

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA**

**REQUISITANTES:**

*GOVERNO DO ESTADO DE MATO GROSSO*  
*SECRETARIA DE SEGURANÇA PÚBLICA*  
*COORDENADORIA DE PERÍCIAS E IDENTIFICAÇÕES*  
*COORDENADORIA DE MEDICINA LEGAL*  
*DR. ALINOR ANTONIO DA COSTA*  
*DR. CÉLIO SPADACIO*

**PERITO JUDICIAL:**

*DOUTOR EDUARDO DARUGE*

**PIRACICABA**  
**NOV/1999**

**LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA DE CADÁVER CARBONIZADO E EM DECOMPOSIÇÃO PELA TÉCNICA DO DNA (PCR)**

**I- IDENTIFICAÇÃO**

**I.1- REQUISITANTES:**

**DR. ALINOR ANTONIO DA COSTA** – Coordenador Geral de Perícias e Identificações do CML/MT,

**DR. CÉLIO SPADÁCIO** – Chefe da Divisão de Antropologia Forense do CML/MT

Governo do Estado de Mato Grosso  
Secretaria de Estado de Segurança Pública  
Coordenadoria Geral de Perícias e Identificações  
Coordenadoria de Medicina Legal

*OF. 563/CGPI/99/MT de 16-09-99*

**I.2- MATERIAL ORGÂNICO ENVIADO PARA EXAMES**

07 (Sete) Dentes correspondentes aos elementos dentários números 27, 31, 32, 33, 41 e 42 (supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**);

01 (Uma) peça óssea inteira correspondente ao fêmur esquerdo (supostamente pertencente a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>) com 4 ml de sangue cada pertencentes a **ODETE GATTASS** (Ex-esposa de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL** (filho biológico de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL** (filha biológica de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** (filha biológica de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

*OF. 624/CGPI/99/MT de 01-10-99*

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (mãe biológica de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL** (irmão biológico de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", em EDTA (K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS** (irmã biológica de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

02 (Dois) Tubos tipo "vacutainer", com EDTA(K<sub>3</sub>), com 4 ml de sangue cada, pertencentes a **ADEILTON MARQUES DO AMARAL** (irmão biológico de LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL);

## II- RESUMO INICIAL

O presente laudo refere-se ao caso em que se procedeu a perícia genética direta pelo exame do polimorfismo de DNA com o emprego das Técnicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para a Identificação dos materiais orgânicos correspondentes a 07(sete) dentes e 01(um) osso fêmur esquerdo, inteiro, supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**; 02 (duas) amostras de sangue, com 4ml cada, em tubos de "vacutainer" com EDTA, de cada uma das seguintes pessoas: **ODETE GATTASS** (ex-esposa de Leopoldino Marques do Amaral); **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL**, **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL** e **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** (todos filhos biológicos de Leopoldino Marques do Amaral); **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (mãe biológica de Leopoldino Marques do Amaral), **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL**, **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS** e **ADEILTON MARQUES DO AMARAL** (todos irmãos biológicos de Leopoldino Marques do Amaral). O DNA extraído dos osso e dentes, bem como, os DNAs extraídos das amostras de sangue das pessoas anteriormente citadas (ex-esposa e filhos e mãe e irmãos) foram submetidos à técnica do PCR (polymerase

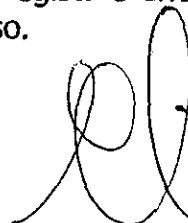
chain reaction), sendo posteriormente realizadas a separação dos códigos genéticos pelo sistema de eletroforese, separadamente, isto é, o DNA dos ossos e dentes com os DNAs extraído da ex-esposa e filhos e DNA dos ossos e dentes com os DNAs extraídos da mãe e irmãos. Os resultados apresentados no **QUADRO Nº 01** indicaram de forma objetiva e concreta que **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL, CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL e RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** são filhos biológicos de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, pois apresentam uma carga genética correspondente a 50% de origem materna (**ODETE GATTASS**) e 50% de origem paterna (**LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**), comprovando que o osso e os dentes examinados pertencem realmente à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**. Os resultados apresentados no **QUADRO Nº 02** indicaram também de forma objetiva e concreta que o osso fêmur esquerdo e dentes pertencem à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, uma vez que, 50% dos alelos identificados nos DNAs extraídos destes materiais biológicos correspondem aos alelos encontrados no DNA extraído do sangue da **SRA. DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (mãe biológica de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**), sendo, também, que pela comparação dos alelos identificados no DNA extraído dos materiais biológicos apresentados para exames com os alelos encontrados no sangue das pessoas **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, comprovam a coincidência de vários alelos, demonstrando o grau de parentesco bastante próximo (segundo grau-irmão), comprovando assim que os materiais biológicos encaminhados para exames pertencem a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** e que este é realmente irmão de **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL**. Finalmente, podemos afirmar que, por todos os exames realizados, os materiais biológicos examinados (osso e dentes) pertencem à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, com uma precisão de 99,99% de probabilidade (noventa e nove, vírgula e noventa e nove por cento).

