



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Ludmila Alem

**Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões digitais aplicadas
à prática forense**

Rio de Janeiro

2024

Ludmila Alem

Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões digitais aplicadas à prática forense

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A367 Alem, Ludmila.
 Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões digitais aplicadas à
prática forense / Ludmila Alem. - 2024.
 173 f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva

Doutorado (Tese) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de
Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Ciências forenses - Teses. 2. Impressões digitais de DNA. 3. Microscopia
Eletrônica de Volume. 4. Análise espectral. I. Silva, Dayse Aparecida da. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara
Gomes. III. Título.

CDU 343.983.6

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese,
desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Ludmila Alem

Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões digitais aplicadas à prática forense

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Dayse Aparecida da Silva (Orientadora)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Tatiana de Almeida Simão

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Denise de Abreu Pereira

Instituto Nacional do Câncer

Prof.^a Dra. Tatiana Lucia Santos Nogueira

Instituto de Biologia do Exército

Rio de Janeiro

2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que são ávidos pelo conhecimento científico, para que possamos seguir certos da nossa finitude do saber, mas esperançosos em seguir buscando aprender.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter guiado cada um dos meus passos até este presente momento, permitindo que no tempo certo, durante esta jornada dos últimos quase 5 anos, eu pudesse compreender que o doutoramento é um meio para o alcance das aspirações profissionais, sobretudo a docência, pela qual me encantei e envolvi concomitantemente ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu pai, Sander Alem, pela confiança nas minhas escolhas profissionais, longos e agradáveis diálogos sobre a vida e constantes palavras de incentivo. À minha mãe, Cirleide Orlandeli, pelas incessantes tentativas de se fazer presente ao tentar compreender o tema do meu doutoramento.

À minha grande amiga, Tatiana Nogueira, que esteve presente ativamente nos últimos 12 anos, desde o meu 2º estágio na graduação até a conclusão deste doutorado. Sua presença foi muito importante para viabilizar muitas das análises experimentais neste estudo, mas sobretudo, sua amizade foi fundamental para os momentos de angústia e também os de alegrias. Obrigada infinitamente!

À minha amada amiga “*Mozi*”, Laura Pasqualette, amigas companheiras desde o início da graduação, independente de em qual lugar do mundo estivermos, seus conselhos e palavras acolhedoras se fizeram extremamente importantes para trazer calma e lucidez a diversos momentos vividos nos últimos anos.

À grande rede de colaboradores que em diversos momentos prestaram auxílio para a realização deste trabalho: aos amigos Fábio Hiramoto e Alexandre Miceli, peritos papiloscopistas da Polícia Civil do Rio de Janeiro, ao amigo Renan Queiroz do Exército Brasileiro e à equipe da Seção de Criminalística da Escola de Instrução Especializada – EsIE, à equipe de peritos e auxiliares de perito do Centro de Criminalística da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro, na pessoa do comandante Coronel Rasteiro, que prontamente no meio de uma pandemia se dispuseram a auxiliar na produção de muitas amostras de estojos deflagrados para este estudo.

Aos meus alunos do Laboratório de Ciência e Tecnologia Forense da UERJ, especialmente ao Thiago Wood, Tiago Teotônio e Bárbara Dahmer pelas inúmeras doações de impressões digitais e participação paciente nos experimentos.

Àqueles que porventura não foram nominalmente citados, mas compartilharam algum momento, pessoal ou profissional, contribuindo para a conclusão deste doutoramento.

À professora Dra. Dayse Silva, pelo acolhimento na UERJ durante a graduação e pós-graduação, e por todas as experiências acadêmicas compartilhadas.

Values are like fingerprints.
Nobody's are the same, but you leave 'em all over everything you do.

Elvis Presley

RESUMO

ALEM, Ludmila. **Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões digitais aplicadas à prática forense**. 2024. 171 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

O desenvolvimento da Ciência Papiloscópica ao longo da última década evidenciou que o uso de impressões digitais para fins forenses não é limitado a apenas a análise morfológica tradicional e que a prática pericial pode se beneficiar do emprego de outras metodologias para a análise desse vestígio, como as análises genéticas, físicas e químicas. Essa tríade de análises foi investigada neste trabalho sob a perspectiva da datação de impressões digitais, contemplando a princípio as análises microestruturais e elementares de impressões digitais em placas de latão – superfície metálica de interesse forense, principalmente por ser o principal tipo de liga metálica constituinte de estojos de munição deflagrados, que são vestígios comumente encontrados em cenas de crime. Essas análises foram realizadas como o emprego da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS). Em um segundo momento, a vertente genética foi estudada a partir da análise de DNA de impressões digitais em superfície de estojos de munição deflagrados, com o emprego de uma dinâmica realística de produção de amostras, compatível com a prática. Os resultados das análises MEV-EDS indicaram que as cristas datiloscópicas têm uma tendência ao alargamento ao longo do tempo e que as alterações estruturais das cristas em superfícies metálicas podem ter uma relação direta com o processo de corrosão do metal ocasionado pela secreção écrina constituinte dos vestígios papiloscópicos. Os dados gerados a partir do EDS indicam que o oxigênio e cloro poderiam ser potenciais marcadores de temporalidade dos vestígios visto que suas quantidades relativas variaram acentuadamente em impressões recentes (0 dias) e envelhecidas (28 dias). As análises genéticas demonstraram que 85% das amostras apresentaram degradação e em nenhuma destas foi detectada inibição da reação de amplificação do DNA, resultando em uma taxa de sucesso de 22% na obtenção de perfil genético de impressões digitais nas condições testadas. Os resultados sugerem que a superfície metálica exerce significativa influência no sucesso da análise genética de estojos deflagrados e que a possibilidade de se obter um perfil genético a partir deste tipo de amostra muito embora apresente dificuldades é factível e não deve ser descartada. O uso combinado de técnicas que viabilizem o estudo das alterações físicas e químicas dos vestígios papiloscópicos é fortemente recomendado pela comunidade científica atualmente, muito embora possam ser abordagens mais complexas, para os avanços na datação de impressões digitais.

Palavras-chave: impressão digital; datação de vestígios; MEV-EDS; morfometria; DNA de toque; estojos de munição deflagrada.

ABSTRACT

ALEM, Ludmila. **Morphological, chemical, and genetic analysis of fingerprints applied to forensic practice**. 2024. 171 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

The development of dactyloscopy science over the last decade has shown that the use of fingerprints for forensic purposes is not limited to traditional morphological analysis and that forensic practice can benefit from the use of other methodologies for analyzing this trace, such as genetic, physical, and chemical analysis. This triad of analyses was investigated in this work from the perspective of fingerprint dating, initially considering the microstructural and elemental analyses of fingerprints on brass plates - a metal surface of forensic interest, mainly because it is the main type of metal alloy that makes up ammunition cases, which are traces commonly found at crime scenes. These analyses were carried out using the Scanning Electron Microscopy technique coupled with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM-EDX). Secondly, the genetic aspect was studied using DNA analysis of fingerprints on the surface of fired cartridge cases, using realistic sample production dynamics compatible with practice. The results of the SEM-EDX analysis indicated that ridges tend to widen over time and that the structural alterations of the ridges on metal surfaces may be directly related to the process of corrosion of the metal caused by the eccrine secretion constituting fingermark deposits. The data generated from EDX indicates that oxygen and chlorine could be potential markers of fingermark aging, since their relative quantities varied markedly in recent (0 days) and aged (28 days) prints. Genetic analysis indicated that 85% of the samples showed degradation and in none of them inhibition of the DNA amplification reaction was detected, resulting in a 22% success rate in obtaining genetic profiles from fingerprints under the conditions tested. The results suggest that the metal surface exerts a significant influence on the success of genetic analysis of deflagrated cases and that the possibility of obtaining a genetic profile from this type of sample, although it presents difficulties, is feasible and should not be ruled out. The combined use of techniques that make it possible to study the physical and chemical alterations of fingerprints is strongly recommended by the scientific community today, even though they may be more complex approaches, for advances in fingerprint age determination.

Keywords: fingerprinting; fingerprint age determination; SEM-EDS; morphometry; touch DNA; fired cartridge cases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Tipos de impressões digitais em locais de crime.....	30
Figura 2 –	Estrutura morfológica de um vestígio de impressão digital.....	31
Figura 3 –	Vestígio papiloscópico em artefato explosivo pós-detonação.....	33
Figura 4 –	Influência do tempo sob a morfologia de vestígios de impressões digitais.....	34
Figura 5 –	Ciclo de pesquisa para o desenvolvimento e datação de impressões papiloscópicas segundo Girod <i>et al.</i> (2016).....	35
Figura 6 –	Processo de desenvolvimento de um modelo matemático segundo Bassanezi, 2006 apud Pereira e Rita, 2020.....	37
Figura 7 –	Alterações visuais de vestígio papiloscópico ao longo do tempo...	40
Figura 8 –	Comparação do aspecto qualitativo de vestígios de impressão digital.....	41
Figura 9 –	Parâmetro para análise morfométrica de impressão palmar segundo Barros et al. (2013).....	42
Figura 10 –	Parâmetro para análise morfométrica de impressão digital segundo De Alcaraz-Fossoul et al. (2019).....	43
Figura 11 –	Seleção da área de aferição na impressão digital segundo De Alcaraz-Fossoul <i>et al.</i> (2019).....	44
Figura 12 –	Espectro e imageamento químico a partir de vestígio de impressão digital oriundo de cena de crime real segundo Bradshaw, Denison e Francese (2017).....	47
Figura 13 –	Micrografia de tecido óseo submetido à diferentes temperaturas.	49
Figura 14 –	Representação de estrutura física de um microscópio eletrônico de varredura.....	50
Figura 15 –	Representação de estrutura do canhão de elétrons no MEV.....	51
Figura 16 –	Filamento de tungstênio para MEV.....	52
Figura 17 –	Representação do processo de varredura de uma amostra por microscópio eletrônico de varredura e geração de imagem.....	53
Figura 18 –	Representação dos sinais gerados no MEV.....	53
Figura 19 –	Representação do processo de emissão de energia de raio-X.....	55
Figura 20 –	Representação de espectro por energia dispersiva de raios-X.....	55

Figura 21 –	Imagem gerada a partir de dectector de energias de raio-X.....	56
Figura 22 –	Aplicação da MEV na análise de ossos em caso real de homicídio	59
Figura 23 –	Comparação de vestígio de impressão digital visto com MEV e com Microscopia de Contraste de Fase.....	60
Figura 24 –	Detecção de impressão digital a partir da identificação de elementos químicos por MEV-EDS.....	62
Figura 25 –	Estrutura de uma munição de arma de fogo.....	63
Figura 26 –	Estrutura de um armamento do tipo pistola.....	64
Figura 27 –	Mecanismo de ação do tiro.....	64
Figura 28 –	Elementos identificadores dos estojos de munição.....	65
Figura 29 –	Procedimento de municiação de armamento.....	65
Figura 30 –	Vestígio de impressão digital revelado.....	66
Figura 31 –	Coletas de impressões digitais no período de setembro de 2022....	71
Figura 32 –	Coletas de impressões digitais no período de abril a maio de 2023	72
Figura 33 –	Micrografia de impressão digital no <i>software</i> GIMP.....	73
Figura 34 –	Exemplo de mapa químico EDS – elemento químico Carbono.....	75
Figura 35 –	Exemplo de espectro EDS.....	75
Figura 36 –	Esquema de pré-processamento amostral.....	77
Figura 37 –	Desenho esquemático que ilustra a produção e distribuição de amostras para as análises genéticas.....	79
Figura 38 –	Esquema de coleta de DNA utilizando papel de filtro em superfície de estojos deflagrados.....	81
Figura 39 –	Ilustração de processamento pré-automação segundo protocolo de O'Donnel (2015).....	81
Figura 40 –	Esquema de equipamento automatizado para extração de DNA.....	83
Figura 41 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 1.....	94
Figura 42 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 1.....	95
Figura 43 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 2.....	96
Figura 44 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 2.....	97

Figura 45 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 3.....	98
Figura 46 –	Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 3.....	99
Figura 47 –	Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 82 dias.....	100
Figura 48 –	Micrografia de impressão digital de 75 dias – voluntário 3.....	101
Figura 49 –	Caracterização química pontual através da técnica MEV-EDS de estrutura distinta em impressão digital aposta há 75 dias (continua)	101
Figura 50 –	Caracterização química pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 75 dias (continua).....	102
Figura 51 –	Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 3(continua)....	103
Figura 52 –	Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 2 (continua)..	105
Figura 53 –	Exemplo de mapa da composição química elementar gerado por MEV-EDS.....	108

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Representação gráfica das quantidades relativas de elementos químicos detectados nas impressões digitais no intervalo de 0 a 28 dias por voluntário.....	110
Gráfico 2 –	<i>Boxplot</i> comparativo do elemento carbono detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes.....	112
Gráfico 3 –	<i>Boxplot</i> comparativo do elemento oxigênio detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes.....	113
Gráfico 4 –	<i>Boxplot</i> comparativo do elemento sódio detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes.....	114
Gráfico 5 –	<i>Boxplot</i> comparativo do elemento cloro detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes	115
Gráfico 6 –	Comparativo das metodologias de coleta de DNA.....	117
Gráfico 7 –	Resultado da quantificação de DNA genômico por PCR em tempo real de amostras de estojos de munição deflagrados.....	119
Gráfico 8 –	Quantificação de DNA genômico em superfície de estojo de munição deflagrado considerando cada voluntário.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Exemplo de dados semiquantitativos gerados pela técnica EDS.....	77
Tabela 2 –	Correlação entre os tipos e quantidades de munições avaliadas e respectivos intervalos de tempo.....	79
Tabela 3 –	Relação de sondas utilizadas na quantificação absoluta por qPCR.....	84
Tabela 4 –	Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 1.....	88
Tabela 5 –	Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 2.....	89
Tabela 6 –	Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 3.....	90
Tabela 7 –	Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas – Voluntário 1.....	91
Tabela 8 –	Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas – Voluntário 2.....	92
Tabela 9 –	Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas – Voluntário 3.....	93
Tabela 10 –	Análise semiquantitativa por MEV-EDS de impressões digitais nos intervalos de 0 a 28 dias.....	109
Tabela 11 –	Análise estatística dos dados gerados por MEV-EDS (Two-Way ANOVA).....	111
Tabela 12 –	Detecção da quantidade relativa (%) de cloro em impressões digitais de 0 a 28 dias.....	111
Tabela 13 –	Resultados da quantificação absoluta por qPCR – Padronização de metodologia de coleta de DNA.....	116
Tabela 14 –	Resultados do teste de normalidade Shapiro-Wilk para a padronização de metodologia de coleta de DNA em estojos deflagrados.....	117

Tabela 15 –	Resultados da quantificação de DNA genômico total por PCR em tempo real dos estojos de munição deflagrados de calibre 9mm.....	118
Tabela 16 –	Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e teste post hoc de Dunn quando aplicados aos resultados da quantificação de DNA genômico nos estojos deflagrados.....	119
Tabela 17 –	Resultados da análise de regiões STR.....	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE-V	<i>Analysis, Comparison, Evaluation, and Verification</i>
BSE	<i>Backscattered Electrons</i>
C	Carbono
Ca ²⁺	Íon cálcio
CBC	Companhia Brasileira de Cartuchos
Cl	Cloro
Cl ⁻	Íon cloreto
Cu	Cobre
CuO;	Óxido cúprico
Cu ₂ O	Óxido cuproso
DNA	Ácido desoxirribonucleico
e.g.	<i>exempli gratia</i> , por exemplo
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X
EDX	<i>Energy Dispersive X-Ray</i>
ETOG	Encamisado Total Ogival
EZ1	Plataforma automatizada para a extração de ácidos nucleicos
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FTA	<i>Flinders Technology Associates</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
GC/MS	<i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
GSR	<i>Gun Shot Residues</i>
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IP	Impressão Papiloscópica
K	Potássio
K ⁺	Íon potássio
LABMEV	Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight</i>
MALDI-MS	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry</i>

MALDI MSI	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging</i>
MS	<i>Mass Spectroscopy</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MXRF	<i>Micro X-Ray Fluorescence Spectrometry</i>
Na	Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NTC	<i>No template control</i>
O	Oxigênio
PCA	Análise de Componentes Principais
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PLS	<i>Partial Least Squares</i>
qPCR	PCR quantitativo em tempo real
s.d.	Sem data
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>
SIMCA	<i>Soft Independent Modelling of Class Analogies</i>
STR	<i>Short Tandem Repeats</i>
ToF-SIMS	<i>Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry</i>
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UHPLC	<i>Ultra-high Performance Liquid Chromatography</i>
VMD	<i>Vacuum Metal Deposition</i>
Zn	Zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
mm	Milímetros
cps	<i>Counts per second</i>
gr	Grains
EXPO	Projétil de ponta expansiva
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
keV	Quiloelétron-volt
kV	Kilovolt
cm	Centímetro
rpm	Rotações por minuto
pg	Picograma
ng	Nanograma
°C	Graus Celsius
m/z	Massa/carga
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	20
1	OBJETIVOS.....	27
1.1	Gerais.....	27
1.2	Específicos.....	27
2	HIPÓTESES.....	28
3	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (EDS): PERSPECTIVAS ACERCA DA DATAÇÃO DE VESTÍGIOS.....	29
3.1	O vestígio papiloscópico em locais de crime.....	29
3.2	Caracterização morfológica do vestígio papiloscópico.....	30
3.3	Considerações acerca da datação de vestígios papiloscópicos	35
3.3.1	<u>Análise morfométricas de impressões digitais.....</u>	<u>39</u>
3.3.2	<u>Análise química de impressões digitais.....</u>	<u>40</u>
3.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	48
3.4.1	<u>Aplicações da Microscopia Eletrônica Varredura acoplada a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (MEV-EDS) no campo das Ciências Forenses.....</u>	<u>57</u>
4	ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS EM SUPERFÍCIE METÁLICA.....	63
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
5.1	Análise química por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS).....	70
5.1.1	<u>Preparo das amostras.....</u>	<u>70</u>
5.1.2	<u>Condições instrumentais MEV-EDS.....</u>	<u>72</u>
5.2	Análises morfométricas: aferição da espessura das cristas.....	73
5.2.1	<u>Protocolo para a aplicação da análise morfométrica em Papiloscopia.....</u>	<u>73</u>
5.3	Análises químicas elementares por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS).....	74
5.4	Análise genética.....	77
5.4.1	<u>Modelo experimental.....</u>	<u>77</u>

5.4.2	<u>Tipo de amostras</u>	78
5.4.3	<u>Tipos de munição</u>	78
5.4.4	<u>Voluntários</u>	78
5.4.5	<u>Análise temporal</u>	79
5.5	Padronização de metodologia de coleta de DNA da superfície dos estojos	80
5.6	Coleta de material genético dos estojos deflagrados	82
5.7	Procedimentos para a extração de DNA	82
5.8	Análise quantitativa: quantificação absoluta por PCR em tempo real	83
5.9	Genotipagem – Análise de STR	85
5.10	Análise Estatística	85
6	RESULTADOS	87
6.1	Protocolo para a aplicação da análise morfométrica em Papiloscopia	87
6.2	Análises morfométricas	91
6.3	Análises químicas elementares por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X	109
6.4	Padronização de metodologia de coleta de DNA da superfície dos estojos	115
6.5	Quantificação absoluta por PCR em tempo real – Estojos deflagrados	118
6.6	Análise de regiões STR	118
7	DISCUSSÃO	121
7.1	Análises morfológicas e químicas	121
7.1.1	<u>Considerações acerca da variação das espessuras das cristas ao longo do tempo</u> ..	121
7.1.2	<u>Considerações acerca da distribuição de elementos químicos nos vestígios digitais ao longo do tempo por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X</u>	126
7.2	Análises genéticas	131
	CONCLUSÕES	136
	REFERÊNCIAS	137
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	156
	APÊNDICE B – Protocolo “Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia”	158
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética	163
	ANEXO B – Comprovação de publicação do 1º artigo	167
	ANEXO C – Comprovação de publicação de 2º artigo (livro)	168
	ANEXO D – Comprovação de publicação de 3º artigo	173

INTRODUÇÃO

As Ciências Forenses são diferentes áreas do conhecimento científico aplicadas à análise de vestígios com o objetivo de resolver demandas judiciais de cunho criminal, civil ou trabalhista. De forma ampla e não categórica, as Ciências Forenses incluem o emprego das ciências naturais (biologia, química, física e suas combinações), de áreas mais especializadas como por exemplo a análise de grafias (Grafoscopia), documentos (Documetoscopia), impressões papiloscópicas (Papiloscopia), arcada dentária (Odontologia) e DNA (Genética), sendo as últimas três áreas constitutivas da Tríade da Identificação humana (Interpol, 2018).

