F. C. **Manual de Processo Penal**. 2013.

VARGAS, J. P. S.; KRIEGER, J. R. A perícia criminal em face da legislação. **Revista Eletrônica de Iniciação Científica. Itajaí, Centro de Ciências Sociais e Jurídicas da UNIVALI**, v. 5, n. 1, p. 382-396, 2014.

WANG, M. C. et al. Prostate Antigen: An Immunohistologic Marker for Prostatic Cancer. **The Prostate**, v. 2, p. 89, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global and regional estimates of violence against women: prevalence and health effects of intimate partner violence and nonpartner sexual violence**. World Health Organization, 2013. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241564625>>. Acesso em: 05 set. 2022.

YOUSEF, G. M.; DIAMANDIS, E.P. An overview of the kallikrein gene families in humans and other species: emerging candidate tumour markers. **Clinical Biochemistry**, v. 36, n. 6, p. 443-452, Sept. 2003.

KARADAYI, Sukriye et al. Evaluation of the relationship between the detectability of seminal stains on laundered fabric and stain age. **Medicine, Science and the Law**, v. 61, n. 3, p. 198-207, Feb. 2021.