### III- IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL ENVIADO PARA EXAMES

Conforme Ofício nº 563/CGPI/99/MT, datado de 16-09-99 e subscrito pelo **DR. ALINOR ANTONIO DA COSTA**, Coordenador Geral de perícias e Identificações do CML/MT e **DR. CÉLIO SAPADÁCIO**, Chefe da Divisão de Antropologia Forense do CML/MT, no dia 20-09-99, às 9:39 horas recebemos os materiais biológicos correspondentes a 01 (uma) peça óssea humana referente ao osso fêmur esquerdo, sem nenhum sinal de fratura e 07 (sete) elementos dentários humanos, correspondentes aos dentes números 27, 31, 32, 33, 41, 42 e 43,

íntegros, supostamente pertencentes à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**; 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas da **SRA. ODETE GATTASS**, indicada como a ex-esposa de Leopoldino Marques do Amaral; 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **LEOPOLDO AUGUSTO GATTAS DO AMARAL**, indicado como filho biológico de Leopoldino Marques do Amaral; 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL**, indicada como filha biológica de Leopoldino Marques do Amaral; e 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL**, indicada como filha biológica de Leopoldino Marques do Amaral. Estes materiais nos foram entregues pessoalmente pelo **DR. MAURÉLIO RIBEIRO**, Coordenador de Saúde do Tribunal de Justiça do Estado de Mato Grosso, pelo **MAJOR ADARILDO COSTA**, Policial militar do Tribunal de Justiça do Estado de Mato Grosso, pelo **DR. ALINOR ANTONIO COSTA**, Médico-Legista e Coordenador Geral de Perícias e Identificações do CML do Estado do Mato Grosso e pelo **DR. CÉLIO SPADÁCIO**, Odonto-Legista e Chefe da Divisão de Antropologia Forense do CML do Estado do Mato Grosso.

Conforme Ofício nº 624/CGPI/99/MT, datado de 01 de outubro de 1999, e subscrito pelo **DR. ALINOR ANTONIO DA COSTA**, Médico-Legista e Coordenador Geral de Perícias e Identificações do CML/MT e pelo **DR. CÉLIO SPADÁCIO**, Odonto-Legista e Chefe da Divisão de Antropologia Forense do CML/MT, no dia 02-10-99, às 18,00 horas, recebemos os materiais biológicos correspondentes a 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas da **SRA. DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL**, indicada como mãe biológica de Leopoldino Marques do Amaral; 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL**, indicado como irmão biológico de Leopoldino Marques do Amaral; 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS**, indicada como irmã biológica de Leopoldino Marques do Amaral; e 02 (duas) amostras de sangue em tubos de "vacutainer", com 4 ml cada, em EDTA, coletadas de **ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, indicado como irmão biológico de Leopoldino Marques do Amaral. Estes materiais biológicos nos foram entregues, pessoalmente, pelas pessoas, **DR. ALINOR ANTONIO DA COSTA**, Médico-Legista e Coordenador Geral de Perícias e Identificações do CML do Estado de Mato Grosso, pelo **DR. AUGUSTO AURÉLIO DE CARVALHO**, Médico-Legista do CML do Estado do Mato Grosso e pelo **DR. CÉLIO SPADÁCIO**, Odonto-Legista e Chefe da Divisão de Antropologia Forense do CML do Estado de Mato Grosso.

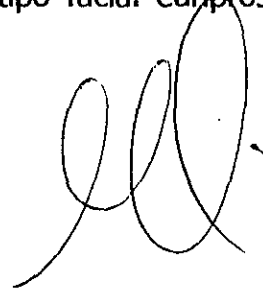


#### IV- QUALIFICAÇÃO DAS PESSOAS DAS QUAIS FORAM COLETADAS AS AMOSTRAS DE SANGUE

As pessoas das quais foram coletadas as amostras de sangue para a realização dos exames são:

- 01- **ODETE GATTASS** (ex-esposa de Leopoldino Marques do Amaral), brasileiro, divorciada, do lar, portadora do R.G. n. 310.968-SSP/MT, CPF. 274.750.771-87, natural de Cáceres-MT, nascida no dia 01-05-1945, residente e domiciliada à Rua G, Quadra 42, Casa 11, Jardim Brasil, Cuiabá-MT, é portadora de pele parda (faioderma), cabelos esbranquiçados (grisalhos) (senilidade), coloração avermelhada (alteração produzida por produtos químicos), cimatóticos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-claros, tipo antropológico do crânio braquicéfalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 02, em anexo;
- 02- **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL** (indicado como filho biológico de Leopoldino Marques do Amaral, brasileiro, solteiro (vive em concubinato), técnico em informática, portador do R.G. n. 540.733-SSP/MT, CPF. 513.086.221-04, natural de Cuiabá-MT, nascido no dia 24-04-1971, residente e domiciliado à Rua X, Quadra 36, Casa 09, Jardim Brasil, Cuiabá-MT, é portador de pele parda (faioderma), cabelos castanhos e cimatóticos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-claros, tipo antropológico do crânio dolicocefalo, tipo facial leptoprósopo, conforme Fig. nº 03, em anexo;
- 03- **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL** (indicada como filha biológica de Leopoldino Marques do Amaral), brasileira, casada, estudante, portadora do R.G. nº 820.278-SSP/MT, CPF. 537.268.771-87, natural de Cuiabá-MT, nascida no dia 17-06-1972, residente e domiciliada à Rua Vitória Pereira da Silva, n. 1302, Bairro São João, na cidade de Barra do Garças, MT, é portadora de pele parda (faioderma), cabelos escuros e lissóticos, lóbulo auricular livre, olhos escuros, tipo antropológico do crânio braquicéfalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 04, em anexo;
- 04- **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** (indicada como filha biológica de Leopoldino Marques do Amaral), brasileira, solteira, estudante, portadora do R.G. nº 0855692-0/SSP-MT, CPF. 812.749.981-15, nascida no dia 14-08-75, natural de Cuiabá-MT, residente e domiciliada à Rua G, Quadra 42, Casa 11, Jardim Brasil, Cuiabá, MT, é portadora de pele parda (faioderma), cabelos escuros e lissóticos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-claros, tipo antropológico do crânio dolicocefalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 05, em anexo;