Segundo o Código de Processo Penal “Quando a infração deixar vestígios, será indispensável o exame de corpo de delito, direto ou indireto, não podendo supri-lo a confissão do acusado” (Brasil, 1941) e que “Vestígio é todo objeto ou material bruto, visível ou latente, constatado ou recolhido que se relacione com a infração penal” (Brasil, 1941). Desta forma, numerosos tipos de vestígios são arrecadados para a apreciação nos mais diversos tipos de infrações, sendo que alguns destes podem ser submetidos a exames periciais em mais de uma área em uma análise multidisciplinar. Aliado a isso, os avanços tecnológicos na área científica têm permitido que técnicas analíticas mais robustas, sensíveis e eficazes venham sendo testadas e aplicadas a diversos tipos de vestígios (Sai, 2022), com o objetivo de aumentar a eficácia, confiabilidade e reprodutibilidade das análises forenses, bem como potencializar o uso dos vestígios coletados, o que dialoga com a interdisciplinaridade característica das Ciências Forenses.

Neste contexto, destacam-se os vestígios de impressões papiloscópicas (IP), comumente encontrados em cenas de crime e que são processados e analisados no âmbito da Papiloscopia Forense. Impressões papiloscópicas são marcas produzidas pelo contato das pontas dos dedos, palmas das mãos e plantas dos pés com o ambiente. As cristas (relevos) e sulcos (intervalo entre cristas também denominados de depressões) presentes na pele humana são os elementos morfológicos formativos das IP que são impressos em uma superfície mediante ao toque, podendo ser visíveis ou invisíveis a depender das circunstâncias do contato.

A formação da impressão digital em uma superfície ocorre pela transferência de diversos compostos que estão distribuídos nas cristas papiloscópicas das falanges distais das mãos. É uma mistura complexa que inclui compostos orgânicos e inorgânicos provenientes da produção endógena de glândulas sudoríparas (écrinas e apócrinas) e sebáceas e contaminantes externos como produtos de higiene pessoal, sujidades, produtos alimentícios (Girod,

Ramotowski e Weyermann, 2012). Ainda, também se encontram presentes nas impressões digitais, as células oriundas da descamação da pele e transferência de outras partes do corpo, o que permite a investigação do vestígio pela via da biologia e da genética forense (Ostojic *et al.*, 2014; Cavanaugh e Bathrick, 2018; Cornwell *et al.*, 2019).

Tradicionalmente, no contexto de uma cena de crime, as etapas de processamento de um vestígio papiloscópico que geralmente é latente (invisível), incluem a sua evidenciação com o uso de substâncias químicas conhecidas como reveladores químicos ou datiloscópicos, o registro fotográfico, a coleta (decalque) e por fim o exame de identificação, no qual o vestígio é submetido a uma análise comparativa (confronto) que objetiva chegar à identificação de autoria. O exame de confronto papiloscópico se trata de uma análise morfológica estabelecida e orientada por metodologia científica – método ACE-V (Análise, Comparação, Avaliação (*Evaluation*), Verificação) – consiste na observação da estrutura das cristas, suas áreas de interrupções e junções que formam os pontos característicos capazes de individualizar uma pessoa, o quantitativo destes pontos, bem como a observação de aspectos qualitativos (contraste, nitidez, fluxo e direção das cristas).

Na prática, a análise do vestígio papiloscópico é essencialmente morfológica e depende da sua visualização, o que muitas das vezes se torna um fator limitante pois os vestígios podem se apresentar deformados, fragmentados, arrastados, sobrepostos (Chen *et al.*, 2021; Khare e Singla, 2022).

As técnicas tradicionais de revelação incluem métodos ópticos, físicos e químicos os quais realizam a revelação com base na interação física ou reação química com os componentes constituintes das impressões (Holder, Robinson e Laub, 2011). Em algumas circunstâncias, os métodos tradicionais não são eficazes devido a um conjunto de fatores que podem ser categorizados em 1) composição química do vestígio, 2) superfície na qual o vestígio se encontra e 3) condições ambientais às quais está submetido o vestígio. Esses são fatores que influenciam diretamente o sucesso de uma perícia papiloscópica.

As superfícies são classificadas em porosas (aquelas que detém capacidade absorviva e rapidamente absorvem a água e outros componentes químicos polares – solúveis em água –), e.g., papel ofício, papelão, tecido, madeira não tratada; não porosas (aquelas que não possuem capacidade de absorção, ficando o vestígio exposto na superfície), e.g., vidro, metal, alguns tipos de plástico; e semi-porosas (apresentam propriedade absorviva lenta, sendo os vestígios solúveis absorvidos lentamente após o contato com este tipo de superfície) e.g., superfícies enceradas, papel fotográfico, alguns tipos de plástico (Georgia Bureau of Investigation, Division of Forensic Sciences, s.d.). Muitas vezes as superfícies têm natureza complexa devido

às suas características como grau de porosidade, por serem reflexivas, espelhadas, transparentes, multicoloridas, irregulares, texturizadas (Sue, 2016).

Além da superfície, fatores ambientais como exposição à luminosidade, umidade, variações de temperatura, poeiras e intervalo de tempo transcorrido entre o cometimento do crime e a revelação datiloscópica contribuem para a degradação do vestígio, tornando desafiador o seu processamento. Pelos métodos tradicionais é necessária a existência dos componentes constitutivos do vestígio, estando distribuídos em uma estrutura organizada de cristas e sulcos, que ao ser submetida às técnicas de revelação, gera uma imagem que possa ser visualizada e analisada tecnicamente pelo especialista.

O desenvolvimento da Ciência Papiloscópica ao longo da última década evidenciou que o uso de impressões digitais para fins forenses não é limitado a apenas a análise morfológica tradicional (Khare e Singla, 2022) e que a prática pericial pode se beneficiar do emprego de outras metodologias para a análise desse vestígio, como as análises genéticas, físicas e químicas.

A análise genética de impressões digitais, de materiais que foram manuseados ou que passaram por algum tipo de interação através do toque é uma das análises multidisciplinares em Ciências Forenses que vem despertando o interesse da comunidade científica desde o início dos anos 2000 (Cavanaugh e Bathrick, 2018) com aplicações práticas importantes, a princípio relacionadas com os crimes contra o patrimônio (Home Office, 2005; Roman *et al.*, 2008) nos quais a maioria se define por uma ação que envolve o toque, que são os crimes previstos no Título II: Dos Crimes contra o Patrimônio, artigo 155 a 180, do Código Penal (furto, roubo, usurpação, dano, apropriação indébita, estelionato, receptação) (Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940).

Os avanços tecnológicos que agregaram sensibilidade e eficácia às técnicas de biologia molecular empregadas nesse campo multidisciplinar de estudo, permitiram que outros tipos de vestígios oriundos de crimes como homicídios e demais crimes contra a vida fossem submetidos à análise genética. Um exemplo são os estojos de munição, frequentemente encontrados em cenas de crime que envolveram o uso de armas de fogo e que para tanto, foram previamente manuseados. O processamento genético de impressões digitais neste tipo de evidência pode estabelecer um vínculo de autoria delitiva (Montpetit, 2019; Jansson *et al.*, 2020).

Em uma classificação genérica, os estojos de munição são superfícies metálicas e não porosas, mas podem apresentar diferentes composições como metais simples, alumínio ou ligas metálicas como o latão, sendo este último, o caso de muitos tipos de estojos de munição (Gashi *et al.*, 2010; Girelli *et al.*, 2015; Thandauthapani *et al.*, 2018).

Das superfícies metálicas de interesse forense, os estojos de munição deflagrados têm sido alvo de pesquisas no que diz respeito a detecção de impressões digitais (Bentsen *et al.*, 1996, James e Altamimi, 2015; Girelli *et al.*, 2018; Christofidis, Morrissey e Birkett, 2019; Lam *et al.*, 2022) bem como do aproveitamento dessas impressões digitais nas superfícies de estojos deflagrados para análises no campo da genética forense (Horsman-Hall *et al.*, 2009; Montpetit e O'Donnell, 2015; Prasad *et al.*, 2021; Elwick *et al.*, 2022).

A detecção de vestígios papiloscópicos em superfícies metálicas é de grande interesse para a segurança pública e para a sociedade devido ao emprego de diferentes tipos de metais e ligas metálicas para a produção de ferramentas, maquinários, joias, artes, armamentos, munições, infraestrutura de transporte, telecomunicações e energia (Pitera *et al.*, 2018) que estão frequentemente relacionados com diversos tipos de crimes e.g. furtos, roubos e homicídios. Apesar disso, as taxas de obtenção de vestígios papiloscópicos em superfícies metálicas são baixas, tornando o processamento destes tipos de superfície um desafio, o que evidencia a necessidade de pesquisas que investiguem a estrutura morfológica destas superfícies, o comportamento dos vestígios ao longo do tempo e os fatores que podem influenciar o sucesso das perícias papiloscópicas nestas condições.

Estudos apontam que uma combinação de fatores químicos e físicos atuam sob as superfícies metálicas (Tahtouh *et al.*, 2005; Pitera *et al.*, 2018; Chadwick *et al.*, 2018). A exposição da superfície metálica às intemperes climáticas pode alterar as suas propriedades, sobretudo a sua molhabilidade, ou seja, as sujidades, oxidação, aderência de líquidos ou água presentes no ambiente dentre outros fatores alteram a forma como os elementos constituintes da impressão digital irão se comportar na superfície. Uma superfície lisa, não oxidada e limpa terá uma dispersão dos componentes do vestígio distinta de uma superfície que foi exposta a uma diversidade de fatores ambientais altamente variáveis e não previsíveis em um cenário realístico. Assim, ao longo do tempo a superfície metálica antes hidrofílica pode se tornar hidrofóbica em razão da exposição às intemperes (Kim, Kim e Chu, 2016 ; Pitera *et al.*, 2018).

Além disso, diferenças na composição e propriedades dos metais e.g. rugosidade, porosidade, condutividade, susceptibilidade aos processos oxidativos, bem como a variabilidade na quantidade e tipos de moléculas transferidas durante o contato e a presença de produtos de oxidação oriundos deste são apontados como fatores que afetam a detecção dos vestígios papiloscópicos (Bond, 2008; Christofidis, Morrissey e Birkett, 2018).

Neste cenário, o campo de estudo na área expandiu de modo significativo nos últimos anos com vistas à incorporação do uso de novas tecnologias, métodos analíticos e análises instrumentais ópticas e físicas para a detecção do vestígio papiloscópico (Egli *et al.*, 2013;

Bécue e Champod, 2016; Chadwick *et al.*, 2018). Uso de abordagens como Raman, Reflexão Ultravioleta, Reflexão Infravermelho, Deposição de Metal à Vácuo (VMD), Microscopia de Força de Sonda Kelvin, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopias associadas, Ionização e dessorção a laser assistida por matriz – Espectrometria de Massas e Imageamento de Espectrometria de Massas (MALDI-MS, MALDI-MSI ou MALDI Imaging) e diversos tipos de cromatografias têm sido estudados por muitos grupos, não somente para fins de detecção do vestígio, mas compreensão do comportamento desse nas superfícies (Saferstein e Graf, 2001; Tahtouh, 2008; Connatser *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2012; Gibson, Bannister e Bleay, 2012; Wang *et al.*, 2015; King, Hallet e Foster, 2016; Khuu *et al.*, 2016; Pitera *et al.*, 2018; Bécue, Eldridge e Champod, 2020). O uso da MEV particularmente se revelou uma ferramenta eficaz na exploração da microestrutura das superfícies e das impressões reveladas, fornecendo informações úteis sobre a interação da impressão digital com a superfície, e sua posterior evidenciação (Pitera *et al.*, 2018).

Chadwick e colaboradores (2018) estudaram mais de 14 mil impressões digitais, concluindo que as técnicas de detecção atuais não detectam todas as impressões digitais disponíveis em uma superfície, reforçando a necessidade de mais pesquisas sobre os fundamentos da detecção de marcas digitais.

Da mesma forma, ao se tratar da recuperação de DNA de impressões digitais a partir dos estojos de munição na prática forense, verifica-se que se trata de uma análise complexa devido à baixa quantidade de DNA transferida durante o contato e a subsequente perda deste durante o evento do tiro (Jansson *et al.*, 2020). Estudos apontam que cada indivíduo tem uma propensão à maior ou menor descamação celular, impactando nesta quantidade de material genético que é transferido durante o manuseio de uma munição (Lowe *et al.*, 2002; Kanokwongnuwut *et al.*, 2018).

O material que compõe o estojo, tamanho e textura são fatores que podem influenciar na quantidade de DNA aderida à superfície da munição (Gashi *et al.*, 2010; Ray, Mottar e Foran, 2015; Mawlood *et al.*, 2015; Fan *et al.*, 2017; Milnthorp, McKiernan e Danielson, 2018). Outros estudos assumem a hipótese de que os eventos relativos ao tiro que acontecem dentro da câmara do armamento (aumento de temperatura, queima de pólvora, liberação de gases propelentes que são corrosivos) e o próprio tipo de munição (e.g. há variação na carga propelente entre munições de pistolas e fuzis que pode impactar na quantidade de gases liberados e temperatura no interior da câmara de ejeção do armamento) tem relação com a quantidade e qualidade do DNA que permanece disponível para análise no estojo após o tiro (Gashi *et al.*, 2010; Mawlood *et al.*, 2015; Alem *et al.*, 2022).

Todos estes fatores não podem ser controlados e compreende-se que sejam altamente variáveis. No entanto, as práticas laboratoriais adotadas no processamento genético destes vestígios podem ser aprimoradas para a maximização dos resultados. Nessa vertente, os estudos de padronização de protocolos, testagens de metodologias aprimoradas para as etapas de coleta e extração, bem como o uso de kits de amplificação de DNA mais sensíveis e com maior cobertura de regiões do genoma se tornam muito importantes. Além disso, o desenvolvimento destes estudos em âmbito nacional é relevante para a compreensão realística da aplicabilidade destas técnicas para a perícia brasileira.

A natureza das interações entre as superfícies metálicas e os vestígios de impressões digitais, bem como as interações com os reveladores químicos aplicados, parecem estar relacionadas com a degradação celular e estrutural, e afetar tanto os resultados das análises morfológicas no campo da papiloscopia e como também as análises genéticas (Gashi *et al.*, 2010; Houck, 2016). Somado a estes fatores, o intervalo de tempo transcorrido entre o contato com a superfície e a detecção do vestígio papilar, ou seja, a idade da impressão papiloscópica, é outra variável que tem ganhado destaque na comunidade científica nos últimos anos visto que a degradação dos compostos presentes nas impressões digitais ocorrida ao longo do tempo pode influenciar nas análises subsequentes desses vestígios (Cadd *et al.*, 2015; Girod *et al.*, 2016; Thandauthapani *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2021; Khare e Singla, 2022; Patten *et al.*, 2023).

A determinação da idade de uma impressão papiloscópica é um desafio para as Ciências Forenses pois muitas variáveis estão envolvidas: o doador (características intrínsecas da fisiologia do indivíduo), as condições de deposição (tempo e ângulo de contato, pressão), a superfície, as técnicas de revelação aplicadas e as condições ambientais (temperatura, umidade, iluminação no momento da deposição e no período subsequente) (Girod *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2020).

As pesquisas relativas à datação de impressões digitais dividem-se em duas vertentes: as alterações na morfologia (cristas, minúcias e poros) (Pleik, 2016; Popa *et al.*, 2010; Meneses *et al.*, 2013; Czech *et al.*, 2019; De Alcaraz-Fossoul e Javer, 2022) e a degradação dos componentes químicos (Girod *et al.*, 2012; Pleik *et al.*, 2016; Girod *et al.*, 2016; Patten *et al.*, 2023). Dentre as metodologias de datação propostas até então, o estudo da degradação das substâncias químicas é promissor, pois diversos compostos-alvo, (biomarcadores) podem ser estudados com a aplicação de diferentes técnicas analíticas. Uma estratégia metodológica chave neste sentido é a identificação de compostos relativamente estáveis na composição inicial ou de subprodutos de transformação na composição envelhecida.

Dos componentes endógenos presentes nas impressões digitais, os lipídios são potenciais biomarcadores sendo passíveis de análises por técnicas cromatográficas comuns aos laboratórios de química das universidades e unidades de perícia oficial (Archer *et al.*, 2005; Ricci *et al.*, 2007; Mountfort *et al.*, 2007; Mickells, 2008; Tang *et al.*, 2010; Cadd *et al.*, 2015; Patten *et al.*, 2023). Muito embora amplamente utilizadas, essas técnicas implicam necessariamente na destruição do vestígio para o seu processamento. Neste contexto, técnicas não destrutivas como a espectrometria de massas por imageamento químico (MALDI-MSI) e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) associada a espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) tornam-se relevantes para a investigação da composição química de impressões digitais ao longo do tempo (Bailey *et al.*, 2012; Szykowska *et al.*, 2013; Wightman *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2020).

A MEV acoplada a EDS permite uma investigação da estrutura física e química do vestígio papiloscópico ao longo do tempo. A microscopia eletrônica de varredura permite uma caracterização física pela obtenção de imagens de alta resolução, que fornece informações sobre a morfologia e as condições físicas do sistema vestígio papiloscópico-superfície. Além desta caracterização morfológica, devido à geração de imagens de alta definição, a microscopia viabiliza o estudo de datação por meio da morfometria, que se refere à avaliação das alterações de espessura das cristas papiloscópicas em função do tempo (Barros *et al.*, 2013). Na morfometria, as cristas são aferidas a partir da obtenção da imagem da impressão papiloscópica e emprego de softwares que possuam ferramenta de medição.

A partir da associação da microscopia com a EDS, os componentes químicos inorgânicos como carbono, oxigênio, sódio e potássio detectados nas impressões digitais podem ser explorados como potenciais indicadores da idade do vestígio tendo em vista a variação nas quantidades relativas destes componentes nas impressões ao longo do tempo. A MEV acoplada a espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) se torna interessante para a aplicação forense ao permitir uma análise química elementar não destrutiva e de baixo custo.

O estudo multidisciplinar das impressões digitais foi contemplado neste trabalho de doutoramento e organizado em dois capítulos, sendo o capítulo I dedicado à caracterização morfológica e química de impressões digitais por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) sob a perspectiva da datação de vestígios papiloscópicos, e o capítulo II à do perfil genético por meio da análise de microssatélites (STR).

1 OBJETIVOS

1.1 Gerais

- a) Caracterizar impressões digitais ao longo do tempo através das análises de composição química elementar e morfometria com vistas a determinar o tempo de aposição do vestígio.
- b) Analisar a viabilidade da obtenção de perfis genéticos a partir de impressões digitais latentes em superfície metálica de estojos de munição deflagrados.

1.2 Específicos

- a) Avaliar o comportamento das cristas datiloscópicas das impressões digitais apostas em superfícies metálicas por MEV nos intervalos de tempo de 0 a 80 dias;
- b) Desenvolver um protocolo para a aferição da espessura das cristas (análises morfométricas) aplicado às impressões digitais;
- c) Aferir a espessura das cristas das impressões digitais ao longo dos intervalos de tempo estabelecidos através das imagens de alta definição geradas por MEV;
- d) Avaliar o perfil de degradação de elementos químicos nas impressões digitais ao longo do tempo através de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS);
- e) a) Avaliar a qualidade e a quantidade de material genético obtido de impressões digitais apostas em superfícies de estojos de munição deflagrados de calibre 9mm por meio de qPCR;
- f) b) Analisar a interferência do intervalo de tempo na viabilidade da obtenção de perfil genético;
- g) c) Contribuir para o aprimoramento da qualidade dos serviços periciais no âmbito criminal, realizados por instituições militares e civis, ao capacitar os peritos criminais, visando o desenvolvimento das Ciências Forenses em prol da Segurança Pública e Defesa Nacional.

2 HIPÓTESES

- a) Os elementos químicos presentes nas impressões digitais são influenciados pela passagem do tempo, podendo ter sua quantidade relativa aumentada ou diminuída em função das transformações sofridas pelos constituintes das impressões digitais.
- b) As imagens de alta resolução geradas pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura podem viabilizar o uso de análises morfométricas com mais precisão.

3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (EDS): PERSPECTIVAS ACERCA DA DATAÇÃO DE VESTÍGIOS

3.1 O vestígio papiloscópico em locais de crime

O Princípio da “Troca de Locard” foi apresentado por Edmond Locard, criminólogo francês e diretor do primeiro Laboratório Forense em Lyon (França) no princípio do século XX, e tornou-se o princípio básico da Ciência Forense: “Todo contato deixa um traço” (Mummery, 2021). O princípio se organiza em três pilares: transferência, persistência e relevância, de modo que, sempre que dois objetos entrarem em contato, haverá uma transferência de material entre eles (Summerscales e Gwinnett, 2017), que pode persistir no tempo e ser relevante para uma determinada investigação. Neste contexto, o contato entre um indivíduo e uma superfície sempre resultará em uma troca, de modo que, o indivíduo deixa alguma informação sua na superfície – vestígios da interação – e leva consigo algo desta. Locard ainda postulou que, a análise minuciosa destes vestígios poderia levar à identificação dos criminosos e vítimas em um contexto de locais de crime (Locard, 1940).