- 05- **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (indicada como mãe de Leopoldino Marques do Amaral), brasileira, viúva, do lar, portadora do R.G. nº 840.088-SSP/MT, natural de Poconé-MT, nascida no dia 08-05-1925, residente e domiciliada à Rua 03, Casa 51, Cohab Velha na cidade de Poconé, MT, é portadora de pele branca (leucoderma), cabelos esbranquiçados (senilidade), lissótricos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-escuros, tipo antropológico do crânio braquicéfalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 06, em anexo;
- 06- **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL** (indicado como irmão biológico de Leopoldino Marques do Amaral), brasileiro, casado, funcionário público, residente e domiciliado à Rua 03, Casao 51, Cohab Velha, na cidade de Poconé, MT, nascido no dia 22-01-51, é portador de pele branca (leucoderma) cabelos castanhos (grisalhos) e lissótricos, lóbulo auricular livre, olhos escuros, tipo antropológico do crânio braquicéfalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. 07, em anexo;
- 07- **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS** (indicada como irmã biológico de Leopoldino Marques do Amaral), brasileira, casada, do lar, natural de Poconé, MT, residente e domiciliada à Rua Leonides de paula correa, n. 1.420, Centro, em Poconé, MT, é portadora de pele branca (leucoderma), cabelos escuros e lissótricos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-escuros, tipo antropológico do crânio dolicocefalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 08, em anexo;
- 08- **ADEILTON MARQUES DO AMARAL** (indicado como irmão biológico de Leopoldino Marques do Amaral), brasileiro, solteiro, funileiro, portador do R.G. nº 930.795-SSP-MT, natural de Poconé, MT, nascido no dia 02-06-77, residente e domiciliado à Rua 03, Nº 51, Cohab Velha, na cidade de Poconé, MT, é portador de pele branca (leucoderma), cabelos escuros e lissótricos, lóbulo auricular livre, olhos castanho-escuros, tipo antropológico do crânio braquicéfalo, tipo facial euriprósopo, conforme Fig. nº 09, em anexo.



## V- O EMPREGO DAS TÉCNICAS DE PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA E NAS INVESTIGAÇÕES DE RELACÕES DE PARENTESCO

### V.1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

As investigações científicas que fundamentam as decisões jurídicas ganharam uma base extremamente sólida com os avanços alcançados na tecnologia do DNA. Os testes realizados com os ácidos nucleicos apresentam uma base de identificação positiva, permitindo aos peritos das áreas biológica ou jurídica tomarem decisões de caráter definitivo. A capacidade identificatória dos testes do DNA, é tão precisa e individual que justifique o nome utilizado para expressá-la, a impressão digital genética "*Fingerprints*". A probabilidade da repetição do mesmo padrão de DNA num segundo indivíduo é da ordem de um para dez trilhões aproximadamente.

A utilização desta tecnologia já é uma realidade nos campos de criminologia e de investigação de paternidade, sendo também, de grande utilidade para fins de identificação humana, imigração, adoções irregulares, estudos étnicos chegando inclusive ao poder de determinar o vínculo genético após morte.

A descoberta da tecnologia do PCR em 1985, constitui um marco de grande importância na evolução da Biologia Molecular. Desde então, centenas de trabalhos científicos foram publicados, discutindo-se a nova metodologia, adicionando novas modificações e melhoramentos e estendendo sua aplicação a diversos ramos da ciência. A tecnologia baseada no PCR oferece várias vantagens tais como o aumento da sensibilidade e da especificidade dos métodos e ainda reduz o tempo necessário para a obtenção dos resultados. O PCR ainda possibilita a análise de fragmentos menores do DNA tendo em vista que os alelos produzidos no PCR são bem menores que aqueles obtidos em outras técnicas.