As informações deixadas mediante ao contato são diversas, em escala microscópica ou macroscópica: fios de cabelo, pelos, suor, gotículas de saliva, fibras têxteis, células epiteliais de descamação, impressões papiloscópicas, manchas de sangue, entre outros (Sharma *et al.*, 2017; Morillas *et al.*, 2022; Khei *et al.*, 2023). No que diz respeito às impressões papiloscópicas, a partir do contato das pontas dos dedos, palmas das mãos e planta dos pés com as superfícies, há a transferência de um conjunto de elementos químicos constituintes das impressões (Cadd *et al.*, 2015) deixando naquela área um vestígio capaz de ser rastreado à fonte que o gerou, viabilizando a partir da aplicação de técnicas especializadas, a identificação do vestígio papiloscópico.

3.2 Caracterização morfológica do vestígio papiloscópico

A detecção do vestígio papiloscópico está contemplada rotineiramente nas perícias realizadas em locais de crime ou em objetos que tenham correlação com este por solicitação de autoridade competente, bem como também se relaciona com as perícias realizadas em objetos/materiais questionados de modo geral (exemplo: perícia particular).

Neste cenário, a depender do tipo de interação que gera a transferência do vestígio papiloscópico para a superfície periciada, três categorias de vestígios digitais podem ser elencados: impressões visíveis ou patentes que são tipos de vestígios ostensivos, não sendo necessária a aplicação de técnicas de revelação para tornar a impressão visível pois encontram-se impregnadas com quaisquer elementos que as tornem visíveis, como sangue, tinta ou graxa; impressões moldadas ou plásticas as quais são tipos de vestígios apostos em superfícies maleáveis, capazes de moldar-se à forma do dedo sobre ela pressionado. São por vezes vestígios também visíveis e por fim, as impressões latentes que são os tipos mais comuns de vestígios no âmbito das perícias papiloscópicas (Alem, 2022). Essas demandam a aplicação de técnicas de revelação especializadas (e.g. técnica dos pós, ninidrina, cianoacrilato, entre outras) para que sua estrutura física possa ser visualizada e sequencialmente documentada e identificada (Figura 1).

Figura 1 – Tipos de impressões digitais em locais de crime



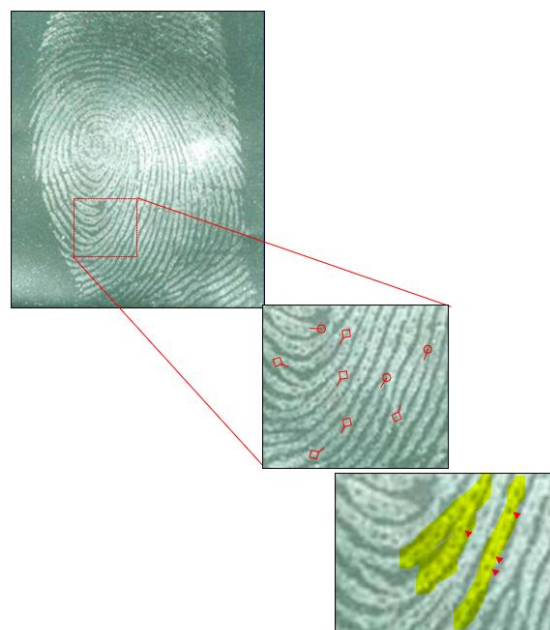
Legenda: Impressão digital visível em função da transferência de resíduo alimentício (chocolate) para a falange distal antes do contato com a superfície (à esquerda); Impressão digital moldada – seta amarela – em superfície maleável (chocolate) (no centro); e Impressão digital latente em superfície plástica (tubo Falcon) em processo de revelação com a técnica dos pós – pó vulcão preto (à direita).

Fonte: A autora, 2023.

O vestígio é analisado quanto às suas características morfológicas físicas quais sejam o padrão de cristas e a existência de minúcias. Também é considerado nesta análise o aspecto qualitativo do vestígio: visibilidade da estrutura física do vestígio (nitidez), fluxo, inclinação, alinhamento e direção das cristas. A avaliação da estrutura física dos vestígios papiloscópicos, sobretudo dos vestígios de impressões digitais mais comumente empregados na rotina pericial, integra a primeira das etapas da metodologia científica denominada ACE-V – etapa de análise – a qual é empregada nos exames comparativos para a identificação dos vestígios pela datiloscopia.

A caracterização física dos vestígios de impressões digitais pode ser dividida em três níveis, sendo o primeiro nível referente à estrutura macroscópica do vestígio no qual serão contemplados os padrões que assumem as cristas datiloscópicas. O segundo nível se correlaciona com a observação das minúcias que são mudanças na conformação das cristas, formando estruturas distintas em posições particularmente únicas em cada vestígio. Por fim, o terceiro nível é caracterizado pelos poros, estruturas microscópicas as quais se distribuem ao longo das cristas, assumindo número, posição, formato e distribuição singulares. Os poros são a porção externa de ductos de excreção das glândulas sudoríparas presentes na pele das mãos e pés (Figura 2). As substâncias excretadas pelos poros contribuem para a composição química dos vestígios papiloscópicos.

Figura 2 – Estrutura morfológica de um vestígio de impressão digital



Legenda: No primeiro quadro, estrutura macroscópica de uma impressão digital, sendo visíveis os conjuntos de cristas (relevos mais esbranquiçados) e sulcos que formam imagens características. É a partir dessa estrutura que a impressão digital é inicialmente analisada em uma perícia (Nível 1) e pode ser classificada de acordo com o Sistema Datiloscópico de Vucetich, vigente atualmente no Brasil; No quadro do meio, os losangos e círculos apontam as minúcias, bifurcações e pontas de linha, respectivamente (Nível 2); No último quadro, as marcações em amarelo caracterizam as minúcias e as setas indicam distribuição de poros na região selecionada (Nível 3).

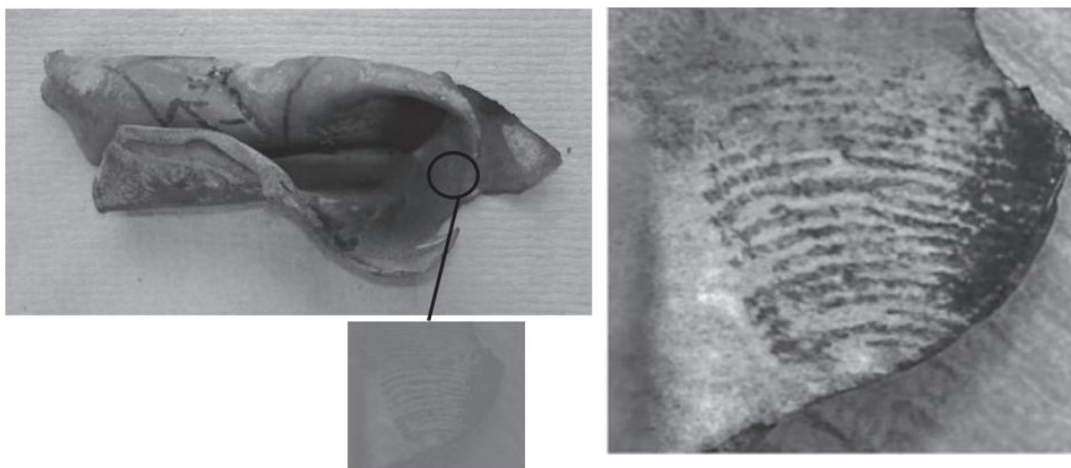
Fonte: A autora, 2023.

As impressões digitais latentes são o tipo mais comum de vestígio papiloscópico no contexto forense (Lian *et. al*, 2020). A visualização de sua estrutura física perpassa pela etapa metodológica de revelação com o uso de reveladores datiloscópicos físicos, químicos (Ramotowski, 2012; Bumbrah, 2017) e mais recentemente, com o avanço das tecnologias, há procedimentos de revelação denominados “*contactless*”, os quais não utilizam a aplicação de substâncias reveladoras, mas empregam mecanismos de captura fotográfica com diferentes comprimentos de onda e filtros digitais (Yin e Hu, 2016; Low *et. al*, 2017; McGuigan e Christmas, 2022).

O sucesso na visualização do vestígio papiloscópico é determinado por múltiplas variáveis como a superfície na qual se encontra apostado, a técnica utilizada para a detecção, as condições de deposição do vestígio, a composição química inicial do vestígio, a composição química no momento da revelação, as condições ambientais às quais o vestígio está exposto e o processo de degradação ocorrido no vestígio ao longo do tempo, o qual irá impactar na visualização de sua estrutura física. Bond, Phil e Brady (2013) estudaram a recuperação de vestígios papiloscópicos em fragmentos de um artefato explosivo. Nesse caso, os vestígios foram submetidos a condições ambientais desafiadoras envolvendo a fragmentação da

superfície ocasionada pelo acionamento do dispositivo explosivo e o aumento de temperatura durante esse processo, além de estarem apostos em superfície metálica o que viabiliza os processos oxidativos dos componentes lipídicos que constituem o vestígio papiloscópico (Figura 3).

Figura 3 – Vestígio papiloscópico em artefato explosivo pós-detonação



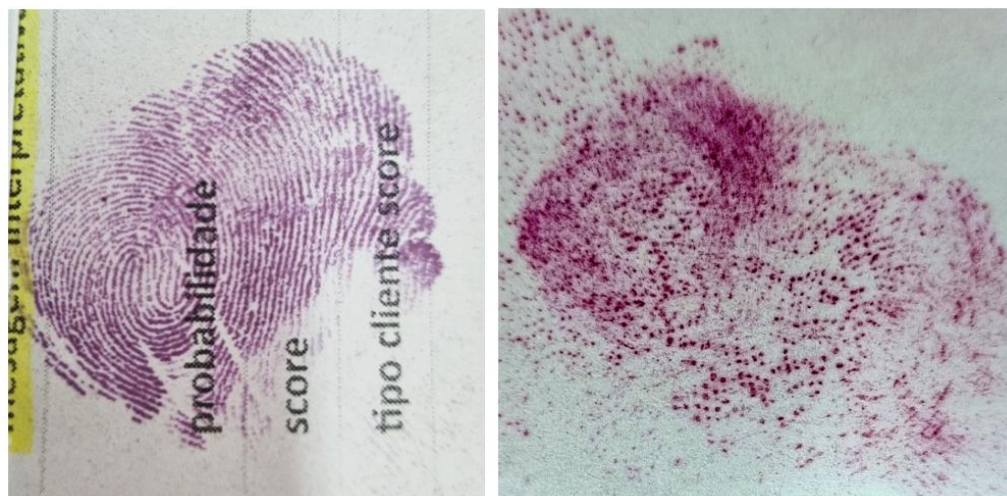
Legenda: À esquerda, fragmento de explosivo com indicação de área que apresenta vestígio de impressão digital. À direita, fotografia direta do vestígio digital após melhoramento de imagem.

Fonte: Adaptado de Bond, Phil e Brady, 2013.

O impacto da passagem natural do tempo sob o vestígio é outro tópico bastante discutido na comunidade científica, evidenciado principalmente pelos desdobramentos jurídicos relativos ao vestígio papiloscópico como prova condenatória. Quando um réu em um processo ou suspeito em uma investigação não questiona a identificação do vestígio, admitindo ser o autor, mas sim o momento que a impressão digital foi deixada no local, indicando que o momento do contato tenha sido diferente do momento do crime (Girod *et al.*, 2016).

A figura 4 exemplifica dois vestígios papiloscópicos apostos no mesmo tipo de superfície porosa (papel) e que foram revelados com a mesma técnica (ninidrina) em diferentes intervalos de tempo os quais foram estimados a partir de informação fornecida pelas vítimas, e não precisados cientificamente. É possível observar que a passagem do tempo gera alterações físicas na estrutura das cristas da impressão digital, como interrupções no fluxo das linhas e dificuldade na visualização nítida dos limites das cristas e das minúcias.

Figura 4 – Influência do tempo sob a morfologia de vestígios de impressões digitais



Legenda: À esquerda, vestígio revelado aproximadamente 5 a 7 dias após contato com a superfície. À direita, vestígio revelado em torno de 5 meses após contato com a superfície. Observar a descontinuidade nas cristas no vestígio mais antigo.

Fonte: A autora, 2023.

Independentemente do mecanismo de detecção utilizado para se obter o registro visual do vestígio, sua caracterização física é empregada rotineiramente para viabilizar a identificação do vestígio, com vistas à determinação de autoria delitiva.

Nos últimos 40 anos, diversas pesquisas foram conduzidas no intuito de determinar a idade de um vestígio de impressão digital (Archer *et al.*, 2005; Cadd *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2021). No entanto, atualmente a determinação do tempo transcorrido entre o contato e a detecção de um vestígio papiloscópico é ainda um tema desafiador e em desenvolvimento na Ciência Papiloscópica (Chen *et al.*, 2021).

A dinâmica complexa de interações entre o vestígio, a superfície e as condições do ambiente podem contribuir para a preservação do vestígio ou para sua degradação e diminuição da sua capacidade de recuperação (Girod *et al.*, 2016). Nesse sentido, o estudo da estrutura física, bem como dos elementos que compõem essa estrutura em determinado tipo de superfície com vistas à determinação ou estimativa científica do intervalo de tempo é importante para uma análise mais profunda do vestígio e que dialoga com os questionamentos cada vez mais vistos no âmbito jurídico acerca do emprego da impressão digital como prova científica.

3.3 Considerações acerca da datação de vestígios papiloscópicos

Girod *et al.* (2016) propuseram um ciclo de pesquisa para desenvolver e testar métodos de datação para aplicação prática (Figura 5).

Figura 5 – Ciclo de pesquisa para o desenvolvimento e datação de impressões papiloscópicas segundo Girod *et al.* (2016)



Fonte: A autora com base em Girod *et al.* (2016).

As características alvo são informações físicas ou químicas que estejam presentes em todas as impressões digitais, que sejam mensuráveis e que se alterem ao longo do tempo de modo reprodutível (Girod *et al.*, 2014; Frick *et al.*, 2015). No caso da morfometria, as características alvo podem se referir à espessura, altura, continuidade de cristas, contagem de minúcias nas cristas (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2016).

Na sequência, essa característica alvo do vestígio papiloscópico deveria ser analisada por uma metodologia analítica disponível nos laboratórios forenses, tal qual seja idealmente reprodutível, não destrutiva, versátil para atender às diferentes condições que se apresenta um vestígio real, de baixo custo e de rápido processamento. Essa perspectiva dialoga com a necessidade do desenvolvimento ou aprimoramento de metodologia que possa ser aplicada na rotina. Pela complexidade do tema, muitas pesquisas são simultaneamente desenvolvidas em distintos centros de pesquisa, gerando uma grande quantidade de informação, no entanto, muitas das técnicas apresentam empecilhos para uma aplicação prática, sejam operacionais ou

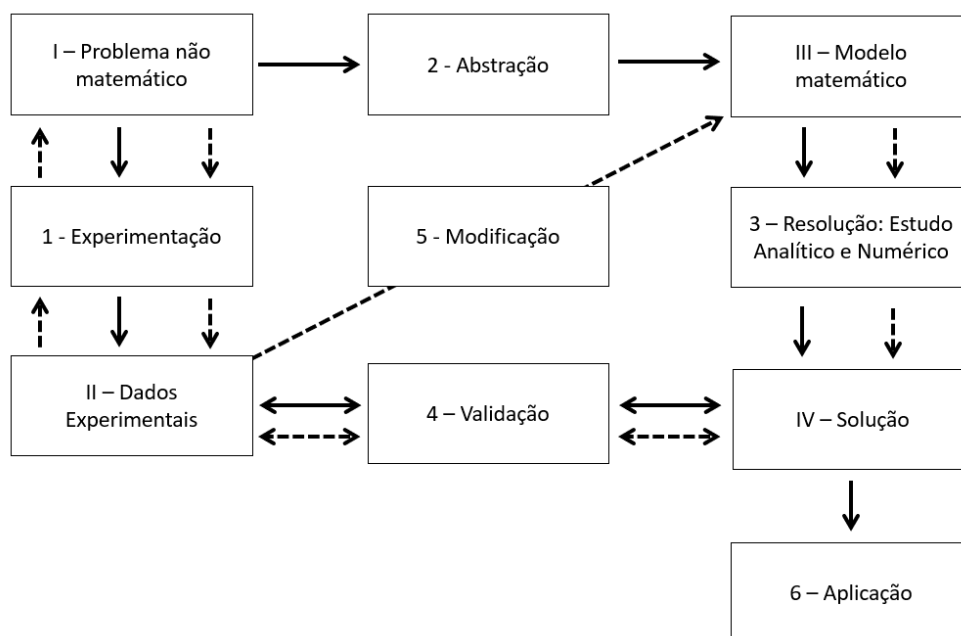
orçamentários, o que destaca a importância da continuidade das pesquisas, refinamento de dados e aprimoramento de metodologias.

Ao determinar a característica que será o marcador de temporalidade e o método para analisá-lo, o processo de envelhecimento do marcador deverá ser modelado em função do tempo, considerando neste modelo todos os fatores que podem influenciar em sua degradação como os fatores conhecidos: o doador (se o suspeito for identificado), o tipo de superfície e a técnica de revelação. Outros fatores apresentam grande dificuldade na reprodução como pressão aplicada no contato, condições ambientais, variabilidade intrapessoal e interpessoal (Hansen e Jouille, 2005; Girod *et al.*, 2014; Girod *et al.*, 2016).

Nessa etapa, o desafio é a construção de um modelo de envelhecimento (modelagem) que pode ser matemático ou não, sendo que a maioria das pesquisas utilizam uma modelagem matemática das mais simples, e.g. regressão linear (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2016; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2019) às mais complexas, envolvendo teses estatísticos mais robustos e combinados, e.g. análise de componentes principais (PCA) combinada com modelagem independente e flexível por analogia de classe (SIMCA) (Girod *et al.*, 2016).

Segundo Biembengut, 1997, p. 89 apud Pereira e Rita (2020), um modelo matemático é “um conjunto de símbolos e relações matemáticas que traduz, de alguma forma, um fenômeno em questão ou um problema de situação real (...)” e para o seu desenvolvimento algumas etapas devem ser seguidas (Figura 6).

Figura 6 – Processo de desenvolvimento de um modelo matemático segundo Bassanezi, 2006
apud Pereira e Rita, 2020



Legenda: As setas contínuas indicam a primeira aproximação; já as setas pontilhadas pertencem a um Modelo Matemático que melhor descreve o problema estudado e o torna dinâmico.

Fonte: Pereira e Rita, 2020.

A etapa de experimentação, como o próprio nome clarifica, refere-se à fase de obtenção dos dados, é o desenho e o desenvolvimento dos experimentos. Os métodos aqui adotados são intrínsecos à natureza do experimento e aos objetivos da pesquisa.

Pereira e Rita (2020) explicam que:

A abstração é o que deve levar à formulação do Modelo Matemático. Nesta fase, estabelece-se: a seleção de variáveis, problematização ou formulação dos problemas teóricos numa linguagem própria da área em que se está trabalhando, formulação de hipóteses e a simplificação do problema (Pereira e Rita, p. 38, 2020).

No que diz respeito à datação de impressões digitais, é nesta fase que as variáveis que influenciam a degradação do vestígio devem ser identificadas. Os estudos que abordam o comportamento das características alvo isoladamente se tornam muito relevantes para esta fase da modelagem matemática, pois darão subsídios à formulação de hipóteses e à medida que mais informações são obtidas acerca do comportamento físico-químico do vestígio papiloscópico ao longo do tempo, o nível de compreensão sobre o tema é elevado, desmistificando os entendimentos por vezes embasados no empirismo, viabilizando a simplificação da problemática.

Na sequência, a hipótese formulada é substituída por uma linguagem matemática coerente, o que dá origem ao modelo matemático propriamente dito (etapa de resolução).

Weyermann, Roux e Champod (2011) estudaram duas características alvo – esqualeno e colesterol – com um analisador GC/MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) (etapa de experimentação), com a hipótese que o seu decréscimo ao longo do tempo poderia ser associado à idade do vestígio (etapa de abstração). Para tanto o cálculo da razão entre os dois componentes foi proposto, de modo que, a área do pico do esqualeno foi dividida pela área do pico do colesterol (etapa de resolução). Nas análises GC/MS, a área do pico é correspondente a quantidade daquele analito presente na amostra (Mathias, 2018).

A etapa de validação do modelo matemático é caracterizada pela testagem desse, confrontando com dados empíricos e com os valores obtidos para amostras reais. O grau de proximidade da resposta gerada pelo modelo testado com os valores reais irá determinar a validação do modelo, sua aceitação ou não, e a necessidade de modificações.

Girod *et al.* (2016) desenvolveram um modelo de envelhecimento com base na análise de componentes principais (PCA) combinada com modelagem independente e flexível por analogia de classe (SIMCA). Para tanto, utilizaram a técnica GC/MS, selecionando 13 lipídios alvo. Os dados foram pré-processados a partir de normalizações combinadas ou não, previamente descritas na literatura forense (Lociciro *et al.*, 2008; Marquis *et al.*, 2008; Girod *et al.*, 2014). Essa etapa objetivou reduzir a variabilidade intrapessoal natural inerente ao vestígio papiloscópico do mesmo indivíduo. Na sequência, os dados pré-processados relativos aos 13 lipídios selecionados foram analisados estatisticamente nos softwares The Unscrambler® X (Camo ASA) e Origin® 8.1 (Academic), com a aplicação dos testes de PCA combinado com SIMCA, regressão exponencial simples e combinada, regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*).

Os testes estatísticos permitem a inclusão de variáveis conhecidas e desconhecidas, que sejam combinadas, dependentes e/ou independentes. Desta forma, os fatores conhecidos e desconhecidos que exercem influência sobre o envelhecimento da impressão digital podem ser testados e validados no modelo proposto. Neste estudo de Girod *et al.* (2016), as impressões produzidas foram envelhecidas de modo controlado, classificadas com relação à idade e condições de envelhecimento por um dos pesquisadores, enquanto um outro pesquisador aplicou a modelagem matemática proposta sem ter o conhecimento dos dados empíricos (etapa de validação).

Os resultados da modelagem foram promissores ao estimar a idade dos vestígios e.g. vestígio com envelhecido por 22 dias foi classificado pela modelagem corretamente como tendo

mais de 14 dias. No entanto, alguns vestígios foram datados equivocadamente, vestígios com 22 e 34 dias de idade foram datados pela modelagem como tendo menos de 10 dias. Estes equívocos ocorreram com impressões digitais que foram envelhecidas no escuro. Isso indica que a condição ambiental de luminosidade é uma variável relevante no processo do envelhecimento e pode ser um fator para a modificação do modelo (etapa de modificação).

Como previamente referenciadas, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com foco na compreensão da composição e comportamento do vestígio ao longo do tempo, no entanto, estudos de validação dos modelos de envelhecimento ainda são pouco priorizados. Isso pode se dever à complexidade destes estudos e o emprego de robustas testagens estatísticas. Até o momento, os estudos de validação publicados são baseados na composição química dos vestígios papiloscópicos e não há estudos pautados nas características físicas como marcadores de temporalidade (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2021).

Em suma, a literatura científica na área de datação de vestígios papiloscópicos considera que talvez não seja possível a determinação de um método universal que se aplique a todas e quaisquer circunstâncias da rotina forense, mas um modelo que possa ser adaptado considerando as variáveis conhecidas em cada caso (substrato, doador, condições ambientais de conservação, dentre outras).

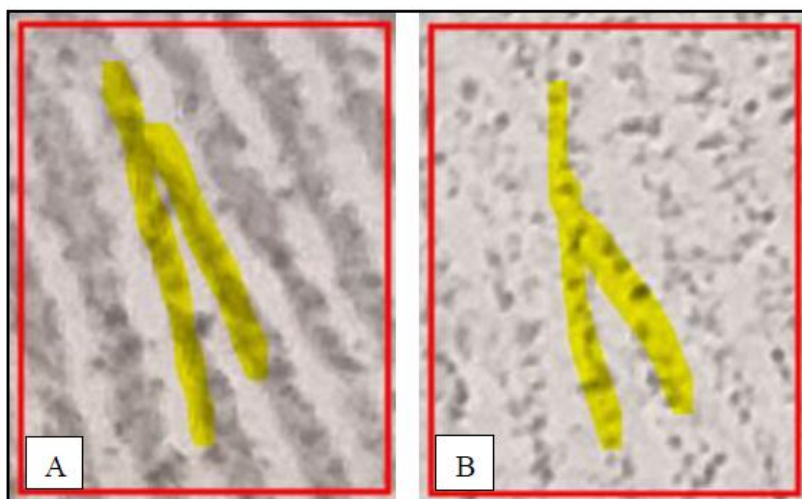
3.3.1 Análise morfométricas de impressões digitais

A partir do momento que a impressão digital é aposta em uma superfície, os seus elementos constituintes iniciam um processo de deterioração, a água é significativamente reduzida pelo processo de evaporação ao longo do tempo juntamente com outros componentes, o que impacta em alterações da morfologia das cristas (Chen *et al.*, 2021). Nesse contexto, a morfometria pode ser utilizada como uma ferramenta para a avaliação do envelhecimento do vestígio (Barros, Faria e Kuckelhaus, 2013).

A morfometria pode ser definida como “(...) a descrição quantitativa dos achados geométricos de estruturas de qualquer dimensão” (Buhmeida, 2006 apud Andrea, Bleggi-Torres e Alves, 2008). Em geral, as características morfológicas bidimensionais da impressão digital incluem a largura e continuidade das cristas, número de minúcias e tamanho dos poros. Já altura das cristas é uma característica tridimensional (Chen *et al.*, 2021).

Em função do envelhecimento do vestígio, mudanças visuais são perceptíveis, como o estreitamento ou alargamento das cristas, o aumento do tamanho dos poros, a diminuição da continuidade, altura e número de minúcias nas cristas, bem como a perda do contraste entre cristas e sulcos (Girod *et al.*, 2016; Bleay *et al.*, 2018) (Figura 7).

Figura 7 – Alterações visuais de vestígio papiloscópico ao longo do tempo



Legenda: Impressões digitais coletadas em ambiente controlado. Impressão digital fotografada logo após a aposição (0 dias) (A); Impressão digital fotografada após 35 dias (B). Em destaque, minúcia denominada bifurcação.

Nota: Observar que com a progressão temporal ocorre a deterioração da minúcia, evidenciada pela descontinuidade da crista.

Fonte: Neves, 2023.

O emprego do parâmetro visual para a datação do vestígio é descrito em uso pelo Departamento de Datiloscopia de Polícia na Varsóvia – Polônia desde os anos 70 (Holyst, 1987; Baniuk, 1990). Para tanto, um banco de imagens de impressões digitais envelhecidas sob diversas condições foi criado com aproximadamente 20 mil impressões para auxiliar os especialistas no reconhecimento da aparência morfológica de um vestígio degradado. Quando uma impressão digital em um caso real é questionada acerca de sua idade, impressões digitais do suspeito são coletadas na mesma superfície e envelhecidas de acordo com as condições ambientais obtidas no local do crime. Essas imagens são comparadas com as imagens do vestígio questionado e uma estimativa probabilística de idade é fornecida com base na experiência do especialista, conhecimento sobre os padrões de degradação da impressão digital e estatísticas do banco de dados.

Essa abordagem, no entanto, é criticada pois a estimativa de idade é obtida principalmente com base na experiência do especialista, que pode ser enviesada, tratando-se de

uma análise subjetiva (Langenburg, Champod e Wertheim, 2009; Bynoe, 2010) e não leva em consideração a influência dos diferentes tipos de superfícies e técnicas de revelação. Outras pesquisas também propuseram o estudo da datação através das alterações visíveis na qualidade do vestígio (clareza das cristas e minúcias) e perda de água. Sobre essa, Keisar *et al.* (2019) verificaram que a quantidade de água presente em um vestígio de impressão digital varia significativamente entre diferentes indivíduos e que a evaporação ocorre minutos após a deposição, não sendo um marcador de temporalidade viável na perspectiva forense. Logo, estas observações não foram consideradas confiáveis e reproduzíveis (De Alcaraz-Fossoul, Barrot e Roberts, 2015; Girod *et al.*, 2016; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2017; Popov, Sears e Jones, 2017). A figura 8 ilustra um caso no qual os vestígios apresentam diferenças visuais no que diz respeito ao aspecto qualitativo, no entanto possuem a mesma idade.

Figura 8 – Comparação do aspecto qualitativo de vestígios de impressão digital



Legenda: Impressões digitais coletadas em ambiente controlado a partir de um mesmo doador. Ambas as impressões possuíam 27 dias de idade no momento do registro fotográfico.

Fonte: A autora, 2023.

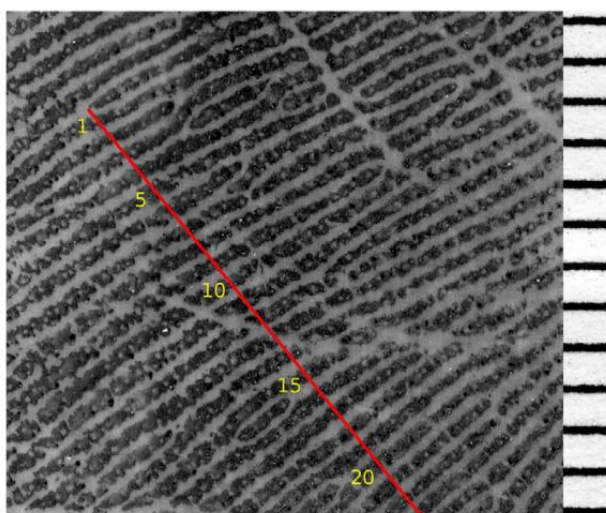
Na perspectiva de uma abordagem técnica-científica para a datação de impressões digitais, diversos estudos vêm sendo realizados com o emprego de técnicas instrumentais (fotografia direta, microscopia de força atômica, microscopia confocal de varredura a laser, perfilometria óptica, espectroscopia de impedância eletroquímica dentre outras) que se baseiam na análise topográfica e aferição de alguns parâmetros morfológicos – espessura, altura, continuidade de cristas e minúcias – individualmente ou em combinação para a melhor compreensão das transformações geradas ao longo do tempo e construção de modelos

estatísticos de envelhecimento (Popa, Potorac e Preda, 2010; Moret *et al.*, 2015; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2016; Popov, Sears e Jones, 2017; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2019).

Muito embora do ponto de vista científico as contribuições a partir da investigação de diferentes técnicas instrumentais seja relevante e representem um estudo robusto da morfometria do vestígio digital, pode existir uma limitação no estudo dos processos de envelhecimento devido ao preparo amostral e custo das análises e há um distanciamento da aplicação prática destas técnicas a um vestígio papiloscópico real, oriundo de uma cena de crime. Logo, o uso e desenvolvimento de metodologias de aferição mais práticas e simplificadas que podem ser associadas com outros parâmetros de envelhecimento e/ou cálculos estatísticos se tornam relevantes.

Barros *et al.* (2013) estudaram as alterações morfométricas de impressões palmares ao longo de 30 dias em seis intervalos de tempo (5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias). Para tanto, após a revelação e coleta, as impressões foram escaneadas (resolução de 3200 dpi) e aferidas com a ferramenta de medição disponível no software GIMP® (*GNU GPL Image Manipulation Program*). A área de cristas aferidas foi determinada pelo traçado de uma linha reta, perpendicular ao fluxo de cristas, conectando duas minúcias distintas, passando por 60 cristas (Figura 9).

Figura 9 – Parâmetro para análise morfométrica de impressão palmar segundo Barros *et al.* (2013)



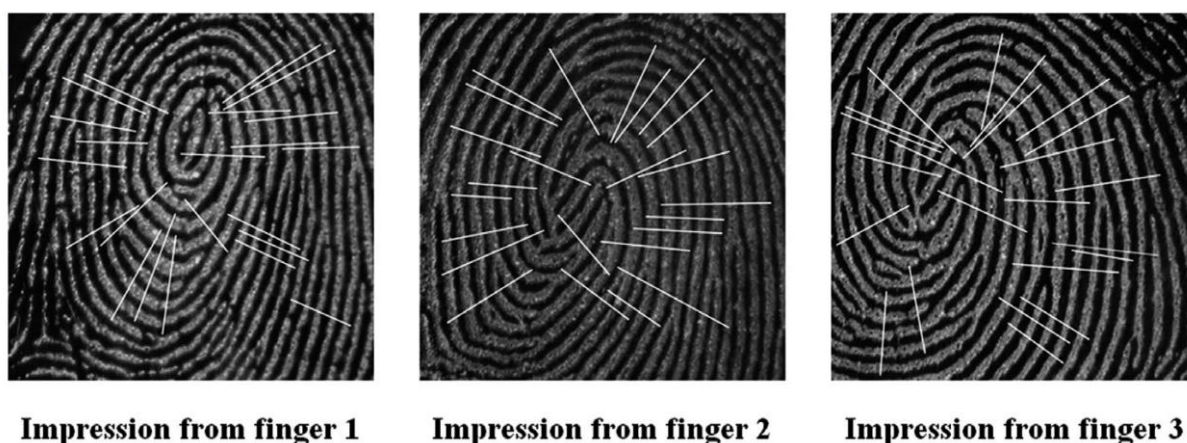
Legenda: A linha vermelha indica as cristas selecionadas para a aferição e a numeração em amarelo é uma referência que indica o número de cristas, e.g. “1” representa a 1ª crista selecionada para a aferição, “5” representa a 5ª crista selecionada para a aferição, e assim consecutivamente até 60ª crista.

Fonte: Barros *et al.*, 2013.

Neste trabalho, as cristas foram numeradas e as larguras foram aferidas no ponto de intersecção com a linha perpendicular traçada. Os valores obtidos em micrômetros (μm) foram comparados com os valores aferidos para uma impressão palmar padrão analisada imediatamente após a sua aposição.

De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2019) empregaram o mesmo tipo de abordagem, mas desenvolveram outros parâmetros para a determinação da aferição. As impressões digitais foram reveladas com dióxido de titânio e uma área de 1cm^2 no centro de cada impressão digital foi selecionada. Utilizando o software Photoshop CS6, um *template* de linhas que intersectaram 30 posições específicas em cada impressão foi desenhado, sendo aplicado sob cada impressão a ser aferida para garantir que a mesma região de cristas seria medida (Figura 10). A ferramenta varinha mágica disponível no software utilizado foi aplicada para evidenciar a delimitação das cristas e auxiliar na determinação da área a ser aferida (Figura 11), bem como a edição do contraste de cores. Uma ferramenta interna (régua) do Photoshop CS6 foi utilizada para obter as medidas de cada crista.

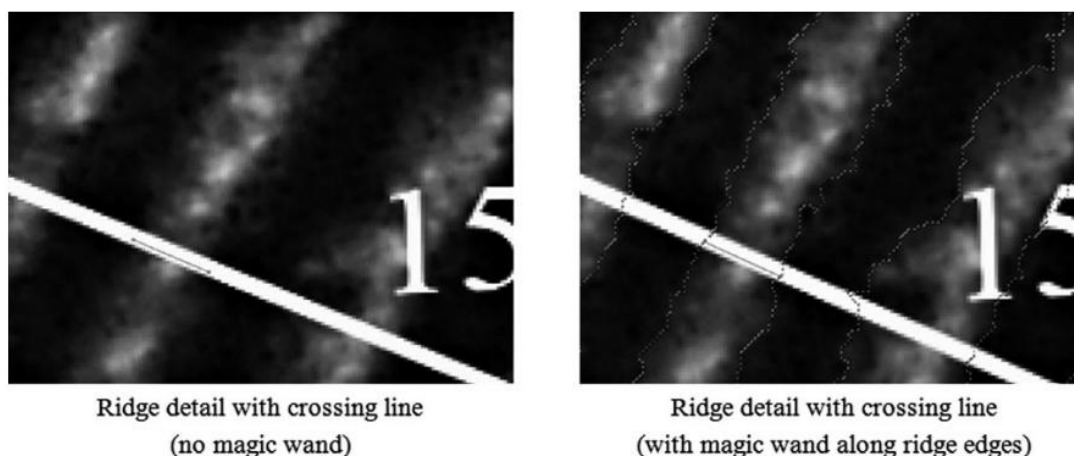
Figura 10 – Parâmetro para análise morfométrica de impressão digital segundo De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2019)



Legenda: Cada uma das imagens se refere a uma falange distal que foi utilizada na pesquisa (*finger 1 – finger 3*). Para cada falange, um *template* de linhas foi desenvolvido considerando os parâmetros estabelecidos pelos autores (linhas que intersectam 30 posições específicas em cada impressão digital). Esses *templates* de linhas foram salvos para serem sobrepostos a todas as impressões digitais aferidas no estudo.

Fonte: De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2019).

Figura 11 – Seleção da área de aferição na impressão digital segundo De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2019)



Legenda: Área de aferição da impressão digital evidenciada (linhas que contornam a crista) com o uso da ferramenta varinha mágica (*magic wand*).
 Fonte: De Alcaraz-Fossoul *et al.* (2019).

Estes estudos demonstram abordagens metodológicas acessíveis e práticas no desenvolvimento de mecanismos para a datação de impressões papiloscópicas a partir da morfometria. No entanto, fica evidenciada a necessidade de um método padronizado e reprodutível para a determinação das medidas de espessura das cristas, que não seja enviesado principalmente pelas habilidades do especialista em executar este tipo de análise.

A pesquisa acadêmica acerca da composição e estrutura do vestígio papiloscópico tem importante papel no desenvolvimento de metodologias de datação, e estudos aprofundados sobre os parâmetros morfológicos, técnicas e processos para tal são recomendados (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2021)

3.3.2 Análise química de impressões digitais

A impressão digital *per si*, é um vestígio rico em informações que podem ser extensivamente aproveitadas na área pericial. Além da identificação pela análise morfológica, na aposição sobre as superfícies ocorre a transferência de compostos químicos de produção endógena provenientes de glândulas sudoríparas e sebáceas (Girod *et. al*, 2012), bem como, de

células oriundas de descamação e transferência de partes do corpo permitindo também a investigação do vestígio pela via da biologia e da genética forense (Ostojic *et.al*, 2014).

Métodos analíticos instrumentais têm sido amplamente estudados na investigação do comportamento dos elementos químicos presentes nos vestígios papiloscópicos. Esses métodos podem ser divididos em espectroquímicos, cromatográficos e eletroforéticos, e eletroquímicos, os quais englobam uma diversidade de técnicas instrumentais (Passos, 2011).

Segundo Skoog, 2006 apud Sefstrom (2011), “os métodos espectroquímicos são frequentemente denominados métodos ópticos devido ao fato de que, são baseados além da radiação visível, a ultravioleta e a infravermelha”. No que diz respeito à datação de vestígios papiloscópicos, muito embora os métodos ópticos gerem um detalhamento menor de informação, estão alinhados com a operacionalidade de uma rotina forense, sendo não invasivos, não destrutivos, rápidos e de baixo custo (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2021).

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é o método óptico mais empregado no estudo da datação, tendo como alvo os componentes lipídicos (Williams, Schwartz e Bartick, 2004; Tahtouh *et al.*, 2005; Hemmila, McGill e Ritter, 2008; Fritz *et al.*, 2013; Girod *et al.*, 2015; Johnston e Rogers, 2017; Johnston e Rogers, 2018; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2021). A espectroscopia Raman, frequentemente utilizada para a detecção de componentes exógenos como metabólitos de entorpecentes (e.g. cocaína) em impressões digitais (Day *et al*, 2004), foi recentemente sugerida como método para a datação (Andersson *et al.*, 2017) com vistas à detecção não específica de secreções écrinas e sebáceas (Figuerola *et al.*, 2017; Dorakumbura *et al.*, 2018; Yang e Yoh, 2018).

Já os métodos analíticos cromatográficos e eletroforéticos, e eletroquímicos, muito embora sejam técnicas mais complexas, com consumo maior de tempo e orçamentário, apresentam uma abordagem mais específica, quantitativa além de qualitativa e reprodutível.

Diversos estudos investigaram componentes sebáceos e écrinos com o emprego de técnicas cromatográficas como a cromatografia gasosa (GC – *gas chromatography*), adequada para a análise de componentes mais voláteis e termoestáveis, como aminoácidos e pequenos lipídios ou cromatografia líquida (LC – *liquid chromatography*) acoplada a espectroscopia de massa (MS – *mass spectroscopy*) (Archer *et al.*, 2005; Frick *et al.*, 2016; Pleik *et al.*, 2016; Szabóová *et al.*, 2017), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectroscopia de massas (UHPLC, *Ultra-High Performance LC*) adequada para o estudo de moléculas maiores como glicerídeos, peptídeos e proteínas, bem como para a elucidação da estrutura das moléculas alvo e produtos gerados pela degradação destas (Mountfort *et al.*, 2007; Pleik *et al.*, 2016; Oonk *et al.*, 2018; Dorakumbura, Busetti e Lewis, 2020; Frick *et al.*, 2020).