### V.2- FUNDAMENTAÇÃO CIENTÍFICA

O PCR (*polymerase chain reaction*) (reação em cadeia da polimerase) é um procedimento de síntese dos ácidos nucleicos, no qual um segmento específico de DNA pode ser replicado. A Metodologia baseia-se na utilização de dois oligonucleotídeos que se ligam ao DNA, cercando a região alvo, após os processos de anelamento e extensão provocados por repetidos ciclos de desnaturação térmica do DNA. Desta forma a atividade da polimerase na síntese de DNA fica orientada para ocorrer somente nas regiões cercadas pelos nucleotídeos, sendo que o resultado é um aumento exponencial do fragmento alvo.

Uma das maiores vantagens que esta tecnologia nos oferece é que a quantidade de DNA necessária para fazer a análise não é muito grande, uma célula única, homogeneizado de células em água fervendo ou qualquer amostra que



contém apenas algumas centenas de pares de bases são suficientes para uma amplificação bem sucedida.

Uma quantidade limitada de células (entre 100-10000) homogeneizada em uma solução hipotônica é uma maneira eficaz para preparar o DNA para a reação da polimerase em cadeia (PCR). A escolha dos iniciadores (*Primers*) é uma etapa fundamental na análise de DNA pela técnica do PCR. Os iniciadores devem ter um conteúdo de G + C em torno de 50%, evitando seqüências anormais. Os iniciadores também devem ser testados em relação à complementaridade entre eles, evitando a formação de artefatos do tipo "*Primer-Primer*".

O exame das seqüências do polimorfismo do DNA, constitui hoje o instrumento mais poderoso para diferenciar os indivíduos geneticamente e definir as relações familiares. Até pouco tempo somente eram empregados métodos para verificação de grupos sanguíneos, antígenos de histocompatibilidade (HLA) e variantes eletroforéticos de proteínas eram utilizados para tais finalidades. O emprego das técnicas de PCR, na ciência forense, provocou uma verdadeira revolução.

A tecnologia de PCR (reação de polimerização em cadeia) é a metodologia empregada "in vitro" para a amplificação enzimática de certas seqüências dos ácidos nucléicos. A fita dupla do DNA é desnaturada por aquecimento, dois iniciadores complementares são acoplados na vizinhança das extremidades do seguimento a ser amplificado. Os iniciadores (*primers*) serão planejados de acordo com o alelo pesquisado e serão sintetizadas no sintetizador de DNA/RNA 392 de biosistemas aplicados.

O acoplamento dos iniciadores ocorre sempre na direção 3' → 5' em temperatura baixa. A polimerase é a enzima responsável pela reprodução do seguimento do DNA contido entre os dois iniciadores. Essa enzima é estável na temperatura de desnaturação e a seqüência das três etapas, isto é, desnaturação, acoplamento e síntese é denominada um ciclo. Em cada ciclo o DNA é duplicado uma vez e o processo da ampliação abrange vários ciclos. A mistura básica da reação contém água destilada e esterilizada, tampão 10x, dNTP, iniciador 5', iniciador 3' e a polimerase, essa mistura deve ser coberta com uma gota de óleo mineral. Adiciona-se o DNA e leva-se os tubos ao termo-ciclador previamente aquecido.

## VI- METODOLOGIA EMPREGADA

Foram utilizados 4 ml de sangue venoso de cada uma das pessoas examinadas, coletados em tubos de "vacutainer", em EDTA, tais como, **ODETE GATTASS** (ex-esposa de Leopoldino Marques do Amaral), **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL**, **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL** e **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** (indicados como filhos biológicos de

Leopoldino Marques do Amaral), **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (indicada como mãe biológica de Leopoldino Marques do Amaral), **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUE DO AMARAL** (indicados como irmãos biológicos de Leopoldino Marques do Amaral)

Foram retiradas do fêmur, supostamente pertencente a Leopoldino Marques do Amaral, tres porções com 02 (dois) centímetros de comprimento, da região da epífise mesial, constituindo assim amostras de diferentes pontos do mesmo osso. Os dentes foram também utilizados para a extração de DNA, conforme descrição a seguir.

As extrações de DNA das amostras de sangue foram feitas separadamente para cada uma destas. O sangue foi misturada com igual quantidade de tampão citrato de sódio/NaCl 1X ( SSC 1X) e após uma breve agitação a suspensão foi centrifugada, desprezando-se o sobrenadante. Esta operação foi repetida duas vezes. Após a centrifugação, as células foram tratadas com acetato de sódio 0,2M SDS 10% e Proteinase-K e encubadas por um período mínimo de duas horas na temperatura de 56°C. A cada tubo adicionou-se 120 ul de Fenol/Clorofórmio (1:1), sendo que os tubos foram fortemente agitados e centrifugados. A camada aquosa foi separada e o DNA foi precipitado com o uso de etanol em temperatura baixa ( 0-4°C ).

A extração do DNA dos tecidos duros, ossos e dentes, foi iniciada com a limpeza do material, removendo-se os tecidos remanescentes e qualquer outra substância contaminante. Os pedaços de ossos e os dentes foram triturados, separadamente, convertendo-se em pó sob nitrogênio líquido. O pó foi homogeneizado na presença de tampão SSC 1X, centrifugado e novamente, suspenso no mesmo tampão e centrifugado. As etapas subseqüentes são semelhantes aquelas utilizadas no sangue, observando que a extração orgânica é feita em três etapas, duas vezes com fenol/clorofórmio e uma com clorofórmio. Nos casos dos dentes íntegros, a polpa dental foi extraída e cortada em fatias com lâminas limpas e esterilizadas. Os fragmentos da polpa foram também suspensos em tampão SSC 1X e submetidos as etapas já descritas para a extração do DNA.

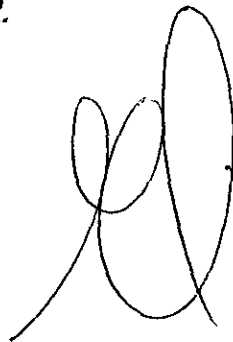
Uma quantidade de 25 - 50 ng de DNA purificado foi amplificada, utilizando 19 pmols (  $19 \times 10^9$  ) de iniciador biotinilizado, 50 pmols de iniciador não biotinilizado e 1.25 unidades de DNA polimerase ( *Thermus aquaticus* ). Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos ao processo de separação eletroforética horizontal e vertical em gel agarose. Uma molécula de DNA conhecida é submetida a digestão pela Hae III e utilizada como marcador.



**VII- RESULTADOS OBTIDOS NAS AMOSTRAS RETIRADAS DO OSSO E DOS DENTES**

A) Pelos exames realizados nas amostras de sangue coletadas da **SRA. ODETE GATTASS, LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL, CARLA ALESSANDRA GATTASS e CASSIA GATTASS DO AMARAL**, e das amostras retiradas do osso fêmur esquerdo (supostamente pertencente a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**) e dos 07 dentes (também supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**), pela técnica do PCR (*polymerase chain reaction*), obteve-se os seguintes resultados apresentados no Quadro de Resultados nº 01.

B) Pelos exames realizados nas amostras de sangue coletadas da **SRA. DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL, AUGUSTO MARQUES DO AMARAL FILHO, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS, ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, e das amostras retiradas do osso fêmur esquerdo (supostamente pertencente a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**) e dos 07 dentes (também supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**), pela técnica do PCR (*polymerase chain reaction*), obteve-se os seguintes resultados apresentados no Quadro de Resultados nº 02.



LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA E RELAÇÃO DE PARENTESCO

QUADRO 01 - IDENTIFICAÇÃO DOS ALELOS

"LOCI"	ALELOS DA SRA. ODETE GATTASS (EX-ESPOSA DO FALECIDO)	ALELOS DO SR. LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL (FALECIDO) OSSOS E DENTES	ALELOS DE LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL (FILHO DO FALECIDO)	ALELOS DE CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL (FILHA DO FALECIDO)	ALELOS DE RITA DE CASSIA GATTASS DO AMARAL (FILHA DO FALECIDO)	HERANÇA MATERNA E PATERNA RESPECTIVAMENTE, CORRESPONDENTE PARA CADA FILHO DO FALECIDO.
VWF1	147 143	143 155	147 155	147 155	143 155	MATERNA PATERNA
D19S253	229 213	225 225	229 225	213 225	213 225	MATERNA PATERNA
D18S51	310 296	296 304	310 296	296 296	310 304	MATERNA PATERNA
D1S2131	377 377	393 381	377 381	377 393	377 381	MATERNA PATERNA
D21S1437	134 118	194 190	134 130	134 134	118 130	MATERNA PATERNA
D5S815	294 254	262 290	254 290	294 290	294 262	MATERNA PATERNA
D2S428	155 147	159 155	147 155	147 159	155 155	MATERNA PATERNA
D3S2386	299 291	311 287	299 311	291 287	299 287	MATERNA PATERNA
FES	152 152	152 152	152 152	152 152	152 152	MATERNA PATERNA
D7S820	223 219	215 219	219 215	219 219	223 219	MATERNA PATERNA
D8S306	287 271	275 259	271 259	287 259	287 275	MATERNA PATERNA
D17S1185	225 221	213 193	221 193	225 213	221 193	MATERNA PATERNA

LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA E RELAÇÃO DE PARENTESCO

QUADRO 02 - IDENTIFICAÇÃO DOS ALELOS

"LOCI"	ALELOS DA SRA. DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL (MÃE DO FALECIDO)	ALELOS DO SR. LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL (FALECIDO) OSSOS E DENTES	ALELOS DO SR. AUGUSTO MARQUES DO AMARAL (IRMÃO DO FALECIDO)	ALELOS DA SRA. GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS (IRMÃ DO FALECIDO)	ALELOS DO SR. ADEILTON MARQUES DO AMARAL (IRMÃO DO FALECIDO)	HERANÇA MATERNA CORRESPONDENTE PARA CADA IRMÃO DO FALECIDO OBTENDO-SE POR EXCLUSÃO A HERANÇA PATERNA
VWF1	147	143	143	147	143	MATERNA
	143	156	143	155	155	PATERNA
D19S253	229	225	229	225	229	MATERNA
	225	225	229	225	225	PATERNA
D18S51	296	296	284	296	284	MATERNA
	284	304	304	288	288	PATERNA
D1S2131	393	393	393	393	393	MATERNA
	373	381	381	381	381	PATERNA
D21S1437	134	134	130	130	130	MATERNA
	130	130	130	122	130	PATERNA
D5S815	282	282	282	262	282	MATERNA
	282	290	290	290	290	PATERNA
D2S428	159	159	159	159	143	MATERNA
	143	155	155	155	155	PATERNA
D3S2386	311	311	295	295	295	MATERNA
	295	287	291	287	287	PATERNA
FES	162	152	152	152	152	MATERNA
	152	152	152	152	152	PATERNA
D7S820	219	215	219	215	215	MATERNA
	215	219	219	203	203	PATERNA
D8S306	283	275	275	275	263	MATERNA
	275	259	259	271	259	PATERNA
D17S1185	217	213	217	217	213	MATERNA
	213	193	225	193	225	PATERNA

**VIII – ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

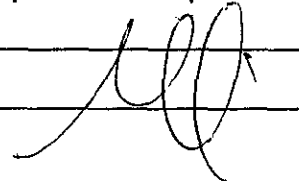
a) O quadro 01 indica na 1ª coluna os "loci" analisados, no total de 12, sendo os seguintes: **vWF1, D19S253, D18S51, D1S2131, D21S1437, D5S815, D2S428, D3S2386, FES, D7S820, D8S306 e D17S1185**. A 2ª coluna do quadro 01 indica os alelos de cada "locus" de **ODETE GATTAS** (ex-esposa do falecido). A 3ª coluna indica os alelos de cada "locus" identificados nas amostras retiradas do osso fêmur e dos dentes fornecidos para exames (supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**). Nas 4ª, 5ª e 6ª colunas indicamos os alelos encontrados respectivamente nas amostras de sangue de **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL, CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL e RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** (indicados como filhos biológicos de Leopoldino Marques do Amaral). Na 7ª e última coluna foram indicados os alelos de origem materna e paterna.

- Pela análise e interpretação dos resultados demonstrados no quadro 01 verificamos que **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL** apresenta os seguintes alelos de origem materna: **147, 229, 310, 377, 134, 254, 147, 299, 152, 219, 271 e 221**, sendo que os alelos remanescentes são: **155, 225, 296, 381, 130, 290, 155, 311, 152, 215, 259 e 193** de origem paterna e correspondem aos alelos identificados nas amostras de ossos e dentes supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, demonstrando assim a existência de vínculo genético entre eles.
- Pela análise e interpretação dos resultados demonstrados no quadro 01 verificamos que **CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL** apresenta os seguintes alelos de origem materna: **147, 213, 296, 377, 134, 294, 147, 291, 152, 219, 287 e 225**, sendo que os alelos remanescentes são: **155, 225, 296, 393, 134, 290, 159, 287, 152, 219, 259 e 213**, de origem paterna e correspondem aos alelos identificados nas amostras de ossos e dentes supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, demonstrando assim a existência de vínculo genético entre eles.
- Pela análise e interpretação dos resultados demonstrados no quadro 01 verificamos que **RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** apresenta os seguintes alelos de origem materna: **143, 213, 310, 377, 110, 294, 155, 299, 152, 223, 287 e 221**, sendo que os alelos remanescentes são: **155, 225, 304, 381, 130, 262, 155, 287, 152, 219, 275 e 193**, de origem paterna e correspondem aos alelos identificados nas amostras de ossos e dentes supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, demonstrando assim a existência de vínculo genético entre eles.

Pela interpretação dos resultados obtidos nas pessoas examinadas: **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL, CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL E RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL** podemos afirmar que são filhos biológicos de **ODETE GATTASS e LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, demonstrando assim que os materiais biológicos (osso fêmur e os dentes) pertencem realmente à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**.

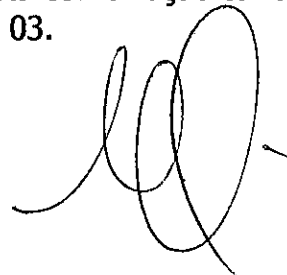
b) O quadro 02 indica na 1ª coluna os "loci" analisados, no total de 12, sendo os seguintes: **vWF1, D19S253, D18S51, D1S2131, D21S1437, D5S815, D2S428, D3S2386, FES, D7S820, D8S306 e D17S1185**. A 2ª coluna do quadro 02 indica os alelos de cada "locus" de **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** (mãe do falecido). A 3ª coluna indica os alelos de cada "locus" identificados nas amostras retiradas do osso fêmur e dos dentes fornecidos para exames (supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**). Nas 4ª, 5ª e 6ª colunas indicamos os alelos encontrados respectivamente nas amostras de sangue de **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS E ADEILTON MARQUES DO AMARAL** (indicados como irmãos biológicos de Leopoldino Marques do Amaral). Na 7ª e última coluna foram indicados os alelos de origem materna e paterna adquiridos a partir da correspondência para cada irmão do falecido, obtendo-se por exclusão a origem paterna.