Diferentes variações de espectrometria de massas são empregadas na investigação do comportamento dos componentes das impressões digitais ao longo do tempo, sobretudo no imageamento químico de componentes endógenos e exógenos. A ionização por eletrospray de dessorção (DESI) foi a primeira técnica de espectrometria de massas a ser empregada para o imageamento de vestígios de impressões digitais (Ifa *et al.*, 2008). Muramoto e Sisco (2015) estudaram a difusão de moléculas de ácidos graxos saturados em uma superfície não porosa (material semicondutor de silicone) com o emprego de um espectrômetro de massa de íons secundários de tempo de voo (ToF-SIMS), e os resultados indicaram que a difusão do ácido palmítico em específico poderia indicar a idade da impressão com precisão como sendo menor que 96 horas.

O imageamento químico por espectrometria de massas utilizando MALDI-MSI (MALDI *Imaging Mass Spectrometry*) apresenta resultados promissores na detecção de componentes endógenos e semi exógenos (Bailey *et al.*, 2015; Groeneveld *et al.*, 2015; Francese, Bradshaw e Denison, 2017) e na diferenciação de indivíduos (Gorka *et al.*, 2019; Heaton *et al.*, 2020).

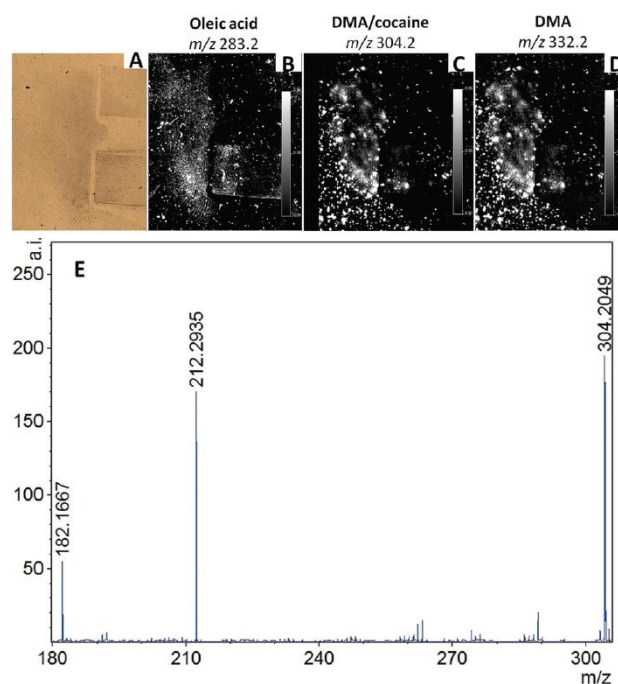
Na perspectiva da aplicabilidade das técnicas analíticas a situações de cenas de crime real, Bradshaw, Denison e Francese (2017) analisaram quatro vestígios de impressões digitais obtidos de cenas de crime reais com a técnica MALDI-MSI: o primeiro vestígio foi revelado com pó revelador a base de dióxido de titânio em uma luminária de metal, o segundo foi revelado com pó de alumínio em um interruptor de tomada e ambos os vestígios foram coletados com fita adesiva. O terceiro vestígio foi revelado com uma combinação de técnicas de revelação (cianoacrilato seguido de amarelo básico 40) em um pacote de entorpecentes. Esse vestígio não foi coletado e o imageamento por MALDI-MSI foi realizado diretamente na superfície. O quarto vestígio foi revelado com pó preto do interior da moldura de uma janela e coletado com fita adesiva.

Os resultados obtidos a partir destas análises reais evidenciam as dificuldades da transladação de ensaios controlados para a aplicação na prática forense. O imageamento químico gerado para o primeiro vestígio não resultou em uma imagem melhor de minúcias e não foi possível obter nenhuma informação útil relativa à composição química.

Já o segundo vestígio, muito embora a imagem gerada pela aplicação da técnica não tenha auxiliado na melhor visualização do padrão de cristas e minúcias, foi possível a detecção de uma substância antibacteriana presente em produtos de limpeza e cocaína (Figura 12). Esses achados destacam a empregabilidade dessa técnica analítica na investigação mais profunda do vestígio papiloscópico com vistas a contribuir para a obtenção de outras informações que não

somente a identificação do autor daquele toque, que podem ser importantes na dinâmica de um crime.

Figura 12 – Espectro e imageamento químico a partir de vestígio de impressão digital oriundo de cena de crime real segundo Bradshaw, Denison e Francese (2017)



Legenda: Vestígio de impressão digital revelado (A); Imageamento químico com detecção de componente endógeno – ácido oleico – no vestígio; Imageamento químico de substância antibacteriana e cocaína (C); Imageamento químico de substância antibacteriana (D). Abaixo, espectro indicando os íons detectados com a respectiva relação carga/massa (m/z).

Fonte: Bradshaw, Denison e Francese (2017).

O estudo da literatura científica no tema evidencia que a maioria das pesquisas foram desenvolvidas com foco na análise dos componentes sebáceos das impressões digitais em razão de sua rápida degradação em um curto intervalo de tempo, o que os tornam atrativos na busca por um marcador molecular de temporalidade.

Nesse panorama, a investigação dos componentes de excreção das glândulas sudoríparas écrinas é incipiente, e poderia fornecer parâmetros de envelhecimento do vestígio digital em períodos mais extensos. Ademais, a associação de métodos para a caracterização física do vestígio em combinação com métodos que forneçam dados acerca de sua composição química é uma abordagem promissora, muito embora complexa, para avanços na determinação da datação de impressões digitais (Frick *et al.*, 2021). É nesse contexto que a Microscopia Eletrônica de Varredura associada com a Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios-X é

investigada neste trabalho, como uma metodologia que viabiliza, concomitantemente, as análises física e química do vestígio papiloscópico.

3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

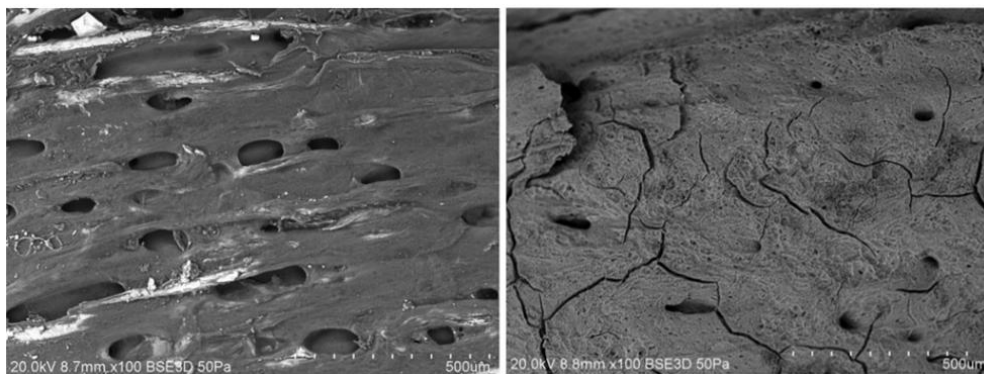
A microscopia eletrônica de varredura é um tipo de microscopia – análise de materiais com o uso de microscópio – que permite a investigação topográfica e composição relativa de amostras (Mutalib *et al.*, 2017) com aplicações em diversas áreas da ciência e.g. biologia, geologia, medicina, engenharia, assim como na área forense (Zadora e Brozek-Much, 2003; Migliorini *et al.*, 2019; Takaku *et al.*, 2020; Gentile *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2022).

A técnica é pautada na emissão de um feixe de elétrons sobre a amostra estudada que, ao interagir com sua superfície, produz elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios-X característicos os quais serão captados por detectores específicos, gerando dados que permitem uma caracterização morfológica, química, cristalográfica e eletrônica da amostra em função do detector associado ao microscópio eletrônico (Maliska, s.d.; GReo, s.d.).

Além de gerarem imagens tridimensionais de alta resolução (1nm a 5nm) com elevado detalhamento topográfico (Figura 13), os microscópios eletrônicos são fáceis de operar, realizando análises em um curto intervalo de tempo, com mínima preparação amostral de fácil execução (Prakash Choudhary e Priyanka, 2017). Segundo Maliska (s.d.), “a elevada profundidade de foco (imagem com aparência tridimensional) e a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a microanálise química são fatores que em muito contribuem para o amplo uso desta técnica.”

As imagens geradas pelos microscópios eletrônicos são denominadas microfotografia, micrografia ou fotomicrografia, que são imagens em tons de cinza que variam e são proporcionais ao sinal gerado pela interação do feixe de elétrons com a amostra (Silva e Silva, s.d.).

Figura 13 – Micrografia de tecido óseo submetido à diferentes temperaturas



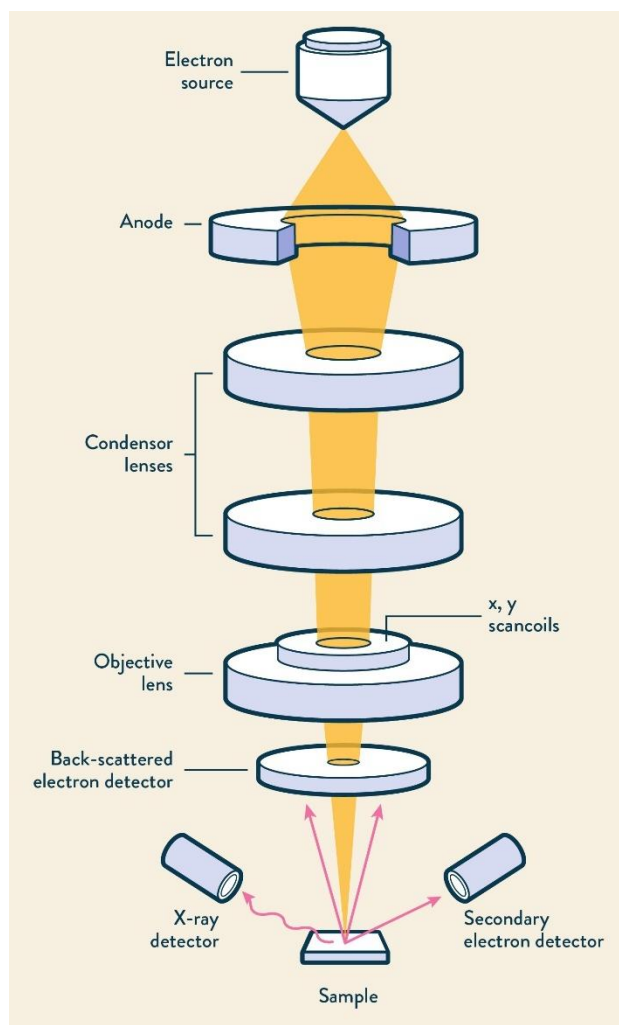
Legenda: Micrografia de osso de ovelha. À esquerda, tecido ósseo aquecido à 100°C com presença de tecido mole. À direita, aquecimento à 700°C. Essa micrografia indica a presença de fraturas ósseas induzidas pelo calor, bem como o aumento da porosidade do tecido ósseo.

Fonte: Bradshaw, Denison e Francese (2017).

O tamanho e custo do MEV, bem como a sua sensibilidade a campos magnéticos e vibrações, exigindo um ambiente dedicado e a necessidade de um operador especializado são apontadas como algumas desvantagens do uso da técnica, aliado a possibilidade de as imagens geradas apresentarem artefatos do preparo amostral e serem apenas em escala de cinza (Singh, 2016; Inkson, 2016 apud Davey, 2019). Muito embora o MEV possa operar sem esse procedimento, algumas amostras e.g. amostras biológicas, amostras não condutoras, frequentemente necessitam da aplicação de um revestimento com um material condutor – o outro é o mais empregado, mas outros materiais como paládio e prata também são empregados – para que sejam obtidas as micrografias com alta resolução (Heu *et al.*, 2019). Ainda, as análises de microscopia eletrônica de varredura são realizadas sob vácuo, o que é apontado como desvantagem por alguns autores (Burnstock e Jones, 2000; Erić, 2017; Inkson, 2016 apud Davey, 2019).

A estrutura do MEV pode ser dividida em canhão de elétrons e sistema de lentes condensadoras (eletromagnéticas), sistemas de varredura, de detectores e de visualização da imagem, e câmara de amostra (Maliska, s.d) (Figura 14).

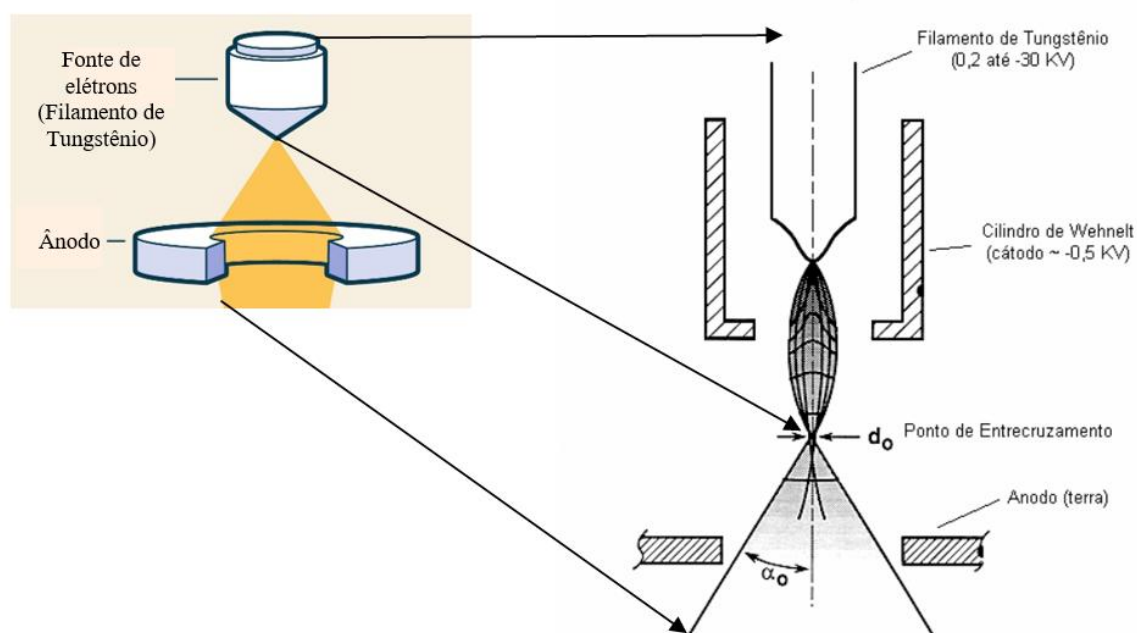
Figura 14 – Representação de estrutura física de um microscópio eletrônico de varredura



Fonte: Adaptado de Gleichmann, 2023.

O funcionamento do MEV inicia com a emissão do feixe de elétrons para o interior da coluna do microscópio, que deve ter estabilidade e intensidade suficientes para, ao atingir a amostra, produzir um bom sinal. Essa produção de elétrons é viabilizada por um agrupamento de estruturas que formam o canhão de elétrons: filamento de tungstênio, o cilindro de Wehnelt e o ânodo (Figura 15).

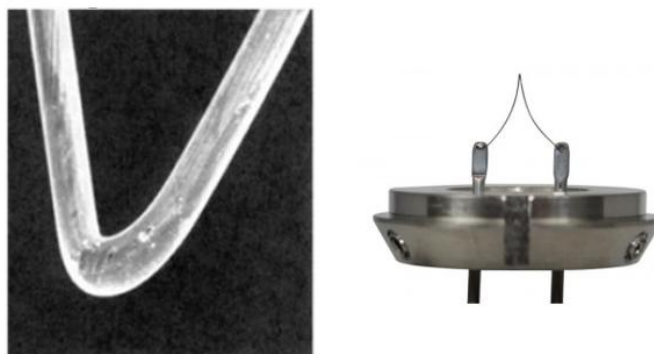
Figura 15 – Representação de estrutura do canhão de elétrons no MEV



Fonte: A autora a partir de Maliska, s.d e Gleichmann, 2023.

Através do efeito termoiônico que consiste na saída de elétrons de um metal a partir do aquecimento (aumento de temperatura por passagem de corrente elétrica), o feixe de elétrons surge a partir do filamento de tungstênio (Figura 16) que é aquecido à 2427 °C (Lima, Foschini, Magini, 2001). O filamento é envolvido por uma grade catódica denominada “cilindro de Wehnelt”, cuja função é controlar a quantidade de elétrons emitida e orientar o feixe para dentro do canhão. Logo abaixo, encontra-se o ânodo que juntamente com a grade catódica atuam como um sistema de lentes eletrostáticas, que resulta na focalização do feixe de elétrons em um pequeno diâmetro denominado *crossover* (ponto de entrecruzamento).

Figura 16 – Filamento de tungstênio para MEV



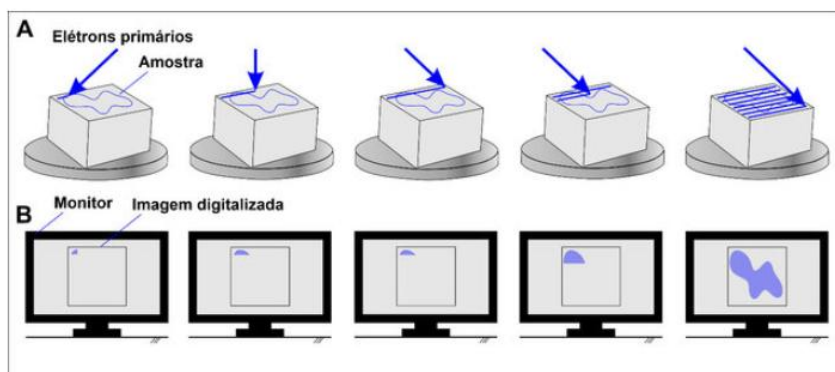
Legenda: À esquerda, micrografia de um filamento de tungstênio. À direita, fotografia de um filamento de tungstênio para MEV da marca JEOL.

Fonte: Adaptado de Jessop, 2016 e RaveScientific, s.d.

O próximo conjunto de lentes, denominadas lentes condensadoras, têm como objetivo reduzir o tamanho do feixe de elétrons (em fontes termoiônicas, de 10-50 μm para 1nm - 1 μm) e reduzir as aberrações (erros) que ocasionam um desfoque na imagem obtida (Maliska, s.d). Essas lentes são necessárias pois o grande diâmetro do feixe produzido pelo canhão de elétrons não é capaz de gerar uma imagem de alta resolução com grande aumento.

A lente que reduz as aberrações – descrita como lente objetiva – é a última lente da coluna do MEV, e é responsável por dar o foco à imagem respondendo às variações da distância de trabalho durante a análise da amostra. Ainda, dentro desta lente é acoplado um par de bobinas eletromagnéticas que defletem o feixe sobre a amostra, de modo que, ao optar por realizar uma análise com um aumento maior, resultará na menor deflexão do feixe (menor mudança de posição), ou seja, uma região menor será varrida pelo feixe de elétrons (Moreira *et al.*, 2023) (Figura 17).

Figura 17 – Representação do processo de varredura de uma amostra por microscópio eletrônico de varredura e geração de imagem

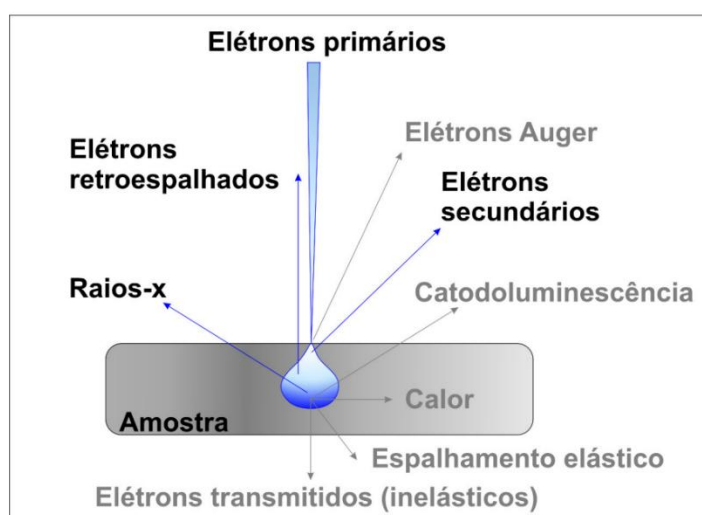


Legenda: Incidência do feixe de elétrons em varredura sobre a amostra (A); Geração de imagem digitalizada vista pelo usuário no monitor (B).

Fonte: Moreira *et al.*, 2023

Por fim, como ilustrado na figura 12, o MEV apresenta em sua estrutura alguns tipos de detectores que irão captar os elétrons que atingem a superfície, resultando em diferentes tipos de sinais. Os elétrons secundários, elétrons retroespalhados e os raios-x são os sinais relevantes para a formação das micrografias e análises da composição química das amostras (Figura 18).