- Pela análise e interpretação dos resultados demonstrados no quadro 02 verificamos que no material biológico examinado (ossos e dentes), supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, foram identificados os seguintes alelos: **143, 225, 296, 393, 134, 262, 159, 311, 152, 215, 275 e 213**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem materna; verificamos que na amostra de sangue de **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL** foram identificados os seguintes alelos: **143, 229, 284, 393, 130, 262, 159, 295, 152, 219, 275 e 217**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem materna; verificamos que na amostra de sangue de **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS** foram identificados os seguintes alelos: **147, 225, 296, 393, 130, 262, 159, 295, 152, 215, 275 e 217**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem materna; verificamos que na amostra de sangue de **ADEILTON MARQUES DO AMARAL** foram identificados os seguintes alelos: **143, 229, 284, 393, 130, 282, 143, 295, 152, 215, 283 e 213**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem materna. Estes resultados demonstram de forma concreta e objetiva que tanto **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, quanto ao material biológico examinado supostamente pertencentes a



**LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** são filhos biológicos de **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL**.

- Pela análise e interpretação dos resultados demonstrados no quadro 02 verificamos que no material biológico examinado (ossos e dentes), supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, foram identificados os seguintes alelos: **155, 225, 304, 381, 130, 290, 155, 287, 152, 219, 259 e 193**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem paterna; verificamos que na amostra de sangue de **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL** foram identificados os seguintes alelos: **143, 229, 304, 381, 130, 290, 155, 291, 152, 219, 259 e 225**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem paterna; verificamos que na amostra de sangue de **GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS** foram identificados os seguintes alelos: **155, 225, 288, 381, 122, 290, 155, 287, 152, 203, 271 e 193**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem paterna; verificamos que na amostra de sangue de **ADEILTON MARQUES DO AMARAL** foram identificados os seguintes alelos: **155, 225, 288, 381, 130, 290, 287, 152, 203, 259 e 225**, que correspondem a 50% de sua carga genética de origem paterna. Estes resultados demonstram de forma concreta e objetiva que tanto **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, quanto ao material biológico examinado supostamente pertencentes a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** são filhos biológicos de um mesmo pai biológico, demonstrando assim o grau de parentesco próximo entre eles (irmãos).
- Pela frequência e coincidência dos alelos identificados e comparados na população em questão, e através desta combinação encontrada na amostra de sangue de **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL, AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS, ADEILTON MARQUES DO AMARAL** e no materiais biológicos analisados, podemos comprovar que a probabilidade desta combinação ter ocorrido ao acaso é da ordem de 0,9999992, conforme Quadro 03.





QUADRO 03 – Tabela comparativa dos alelos maternos e paternos coincidentes entre o material biológico (ossos e dentes) e irmãos

- X - FILHO DESAPARECIDO - LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**  
**A - MÃE BIOLÓGICA - DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL**  
**B - PAI BIOLÓGICO – ALELOS DEDUZIDOS\***  
**1- FILHO - AUGUSTO MARQUES DO AMARAL**  
**2- FILHA - GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS**  
**3- FILHO - ADEILTON MARQUES DO AMARAL**

LOCI	A	X	1	2	3	B*	Frequência alélica
vWF1	147/143	143/155	143/143	147/155	143/155	155/143	0,2633
D19S253	229/225	225/225	225/225	229/229	225/225	225/229	0,1195
D18S51	284/296	296/304	284/304	296/288	284/288	304/288	0,1448
D1S2131	373/393	393/381	393/381	393/381	393/381	381/381	0,0132
D21S1437	130/130	134/130	130/130	130/122	130/122	130/122	0,3578
D5S815	282/282	262/290	262/290	262/290	282/290	290/290	0,0637
D2S428	143/155	159/155	155/155	159/155	143/155	155/155	0,2648
D3S2386	295/295	311/287	295/291	295/287	295/287	287/291	0,1310
FES	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	0,4155
D7S820	219/215	215/219	219/219	215/203	215/203	203/219	0,2806
D8S306	283/275	275/259	275/259	275/271	283/259	259/271	0,1764
D17S1185	217/213	213/193	217/225	217/193	213/225	193/225	0,1440
<b>TOTAL DA PROBABILIDADE ACUMULADA</b>							<b>0,9999992</b>

**Alelos maternos** herdados encontrados no material biológico supostamente pertencente a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** e coincidentes nas amostras de sangue dos supostos irmãos.

**Alelos paternos** herdados encontrados no material biológico supostamente pertencente a **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** e coincidentes nas amostras de sangue dos supostos irmãos.



### IX- CONCLUSÕES FINAIS

- Com base nos resultados obtidos nos exames de DNA (ácido desoxirribonucléico) pela técnica do PCR "*polimerase chain reaction*" e demonstrados no quadro de resultados nº 01, concluímos que o material biológico constituídos de 01 fêmur e 07 dentes pertencem à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, sendo que a coincidência dos alelos identificados nestes materiais biológicos e nas amostras sanguíneas coletadas de **LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL, CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL E RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL**, nos permite afirmar que estas três pessoas são filhos biológicos da pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**.
- Com base nos resultados obtidos nos exames de DNA (ácido desoxirribonucléico) pela técnica do PCR "*polimerase chain reaction*" e demonstrados no quadro de resultados nº 02, concluímos que o material biológico constituídos de 01 fêmur e 07 dentes pertencem à pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**, sendo que a frequência e a coincidência dos alelos identificados nestes materiais biológicos e nas amostras sanguíneas coletadas de **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL, AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS E ADEILTON MARQUES DO AMARAL** nos permite afirmar que **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL** é a mãe biológica da pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL** e que **AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL** são irmãos biológicos da pessoa de **LEOPOLDINO MARQUES DO AMARAL**.
- Com base na frequência e coincidência dos alelos identificados e comparados na população em questão (Quadro nº 03), bem como através nas combinação encontradas nas amostras de sangue de **DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL, AUGUSTO MARQUES DO AMARAL, GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS e ADEILTON MARQUES DO AMARAL**, e nos materiais biológicos analisados, podemos afirmar que a probabilidade de ter ocorrido esta combinação ao acaso é da ordem de 99,99%.

Piracicaba, 09 de novembro de 1999.

  
\_\_\_\_\_  
**PROF. DR. EDUARDO DARUGE**  
Prof. Titular da FOP/UNICAMP  
Perito Judicial



**FIGURA 01 – ODETE GATTASS**



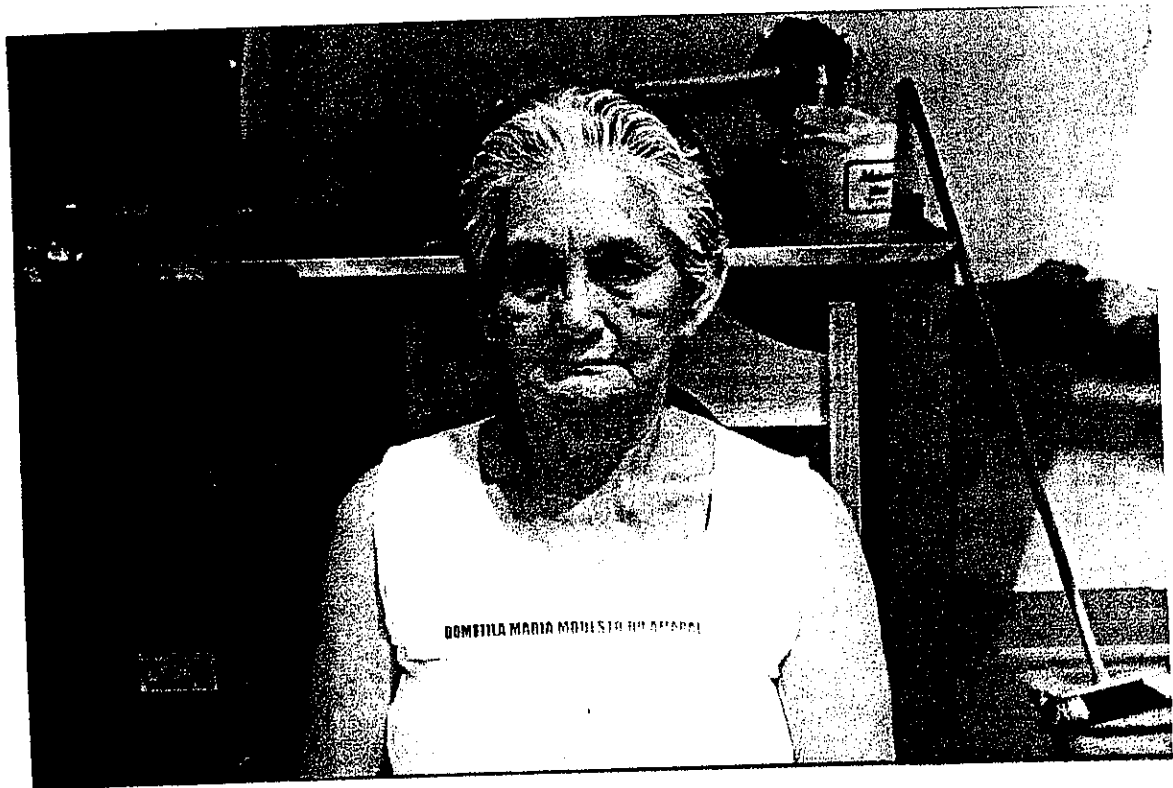
**FIGURA 02 – LEOPOLDO AUGUSTO GATTASS DO AMARAL**



**FIGURA 03 – CARLA ALESSANDRA GATTASS DO AMARAL**



**FIGURA 04 – RITA DE CÁSSIA GATTASS DO AMARAL**



**FIGURA 05 – DOMITILA MARIA MODESTO DO AMARAL**

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and curves, positioned to the right of the caption.



**FIGURA 06 – AUGUSTO MARQUES DO AMARAL**

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the end.





**FIGURA 07 – GONÇALINA MARQUES DO AMARAL MATOS**



**FIGURA 08 – ADEILTON MARQUES DO AMARAL**

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping loops and lines.