Figura 18 – Representação dos sinais gerados no MEV



Legenda: Em destaque, os sinais relativos à formação da imagem e análise química das amostras.

Fonte: Moreira *et al.*, 2023

O sinal mais importante para gerar as imagens no MEV são os elétrons secundários (SE) que são elétrons oriundos de átomos da amostra analisada que são deslocados em várias

direções pelos elétrons que vem do feixe de elétrons emitido pelo MEV (elétrons primários). Já os elétrons retroespalhados são aqueles que ao incidirem sobre a amostra, retornam na mesma direção (*backscattered*, BSE).

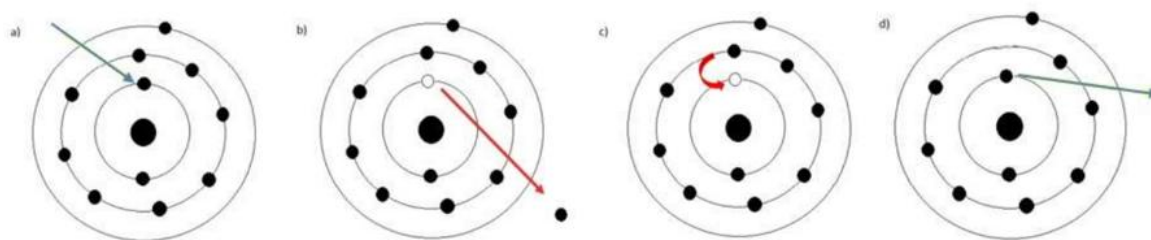
Os elétrons BSE emergem de regiões mais profundas da amostra e acabam gerando uma imagem de menor resolução, por isso os elétrons SE são preferidos para gerar as imagens de alta resolução tradicionalmente vistas em microscopias eletrônicas de varredura. No entanto, a intensidade dos elétrons BSE tem relação com o número atômico dos elementos presentes no material analisado, de modo que as áreas da micrografia com tons de cinza mais claros ou branco indicam um elemento químico com maior número atômico e, áreas com tons de cinza mais escuros ou preto remetem a elementos químicos com número atômico menor.

Segundo Moreira *et al.* (2023),

(...) raios-X característicos são emitidos quando o feixe de elétrons remove um elétron da camada interna da amostra, fazendo com que um elétron de maior energia preencha a camada e libere energia. **A energia liberada é medida por espectroscopia de raios-X dispersivos** (EDS ou EDX, do inglês *Energy-Dispersive X-Ray*) utilizada para identificar e medir a abundância de elementos na amostra e mapear sua distribuição (Moreira *et al.*, 2023 – grifo nosso).

Na figura 19 que ilustra o processo de emissão da energia de raio-X, é possível verificar que quando o feixe de elétrons emitido pelo MEV incide sobre a superfície da amostra (Figura 19a), os elétrons da camada mais interna são deslocados gerando uma lacuna (Figura 19b). Logo, elétrons da camada mais externa preenchem essa lacuna (transição eletrônica) (Figura 19c), o que promove a emissão da energia de raio-X característica (Figura 19d), equilibrando a diferença de energia entre as camadas que o elétron percorreu (Vieira *et al.*, 2021).

Figura 19 – Representação do processo de emissão de energia de raio-X

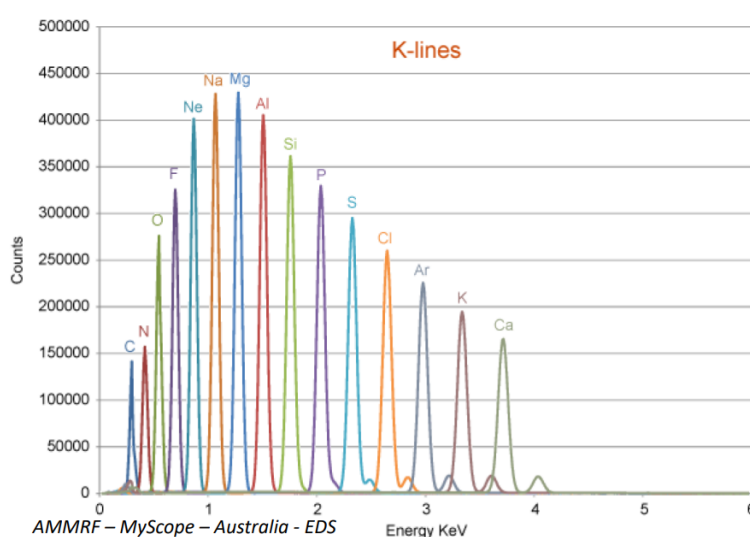


Legenda: As estruturas representam o modelo atômico como proposto por Rutherford-Böhr no qual os círculos em cinza claro representam a eletrosfera de um átomo e as esferas em preto, distribuídas ao longo das linhas em cinza representam os elétrons. A esfera em preto maior, centralizada, representa o núcleo de um átomo. Em (a), a seta verde representa o elétron que será energizado pelo feixe de elétrons do MEV; em (b) a seta vermelha representa esse elétron sendo deslocado da eletrosfera; em (c) é representado o preenchimento da lacuna – transição eletrônica; em (d) a seta verde representa a emissão de energia de raio X.

Fonte: Vieira *et al.*, 2021

Os raios-X são detectados pelo espectrômetro de energia dispersiva, o qual os converte em cargas elétricas que quando processadas pelo detector formam o espectro da amostra (Goldstein *et al*, 2003). No espectro são verificados picos característicos correspondentes aos elementos detectados na amostra, os quais são organizados por ordem de energia, geralmente do menor para o maior número atômico (Figura 20).

Figura 20 – Representação de espectro por energia dispersiva de raios-X



Fonte: Sousa, 2018.

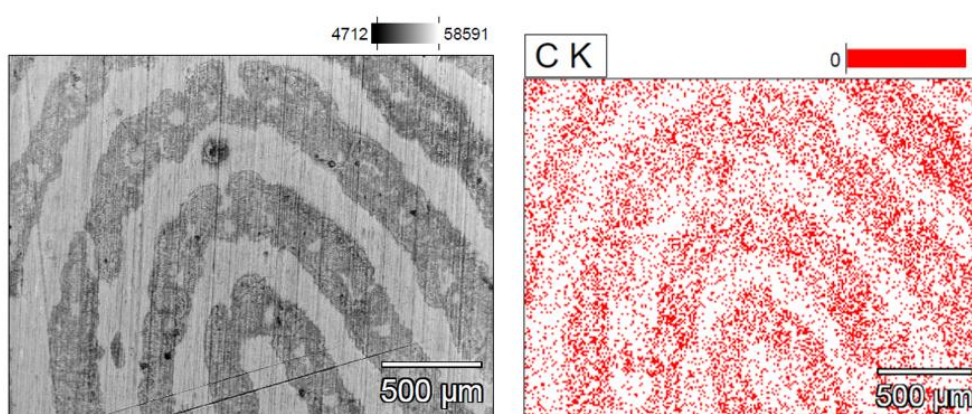
O estudo de uma amostra por MEV-EDS viabiliza a análise qualitativa – identificação dos elementos que constituem a superfície do material – que se caracteriza pela obtenção do espectro de energia dispersiva (Figura 20) e quantitativa, que se refere à quantidade destes elementos presentes na amostra. Para quantificar os elementos químicos identificados em uma amostra há algumas metodologias. A mais simples é a semiquantitativa na qual se considera uma análise matemática da superfície dos picos detectados no espectro EDS, de modo que a superfície dos picos será aferida e atribuída um coeficiente e calculadas as porcentagens. Essa análise não utiliza padrões de elementos químicos para comparação (Dedavid, Gomes e Machado, 2007).

Já a análise quantitativa, de acordo com Goldstein *et al.*, 1992 apud Dedavid, Gomes e Machado (2007):

A análise quantitativa consiste em se **obter a concentração a partir de relações de intensidade de raios-X da amostra em estudo e de um padrão apropriado.** Quando a composição do padrão é próxima da composição da amostra (...) a análise se reduz à comparação das intensidades observadas. (...) na maioria dos casos utilizam-se padrões de elementos puros porque é possível caracterizá-los com bastante precisão (...) (Goldstein *et al.*, 1992 apud Dedavid, Gomes e Machado, 2007 – grifo nosso).

Além disso, através da detecção dos raios-X pelo EDS também podem ser geradas imagens que permitem verificar a distribuição dos elementos químicos detectados na superfície analisada (Figura 21).

Figura 21 – Imagem gerada a partir de detector de energias de raio-X



Legenda: Análise de impressão digital. À esquerda, imagem gerada pelo detector EDS. À direita, imagem gerada indicando a distribuição do elemento Carbono (C) na superfície analisada.

Fonte: A autora, 2023.

3.4.1 Aplicações da Microscopia Eletrônica Varredura acoplada a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (MEV-EDS) no campo das Ciências Forenses

A MEV-EDS é uma técnica eficaz para a caracterização – composição elementar, morfologia, tamanho – de partículas (Arndt *et al.*, 2016) e é também por esse motivo uma ferramenta robusta para a aplicação em Ciências Forenses, permitindo o exame simultâneo de morfologia e composição elementar dos vestígios (Zadora e Brozek-Mucha, 2003). Ainda, como a técnica possui elevada sensibilidade, especificidade, poder de resolução e profundidade de campo superior à de um microscópio óptico, tem ganhado destaque ao longo do tempo nas análises periciais (Tambuzzi, Guendalina e Cristina, 2022).

As análises forenses, em sua maioria, concentram-se na identificação do vestígio (e.g. uma mancha parda avermelhada visualizada no local do crime trata-se de fato de sangue ou outro tipo de material?) e em um segundo momento são embasadas na comparação entre o material que está sendo periciado com um material de mesma natureza só que de características conhecidas, o qual denomina-se padrão ou referência.

Em algumas circunstâncias, apenas a determinação da natureza do vestígio pode contribuir significativamente para o desenvolvimento da investigação. A detecção de resíduos de tiro, comumente referenciados do inglês *gun shot residues* (GSR), nas mãos de um indivíduo suspeito de ter efetuado tiros é uma informação relevante e que pode ser determinante na elucidação de um crime. Para tanto, o emprego da MEV-EDS é determinado como padrão ouro para a análise morfológica da partícula GSR – partícula tipicamente esférica e pequena (em torno de 1 μm), bem como para a caracterização química elementar desta (presença dos elementos chumbo, bário e antimônio (OSAC, 2020).

Um estudo recente de Montoriol *et al.* (2020) versa sobre o uso da MEV-EDS nos exames necroscópicos de cadáveres alvejados por projéteis de arma de fogo quando as lesões causam dúvidas quanto a serem ferimentos de entrada ou de saída, tornando um desafio a determinação da dinâmica do crime. Os resultados indicaram uma presença mais acentuada de partículas nas lesões de entrada quando em comparação com as lesões de saída e, ainda, foi investigada a influência do processo de decomposição em ambiente aquoso na permanência, dispersão e contaminação das partículas GSR, evidenciando a aplicabilidade da metodologia para a prática forense.

Muito embora a microscopia eletrônica de varredura, isoladamente, ou em combinação com a espectroscopia de energia dispersiva de raios-X tenha vasto e consolidado emprego na

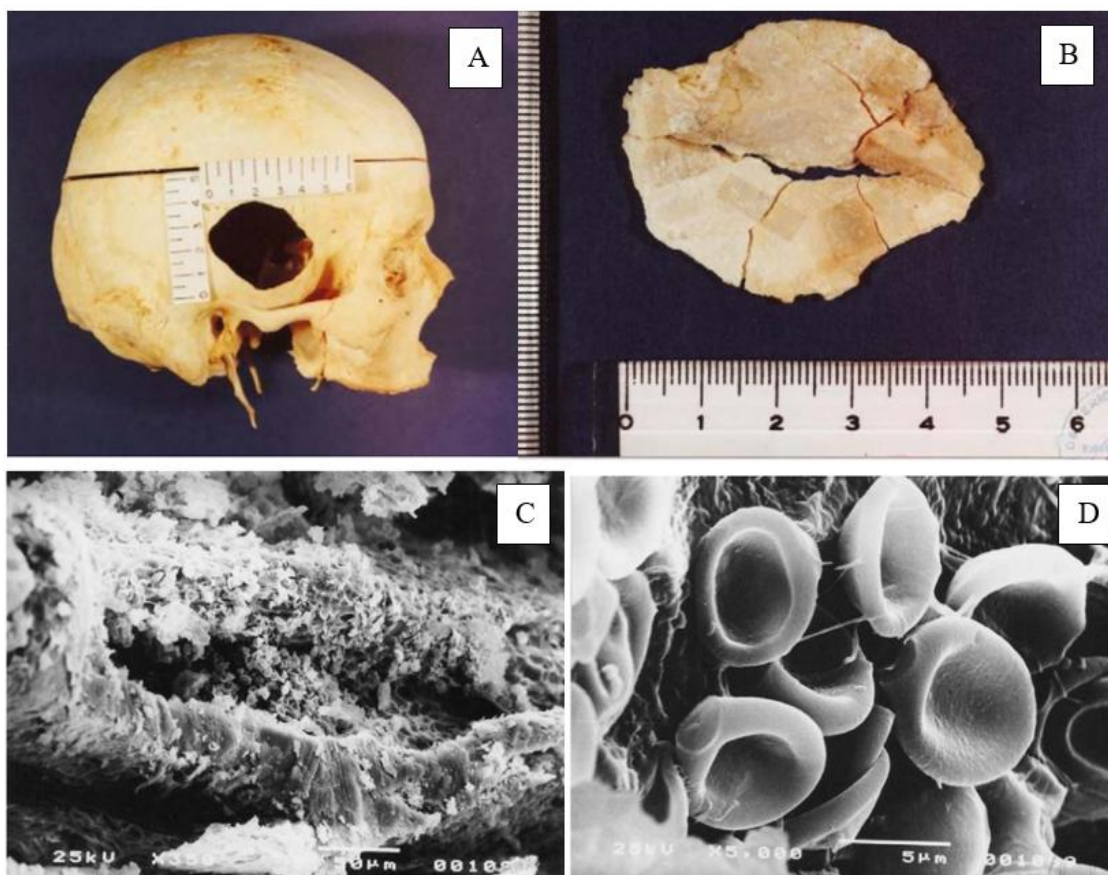
análise de micro vestígios como cabelos e fibras (Robertson e Roux, 2018; Anawatsakun e Seelanan, 2022; OSAC, 2022; Cloete, Šmit e Gianoncelli, 2023), tinta (Malek *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2021; Kaur *et al.*, 2022; Palenik, 2022), partículas de solo, poeira, minerais (Kikkawa *et al.*, 2019; OSAC, 2022;), amostras botânicas e entomológicas (Xavier e Queiroz, 2016; Sharma e Singh, 2017; Kumar *et al.*, 2021), seu uso vem sendo reportado também para amostras biológicas no contexto forense.

Guendalina *et al.* (2020) ao elaborar uma extensa revisão do tema, exemplificam que em casos de lesões por uma ação de instrumento contundente (e.g. um golpe com uma barra de metal na região do crânio), partículas do instrumento podem ser detectadas no local da lesão a fim de estabelecer uma correlação com este; em lesões cortantes ou incisivas com um objeto metálico, traços de ferro, cromo, alumínio ou titânio podem ser identificados no ferimento. Nas asfixias mecânicas como por exemplo, o estrangulamento com o uso de uma corda, partículas do material constituinte da corda podem ser detectados no sulco lesivo na pele da vítima, e através da análise MEV-EDS, ser identificado o material e estabelecida a correlação com uma corda encontrada em posse do suspeito. Nesse mesmo contexto, Boracchi *et al.* (2019) recomendam o uso da MEV-EDS para auxiliar e/ou confirmar o diagnóstico de óbito por eletrocussão, visto que ao analisar amostras biológicas da epiderme é possível detectar a presença de ferro, zinco, titânio e cobre, indicativos da passagem de corrente elétrica.

Outras amostras biológicas como ossos e dentes, seja em um contexto forense ou com vistas a investigação na área da antropologia biológica ou arqueologia, podem ser estudadas pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDS) isoladamente ou em combinação.

Melki, Martin e Zerbini (2011) reportaram o emprego da MEV na investigação de um caso de homicídio, no qual após três anos e meio da data do óbito, os ossos foram exumados e submetidos à análise por MEV com vistas a corroborar a dinâmica do crime e laudo médico-legal. Na região temporal direita que exibia uma fratura foi estudada, na qual foi possível visualizar uma estrutura óssea danificada e a presença de hemácias (Figura 22), indicando que a lesão era de fato compatível com a suspeita à época da necrópsia (lesão perfurocortante com uso de uma adaga ou faca) e incompatível com um traumatismo craniano ocasionado por queda da própria altura (versão do suspeito). A presença de hemácias no local fraturado é um indicativo de reação vital, relacionando a lesão com o evento que ocasionou o óbito, evidenciando a aplicação desta metodologia no contexto forense.

Figura 22 – Aplicação da MEV na análise de ossos em caso real de homicídio



Legenda: Vista lateral de crânio exumado com região de fratura em torno de 5cm de diâmetro (A); Fragmentos ósseos recuperados no interior da cavidade craniana (B); Micrografia gerada por MEV da região da fratura indicando tecido ósseo desorganizado e comprometido, e hemácias no local, magnificação de 630x (C); Micrografia gerada por MEV, exibindo hemácias, magnificação de 9000x.

Fonte: Adaptado de Melki, Martin e Zerbini, 2011.

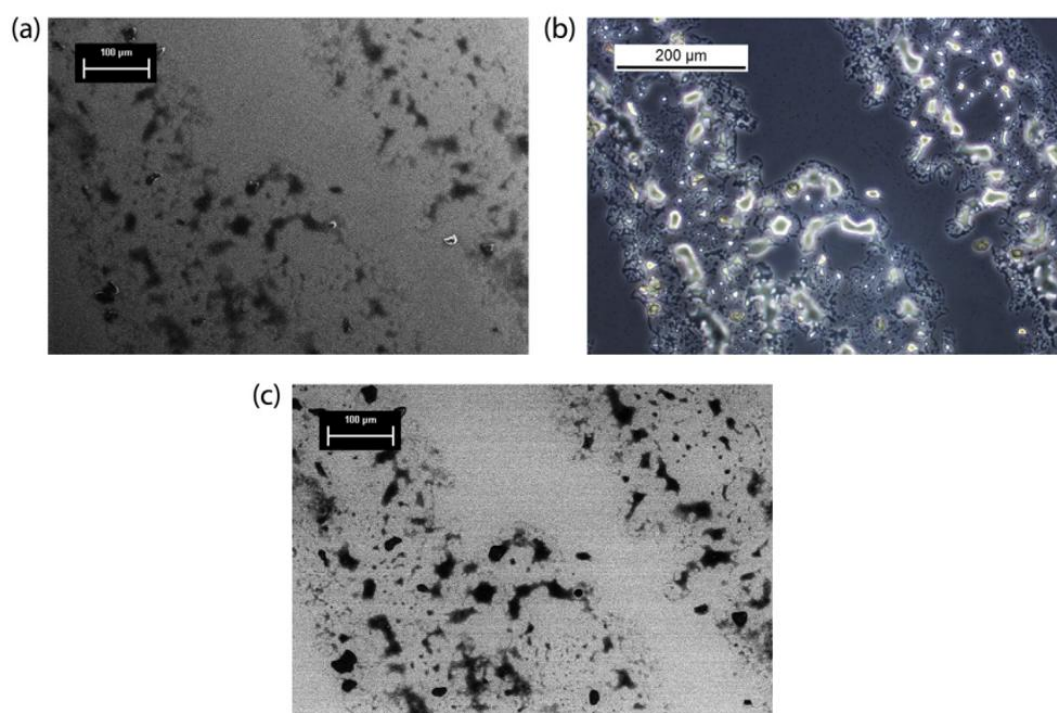
No que tange à análise de impressões digitais, a microscopia eletrônica de varredura é descrita para a detecção de impressões, sobretudo em superfícies metálicas, como uma técnica alinhada ao contexto atual das análises multidisciplinares dos vestígios, visto que viabiliza a visualização sem necessitar de interação física ou química de reveladores datiloscópicos e não é destrutiva (Challinger *et al.*, 2018).

Alguns autores pontuam que a MEV poderia ser empregada para a obtenção de informações adicionais sobre o vestígio, sendo aplicada a uma amostra específica e preferencialmente em uma área da superfície na qual sabidamente se encontra a impressão digital ou em uma situação na qual o vestígio já foi relevado com técnicas tradicionais (Choi *et al.*, 2006; Paine *et al.*, 2012) pois a operacionalização do uso do microscópio eletrônico de varredura para detectar um vestígio que é comumente latente (não visível) pode ser um desafio.

Além disso, o uso de câmara de alto vácuo, geralmente empregada para gerar imagens de alta definição com MEV pode ocasionar a evaporação de água e lipídios, interferindo diretamente com a estrutura e composição química do vestígio (Bright *et al.*, 2013). Alternativamente, o microscópio eletrônico de varredura ambiental poderia ser utilizado visto que é adequado para amostras não compatíveis com o vácuo, não condutores, sujos, úmidos, quimicamente reativos ou que liberam gases (Moret *et al.*, 2015; Mayeen e Kalarikkal, 2018).

Em comparação, outras microscopias como por exemplo a microscopia de contraste de fase, poderia ser implementada para uma análise sistemática das impressões digitais pois informações detalhadas da estrutura das cristas podem ser observadas (Moret *et al.*, 2015; Christofidis *et al.*, 2018) (Figura 23).

Figura 23 – Comparação de vestígio de impressão digital visto com MEV e com Microscopia de Contraste de Fase



Legenda: MEV com detector de elétrons secundários (A); Microscopia de Contraste de Fase (B); MEV com detector de elétrons retroespalhados (C)

Fonte: Adaptado de Moret *et al.*, 2015

A MEV-EDS também é sugerida como uma combinação de técnicas para investigar a dinâmica de interação entre o vestígio papiloscópico e a superfície metálica (Ramos e Vieira, 2012; Wightman *et al.* 2015; Christofidis *et al.*, 2018), área de estudo que é pouco estudada no

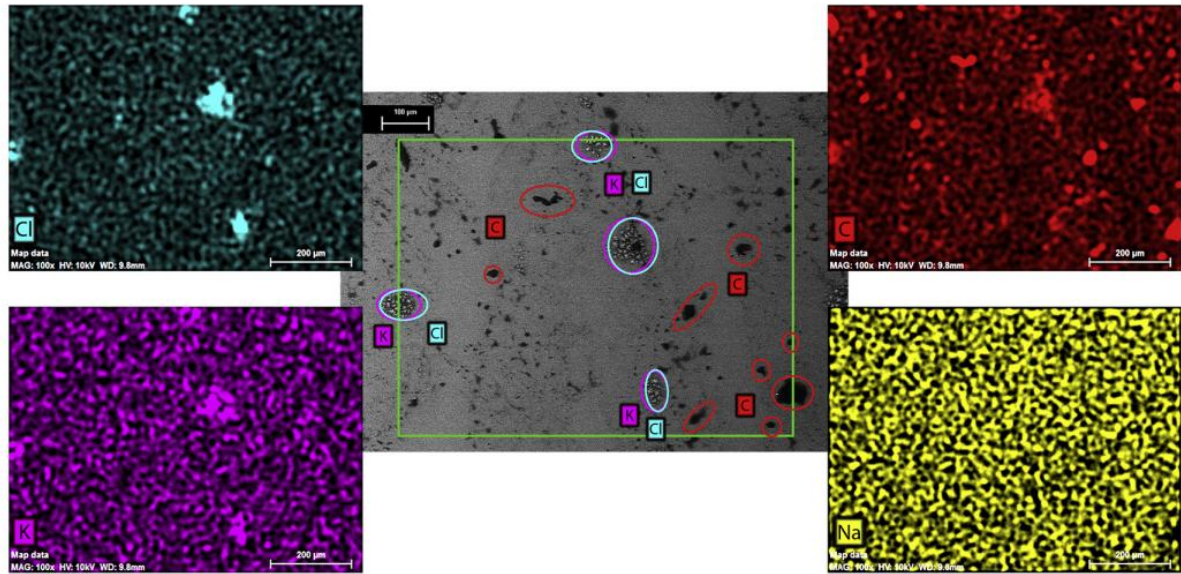
campo da Ciência Papiloscópica. A maioria dos estudos conduzidos nas últimas décadas – como mencionados neste trabalho – dedicam-se a compreender a composição do vestígio e os fatores que afetam a sua detecção e muito embora, dentre estes fatores, a superfície na qual se encontra o vestígio seja um dos elementos apontados como preponderantes no sucesso da detecção, a forma como os elementos constituintes da impressão digital interagem com o substrato são pouco exploradas.

Sobre a temática, as superfícies metálicas são mais estudadas do que os outros tipos de substratos. Segundo Bond (2008), o aspecto qualitativo do vestígio é afetado pelo tipo de metal e pela concentração do resíduo transferido pelo contato. Os sais inorgânicos provenientes das glândulas écrinas, amplamente distribuídas na pele das mãos, reagem com metais como o alumínio e o latão, resultando em um vestígio digital duradouro visto que se consolida no substrato através da corrosão deste (Sutton, Grenici e Hrubesova, 2014).

O mecanismo de interação com a superfície poderá variar de acordo com as propriedades desta, de modo que os elementos inorgânicos e orgânicos podem causar oxidação ou corrosão. A compreensão destes fenômenos pode colaborar para a detecção de vestígios papiloscópicos em superfícies metálicas submetidas a condições extremas como incêndios ou submersões (Wightman *et al.* 2015).

A Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X em associação com a Microscopia Eletrônica de Varredura viabiliza o mapeamento de diversos elementos nos vestígios de impressões digitais como carbono, sódio, oxigênio, potássio, cloro em superfícies de metal, plástico e vidro (Figura 24). Estes estudos apontam que a detecção das áreas de contato, onde são encontradas impressões digitais, pode ser feita pela presença destes elementos (Moret *et al.*, 2015; Challinger *et al.*, 2018), no entanto, muito embora discorram sobre as alterações de composição que ocorrem no vestígio ao longo do tempo, não mencionam a possibilidade do rastreamento destes elementos químicos especificamente ao longo do tempo.

Figura 24 – Detecção de impressão digital a partir da identificação de elementos químicos por MEV-EDS



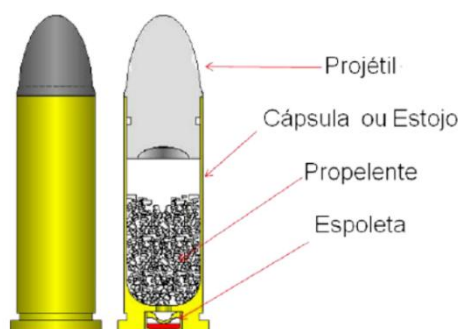
Legenda: Micrografia de uma impressão digital (imagem central). Os elementos químicos detectados (potássio – K; cloro – Cl; carbono – C; sódio – Na) estão identificados na imagem central e tem sua distribuição demonstrada pelas imagens à esquerda (Cl e K) e à direita (C e Na).

Fonte: Moret *et al.*, 2015

4 ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS EM SUPERFÍCIE METÁLICA

Dos tipos de vestígios comumente encontrados em locais de infração envolvendo armas de fogo estão os estojos de munição deflagrados. Em sua constituição, uma munição é composta pelas partes: projétil, estojo, propelente e espoleta (Figura 42). O estojo é uma estrutura composta por metal não-ferroso, sendo a maioria construídos por uma liga metálica de cobre e zinco, referido como latão, muito embora existam outras composições como plástico e papelão (Depósito Público TJAM, 2012). Acoplado na região anterior do estojo, encontra-se o projétil que por definição é qualquer sólido que possa ser arremessado, e no caso das armas de fogo, é o elemento que se deslocará dentro do cano do armamento até ser expelido pela região anterior do armamento.

Figura 25 – Estrutura de uma munição de arma de fogo



Legenda: Partes que compõe uma munição de arma de fogo estão indicadas pelas setas.

Nota: Munição exemplificada é do mesmo tipo das utilizadas no presente estudo.

Fonte: Imagem adaptada da Cartilha de Armamento e Tiro (Serviço de Armamento e Tiro – SAT da Academia Nacional de Polícia – ANP/PF; Comissão Nacional de Credenciamento de Instrutores de Armamento e Tiro – CONAT/DARM, 2017)

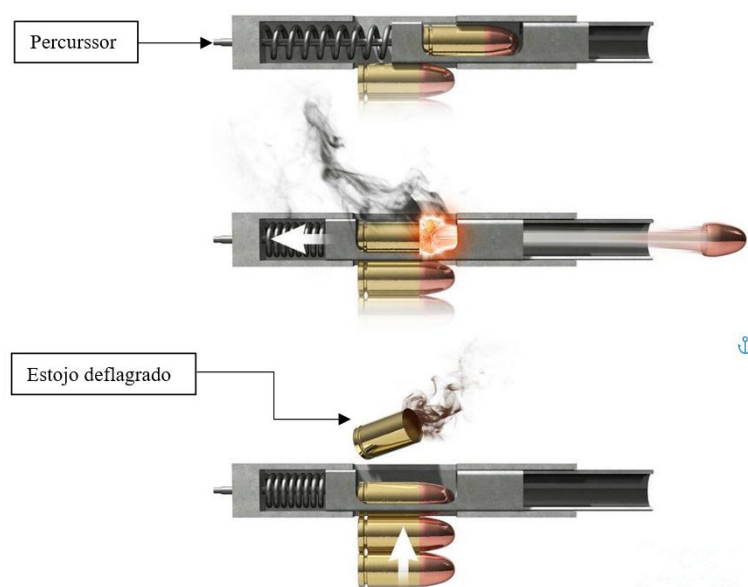
Para que o projétil inicie seu deslocamento, é necessária uma grande quantidade de energia que advém da queima do propelente (pólvora). A combustão da pólvora será deflagrada quando a mistura iniciadora armazenada na espoleta (na base do estojo) for provocada no momento da percussão, ou seja, no momento que o gatilho do armamento é pressionado. Internamente, no mecanismo de ação do armamento, o percussor (Figura 43) é a parte do armamento que atingirá a espoleta fazendo com que a mistura iniciadora gere uma chama que irá promover a queima da pólvora, impulsionando o projétil para dentro do cano, ao tempo que o estojo é deflagrado, ou seja, descartado para fora do armamento (Figura 44).

Figura 26 – Estrutura de um armamento do tipo pistola



Fonte: Imagem adaptada da Enciclopédia Britannica (<https://www.britannica.com/technology/semiautomatic-pistol>)

Figura 27 – Mecanismo de ação do tiro



Fonte: Imagem adaptada de Lunau, 2014 (<https://fineartamerica.com/featured/pistol-firing-mechanism-artwork-claus-lunau.html>)

Quando recolhidos em locais de crimes, os estojos são aproveitados para as análises na área da Balística Forense, com o objetivo de rastrear a origem da munição anteriormente constituída a partir de seus elementos físicos (Figura 45). Contudo, os estojos de munição deflagrados são tipos de vestígios potenciais para uma análise multidisciplinar, envolvendo

além da Balística Forense, a Papiloscopia e a Genética Forense (Basu, Bolton-King e Morrison, 2022; Exall, Goddard e Bandey, 2022; Tozzo *et al*, 2022). Essa possibilidade se dá em razão do processo de municiação – inserção das munições no carregador do armamento – de modo que, à medida que o indivíduo executa a ação (Figura 46), transfere através do contato das mãos e pontas dos dedos, material genético oriundo da descamação natural da pele, bem como a partir do toque em outras partes do corpo, e apõe suas impressões papiloscópicas na superfície do estojo. Ademais, os índices alarmantes de homicídios com armas de fogo fazem com que investigações envolvendo estojos de munições ganhem significativo interesse na Criminalística.

Figura 28 – Elementos identificadores dos estojos de munição



Fonte: Informativo Técnico 61 (CBC, 2013)

Figura 29 – Procedimento de municiação de armamento



Legenda: A – carregador do armamento do tipo pistola; B – munição sendo inserida no carregador, destaque para o manuseio desta.

Nota 1: Na imagem, Perita Criminais militar do Centro de Criminalística da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro.

Fonte: A autora, 2021.

Vestígios de impressões digitais são marcas produzidas pelo contato das falanges distais das mãos com as superfícies (Figura 47). As marcas são produzidas em razão da existência de uma mistura de elementos orgânicos (diferentes classes de lipídios, aminoácidos e células de

descamação) e inorgânicos (íons sódio, cloreto, potássio, dentre outros) que se acumulam ao longo dos relevos (cristas) que constituem o desenho digital na pele (Girod, Ramotowski e Weyermann, 2012). Mediante ao contato essa mistura é transferida para a superfície no formato da impressão digital.

Em sua maioria, os vestígios de impressão digital se encontram na forma latente (invisível) e são evidenciados com a utilização de substâncias químicas conhecidas como reveladores datiloscópicos. Portanto, em função de suas características, quando encontrados em cenas de crime, esses vestígios são comumente tratados com reagentes químicos e submetidos à análise morfológica segundo protocolos da Papiloscopia Forense, com o objetivo de caracterizar o seu perfil datiloscópico para uso como padrão biométrico na identificação de indivíduos supostamente envolvidos na infração penal (Ashbaugh, 1991; Lamond, 2001; Ramotowski, 2001; Champod *et al.*, 2004).

Figura 30 – Vestígio de impressão digital revelado



Legenda: Impressão digital revelada com a técnica do Cianoacrilato, tornando-se visível. As cristas são as linhas em relevo esbranquiçadas e os sulcos são os espaços contrastantes entre as cristas.

Fonte: A autora, 2021.

Além da análise morfológica intrínseca à Papiloscopia Forense, a presença de células de descamação possibilita que os vestígios sejam analisados por meio de uma área específica da Genética Forense denominada DNA de toque ou DNA de contato (Wickenheiser, 2012; Sankhla e Kumar, 2017). Tal possibilidade amplia o número de alternativas quanto ao uso desses vestígios para fins de identificação, principalmente quando as impressões digitais não apresentam qualidade suficiente para a sua caracterização morfológica. A obtenção de um perfil genético proveniente de um estajo deflagrado recuperado em um local de crime pode auxiliar

na identificação de indivíduos relacionados ao fato ou autores deste (Monpetit, 2019; Jansson *et al.*, 2020).

A molécula de DNA é estruturada por duas longas cadeias de polinucleotídeos as quais compreendem quatro tipos de subunidades de nucleotídeo. Cada nucleotídeo é formado por um açúcar de cinco carbonos (pentose) ligado a um grupo fosfato (ácido desoxirribonucleico) e uma base nitrogenada (adenina, timina, citosina ou guanina). Os nucleotídeos estão covalentemente ligados em cadeia através dos açúcares e fosfatos em uma ligação fosfodiéster na qual um grupo hidroxila na posição 5' de um nucleotídeo é ligado a outro grupo hidroxila na posição 3' do nucleotídeo em sequência através do grupo fosfato. O próprio arranjo que estrutura o nucleotídeo já contempla a primeira ligação éster, que é entre a pentose e o grupo fosfato. A segunda ligação – que caracteriza a denominação “ligação fosfodiéster – acontece quando os nucleotídeos se conectam em sequência, formando a “espinha dorsal” característica do DNA (Alberts *et al.*, 2002).

A estrutura tridimensional do DNA – a dupla hélice – surge das características químicas e estruturais de suas duas cadeias polinucleotídicas, nas quais as bases nitrogenadas são pareadas (complementares) e unidas por pontes de hidrogênio, sendo que uma base do tipo adenina estará ligada por uma dupla ponte de hidrogênio a uma base timina, e uma base do tipo citosina estará ligada por uma tripla ponte de hidrogênio a uma base guanina (Alberts *et al.*, 2002).

As extensas sequências nucleotídicas e.g. “(...) ATGGTGCACCT (...)” carregam todas as informações genéticas de um organismo. Ao longo destas sequências, encontram-se regiões conhecidas como microssatélites, empregadas atualmente para a identificação humana. As regiões microssatélites são sequências com um núcleo de repetição que estão distribuídos ao longo do genoma entre os genes. Essas sequências variam em tamanho e permitem a diferenciação entre os indivíduos. São classificadas pelo tamanho do núcleo de repetição (ou seja, pelo número de bases nitrogenadas que compõem determinado núcleo de repetição, e.g.: a repetição “GATA” é um núcleo composto por 4 bases nitrogenadas) e pelo número de vezes que os núcleos de repetição se repetem (por exemplo: “GATA-GATA-GATA”: são três repetições do núcleo “GATA”) (Butler, 2010).

Os núcleos de repetição compostos por 2 a 7 bases nitrogenadas são denominados microssatélites ou STR (*short tandem repeats* – repetições curtas em tandem). As sequências microssatélites também são classificadas de acordo com o padrão de repetição em:

a) Repetições simples: unidades de repetição idênticas no que se refere à sequência e tamanho do núcleo de repetição, e.g. (AATG)₅₋₁₁ (marcador genético TH01) (Nogueira, 2020).

b) Repetições compostas: duas ou mais repetições simples, e.g. TCTA (TCTG)₃₋₄ (TCTA)_n (marcador genético vWA) (Nogueira, 2020).

c) Repetições complexas: vários blocos de repetição com núcleos de repetição de estrutura e tamanhos variáveis, e.g. (TCTA)₄₋₆ (TCTG)₅₋₆ (TCTA)₃ TA (TCTA)₃ TCA (TCTA)₂ TCCATA(TCTA)₈₋₁₆ TC (marcador genético D21S11) (Nogueira, 2020).

Os marcadores STR têm notável aplicabilidade para a identificação humana por serem facilmente amplificados nas reações em cadeia da polimerase (PCR), por serem regiões altamente variáveis no que diz respeito ao número de repetições entre os indivíduos – permitindo com precisão a diferenciação entre os indivíduos – e ainda, apresentam melhor aplicabilidade para amostras forenses – as quais comumente apresentam determinado nível de degradação – dado seu tamanho reduzido (100 a 400 pares de bases) (Butler, 2010).

Muito embora a molécula do DNA seja quimicamente estável (Agutter e Wheatley, 2007), uma série de fatores pode propiciar a degradação da molécula e dificultar a sua análise. No contexto forense as variações ambientais são amplamente discutidas, uma vez que evidências biológicas encontradas em cenas de crime estão expostas a diversas condições ambientais e suas variações que podem degradar as moléculas do DNA, fragmentando-as e, dependendo do grau de fragmentação, dificultando a análise das regiões STR. Esses eventos podem ser causados por atividade microbiana na amostra (Sguazzi *et al.*, 2022) – as bactérias podem produzir enzimas capazes de fragmentar a estrutura das cadeias de DNA (Latham e Madonna, 2014), temperaturas extremas (Gotherstrom, 2002; Monpetit, 2019), umidade – moléculas de água participam em reações hidrolíticas que podem fragmentar a molécula de DNA (Latham e Madonna, 2014) e oxidação gerada pelos níveis de oxigênio e por outras moléculas no meio (Gill-King, Haglund, Sorg, 1997; Alaeddini, Walsh e Abbas, 2010).

A análise de DNA de toque, já foi estudada por este grupo de trabalho (Oliveira *et al.*; 2015; Alem *et al.*, 2017) e por outros autores (Schulz *et al.*, 2004; Leemans *et al.*, 2006; Dieltjs *et al.*, 2010; Goray *et al.*, 2010; Gino e Omedei, 2011). Estes estudos demonstram que embora a obtenção de perfil genético a partir de impressões digitais reveladas seja possível, a qualidade do perfil é afetada. Isso sugere que os componentes químicos constituintes dos reveladores exerçam algum tipo de influência sob as moléculas de DNA e/ou sob os reagentes utilizados nas etapas de processamento genético.

Além da possível contaminação inerente ao processamento com reveladores, contaminantes externos provenientes das superfícies de contato também parecem ter uma relação com o padrão de qualidade da análise genética. Segundo estudado por outros grupos, das variáveis que podem influenciar no sucesso das análises genéticas das impressões digitais,

o tipo de superfície é um dos fatores mais preponderantes (De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2012; Popa *et al.*, 2010).

Superfícies metálicas, muito embora sejam classificadas de modo geral como não-porosas, podem apresentar diferentes composições como metais simples, alumínio ou ligas metálicas como o latão, sendo este último, o caso de determinados tipos de estojos de munição (Gashi *et al.*, 2010; Girelli *et al.*, 2015; Thandauthapani *et al.*, 2018). O tamanho dos estojos (superfície de contato disponível para a interação), quantidade de carga propelente e rugosidade da superfície também podem influenciar nos resultados das análises. Ainda, a combustão dos propelentes utilizados para impulsionar a saída do projétil, como enxofre e nitrato de potássio (pólvora), também são depositados sobre o material genético ali presente e podem ser fatores contribuintes para as dificuldades observadas nas análises de DNA de toque a partir dos estojos deflagrados (Vermelho, 2012).

A natureza das interações entre as superfícies metálicas e o material genético, bem como as interações com os reveladores químicos aplicados (Gashi *et al.*, 2010; Houck, 2016), parecem estar relacionadas com a degradação celular e estrutural da impressão digital, e afetar tanto os resultados das análises genéticas quanto morfológicas. Associado a isso, outros fatores são apontados como interferentes nessa dinâmica: as características intrínsecas ao doador, as condições ambientais as quais esse vestígio está submetido e o intervalo de tempo transcorrido entre o contato e o processamento do vestígio, também pode ser uma variável importante dentro desta dinâmica (Cadd *et al.*, 2015; Thandauthapani *et al.*, 2018).

Embora o estudo acerca das impressões digitais em estojos deflagrados seja de grande interesse, os mecanismos de interação entre os resíduos de tiro e as células presentes nesse vestígio ainda são pouco conhecidos. O estudo nesse nível, ainda é incipiente no cenário nacional, e traz a perspectiva de um avanço significativo para a caracterização dessa evidência tão presente no contexto criminalístico, incluindo uma importante contribuição científica e tecnológica.

Assim sendo, com base nas premissas de que tanto a estrutura de cristas papiloscópicas quanto o perfil genético delas obtidos são afetados pelos contaminantes apontados presentes na prática forense, acrescido do fato que a condição ambiental ao longo do tempo promove degradação de ambos, levanta-se a hipótese de que as interações químicas entre estes resíduos e os vestígios papiloscópicos são responsáveis por esse efeito. Levanta-se também a hipótese de que interações moleculares que ocorrem na dependência da superfície de contato e do ambiente em função do tempo também são responsáveis por esse efeito.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto - CEP HUPE/UERJ – sob o número de parecer 1.790.600 (CAAE 48026615.6.0000.5259 e fomento contemplado pelo edital FAPERJ Forense 07/2018 (ANEXO A), tendo sido desenvolvida no Laboratório de Ciência e Tecnologia Forense da UERJ e em colaboração com o Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Instituto de Química da UERJ – LABMEV para as análises MEV-EDS.

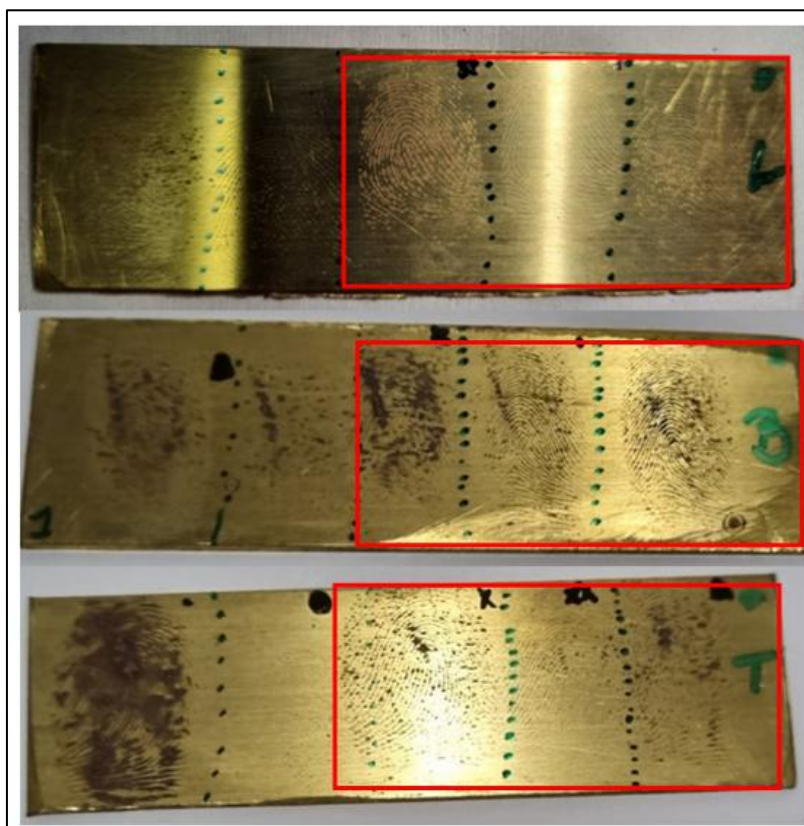
5.1 Análise química por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS)

5.1.1 Preparo das amostras

Para realizar as análises por MEV-EDS foram selecionados três voluntários, duas mulheres e um homem, na faixa etária de 20 – 30 anos. As impressões digitais foram coletadas conforme o protocolo adaptado de Archer *et. al* (2005) no qual as mãos são lavadas previamente à coleta e na sequência, as pontas dos dedos são friccionadas contra a pele do rosto de modo a transferir lipídios e suor para as pontas dos dedos. Nesta forma de coleta, as impressões digitais são denominadas “enriquecidas”, e o objetivo é que todas as impressões produzidas para o experimento tenham quantidade e proporção de compostos semelhantes.

As coletas foram realizadas em superfície de metal (lâminas de latão). Inicialmente, foi preparada uma lâmina por voluntário contendo cada lâmina três impressões digitais do respectivo voluntário, no período de setembro de 2022. Estas lâminas foram analisadas nos intervalos de tempo 82 dias, 75 dias e 68 dias, totalizando 9 impressões digitais analisadas (Figura 25).

Figura 31 – Coletas de impressões digitais no período de setembro de 2022



Legenda: Lâminas de latão utilizadas para as análises MEV-EDS; Intervalos de tempo 82, 75 e 68 dias. As letras “L, B e T” se referem a cada um dos três participantes.

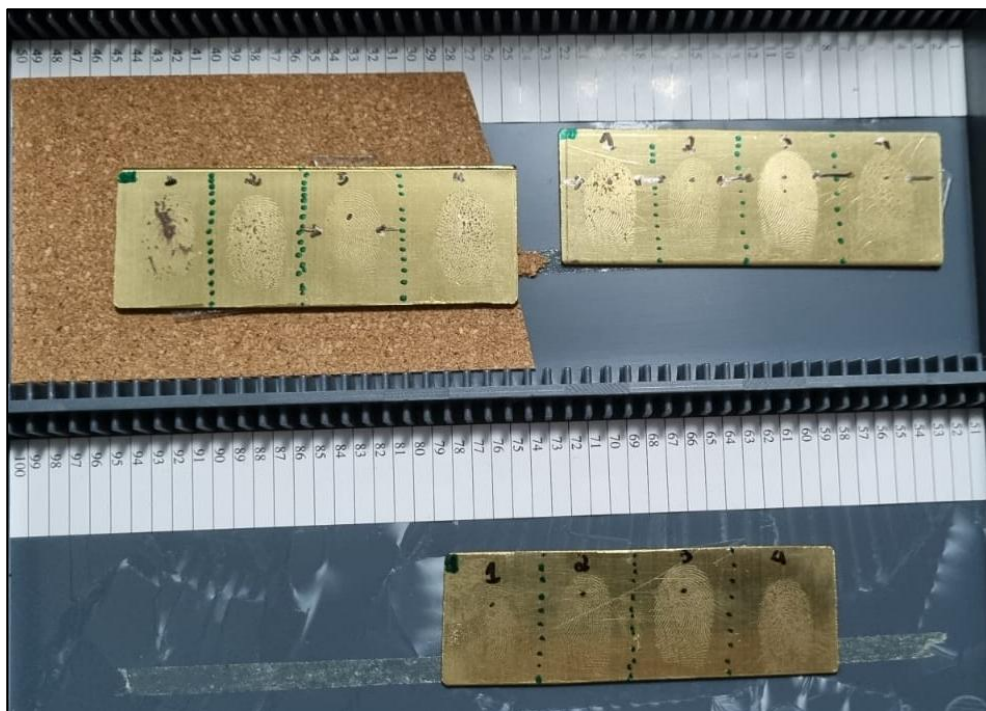
Nota: Cada lâmina contém 5 impressões digitais, no entanto apenas 3 impressões (em destaque) foram utilizadas para as análises.

Fonte: A autora, 2013.

Posteriormente, foram produzidas novas três lâminas entre os meses de abril e maio de 2023, contendo quatro impressões digitais cada uma, dos mesmos voluntários, sendo analisadas nos intervalos de tempo 28 dias, 14 dias, 7 dias e 0 dias. Esta última lâmina foi processada até 3 horas após sua produção. Este experimento foi realizado em triplicata, totalizando 36 impressões digitais analisadas (Figura 26).

Foram analisadas no total 45 impressões digitais em sete intervalos de tempo, variando de 0 a 80 dias. Para as impressões mais antigas (de 68 a 82 dias) foi realizada a análise por EDS sendo gerado apenas o espectro EDS (análise qualitativa). Para as impressões mais recentes (0 a 28 dias) além do espectro EDS, foi gerada uma tabela semiquantitativa com as porcentagens de cada elemento presente.

Figura 32 – Coletas de impressões digitais no período de abril a maio de 2023



Legenda: Lâminas de latão utilizadas para as análises MEV-EDS; Intervalos de tempo 28, 14, 7 e 0 dias. Para cada voluntário foram produzidas 3 lâminas com 5 impressões digitais cada uma. A figura se refere às lâminas de apenas um dos voluntários (coleta em triplicata).

Fonte: A autora, 2013.

5.1.2 Condições instrumentais MEV-EDS

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada com o detector de energia dispersiva (EDS) foram realizadas no microscópio eletrônico modelo JSM-6510 (Jeol[®]) com diferentes magnificações 30x, 50x, 100x. Magnificações maiores foram utilizadas para a caracterização de morfologias de interesse em algumas das amostras. As análises foram operadas com aceleração de voltagem de 10 kV com filamento de tungstênio e *spot size* (diâmetro do feixe) em S20. As análises de EDS (ThermoScientific) foram realizadas com magnificação em 50x, com aquisição de 30 frames (aproximadamente 3 minutos), *spot size* foi ajustado para S60.

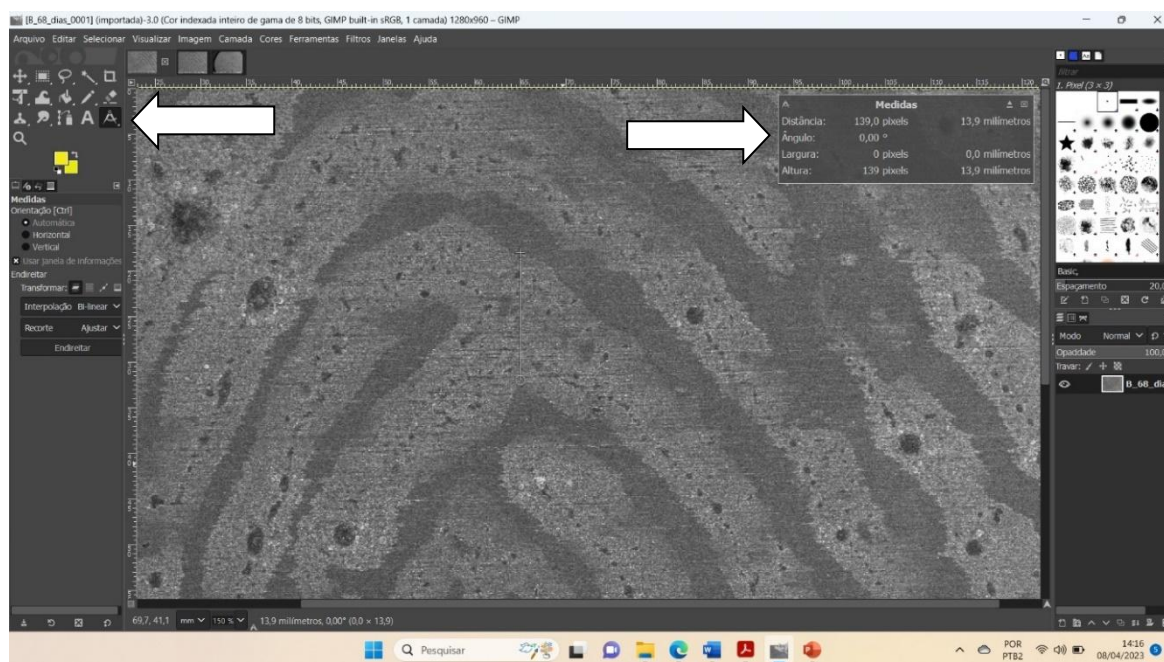
5.2 Análises morfométricas: aferição da espessura das cristas

As micrografias geradas pelo MEV no aumento 30x foram utilizadas para a aferição da espessura das cristas ao longo dos intervalos de tempo estudados. As imagens foram inseridas no *software* gratuito GIMP - *GNU Image Manipulation Program*, versão 2.10.32 e com o auxílio da ferramenta “Medidas” as espessuras das cristas foram contabilizadas de acordo com o protocolo a seguir.

5.2.1 Protocolo para a aplicação da análise morfométrica em Papiloscopia

Neste trabalho foram selecionadas para a aferição as cristas que constituíram a região de núcleo das impressões digitais dos voluntários. As micrografias geradas pelo MEV priorizaram a captura desta área em cada impressão analisada. A espessura das cristas foi aferida com o auxílio da ferramenta “medidas” do *software* GIMP - *GNU Image Manipulation Program* versão 2.10.32 (Figura 27).

Figura 33 – Micrografia de impressão digital no *software* GIMP



Legenda: Micrografia de impressão digital. Seta branca à esquerda indica a ferramenta “medidas”. Seta branca à direita indica o quadro gerado pela ferramenta com a indicação da medida aferida em milímetros.
Fonte: A autora, 2023.

Para realizar estas análises foi desenvolvido um protocolo (APÊNDICE B) que adotou como primeiro parâmetro para a aferição, o uso de regiões de cristas que constituem minúcias. Do núcleo, foram selecionadas quatro regiões para a aferição, sendo preferencialmente áreas formativas de minúcias. As minúcias visíveis na região de núcleo foram estudadas para cada voluntário individualmente, sendo selecionadas majoritariamente bifurcações (voluntários 1 e 3) e região do ápice da laçada central para o voluntário 2.

Ao utilizar a ferramenta “medidas” do *software* GIMP, quando a distância entre dois pontos é aferida, além da medida, é gerado um ângulo. Este foi o segundo parâmetro adotado para realizar as aferições das minúcias estudadas em cada voluntário, determinando com mais precisão a área de medição.

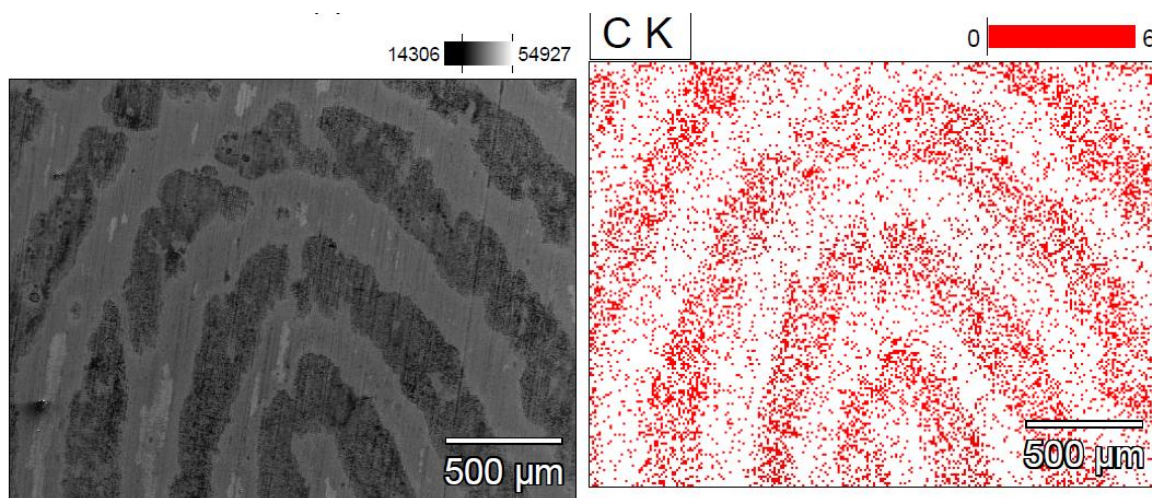
As aferições foram realizadas para todas as impressões digitais que apresentaram aspectos qualitativos satisfatórios (nitidez e contraste que viabilizassem determinar com clareza a estrutura das minúcias a serem aferidas). Os resultados da padronização de protocolo serão exibidos na seção de resultados.

5.3 Análises químicas elementares por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS)

Após a inserção no MEV e captura das micrografias para as análises morfológicas, os parâmetros foram ajustados para a utilização do EDS: a voltagem foi mantida em 10 kV, a magnificação e o *spot size* foram ajustados respectivamente para 50x e S60.

A aquisição dos dados gerou mapas químicos os quais demonstraram visualmente a distribuição de determinado elemento químico na amostra analisada. Além disso foi gerado o espectro EDS que é um gráfico com a representação dos elementos químicos detectados na amostra através de picos de energia (keV). A partir do espectro EDS também foi obtida a porcentagem em massa dos elementos presentes na região avaliada da impressão digital através da área obtida abaixo dos picos no espectro. Essa é uma caracterização semiquantitativa dos elementos químicos detectados na amostra que permite uma estimativa da concentração dos elementos presentes (Figura 28 e 29, Tabela 1).

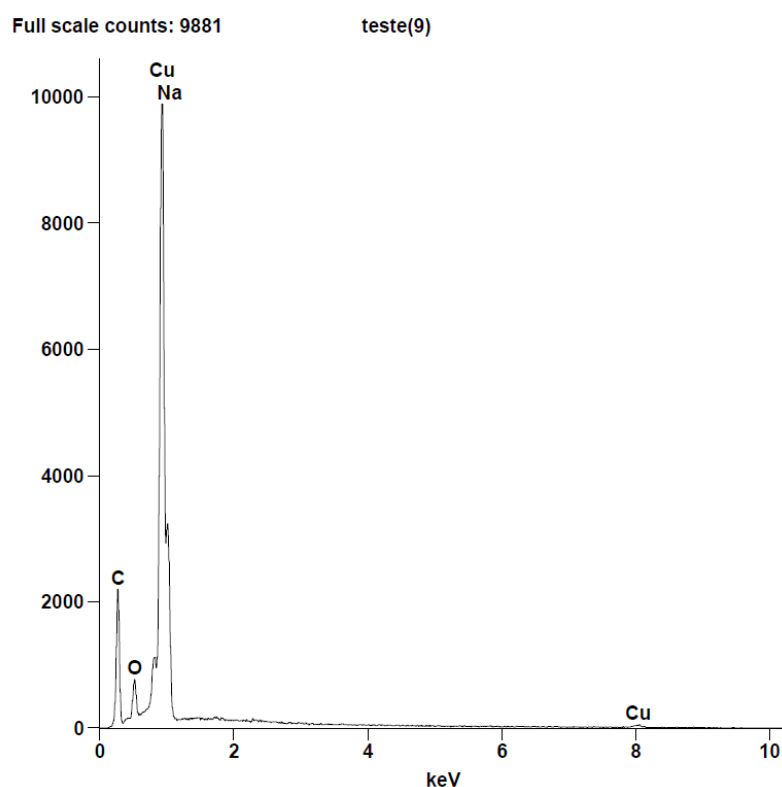
Figura 34 – Exemplo de mapa químico EDS – elemento químico Carbono



Legenda: À esquerda, impressão digital analisada. À direita, distribuição do elemento químico carbono na amostra.

Fonte: A autora, 2023.

Figura 35 – Exemplo de espectro EDS



Legenda: Espectro EDS – eixo das ordenadas (y) representa a contagem de fótons de raios-X que atinge o detector por segundo (cps: *counts per second*); eixo das abcissas (x) representa a energia associada a um dado fóton de raios-X em keV, no qual são observados os picos de energia entre 0 e 10 keV e a partir de suas informações é possível a obtenção de informações qualitativas e quantitativas sobre a composição química da amostra em escala microscópica.

Fonte: A autora, 2023.

Tabela 1 – Exemplo de dados semiquantitativos gerados pela técnica EDS

Element Line	ZAF	Weight %	Atom %
C K	3.207	10.18	29.30
O K	1.572	2.29	4.94
Na K	2.097	18.89	28.41
Cu K	0.000	---	---
Cu L	1.098	68.64	37.34
Total		100.00	100.00

Legenda: Tabela gerada automaticamente pelo *software* de energia dispersiva: a primeira coluna representa os elementos químicos detectados, a segunda coluna representa um fator de correção gerado automaticamente pelo software, a terceira coluna representa o peso do elemento químico e a quarta coluna representa a massa (%) do elemento químico presente na região analisada (quantidade relativa).

Fonte: A autora, 2023.

As porcentagens em massa obtidas para cada elemento químico detectado em cada impressão digital analisada foram os dados utilizados para a comparação nos intervalos de tempo estudados.

5.4 Análise genética

Esta pesquisa possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto - CEP HUPE/UERJ – sob o número de parecer 1.790.600 (CAAE 48026615.6.0000.5259 e fomento contemplado pelo edital FAPERJ Forense 07/2018 (ANEXO A).

5.4.1 Modelo Experimental

Para o cumprimento da etapa de análises genéticas foi realizado um pré-processamento amostral dividido em quatro fases:

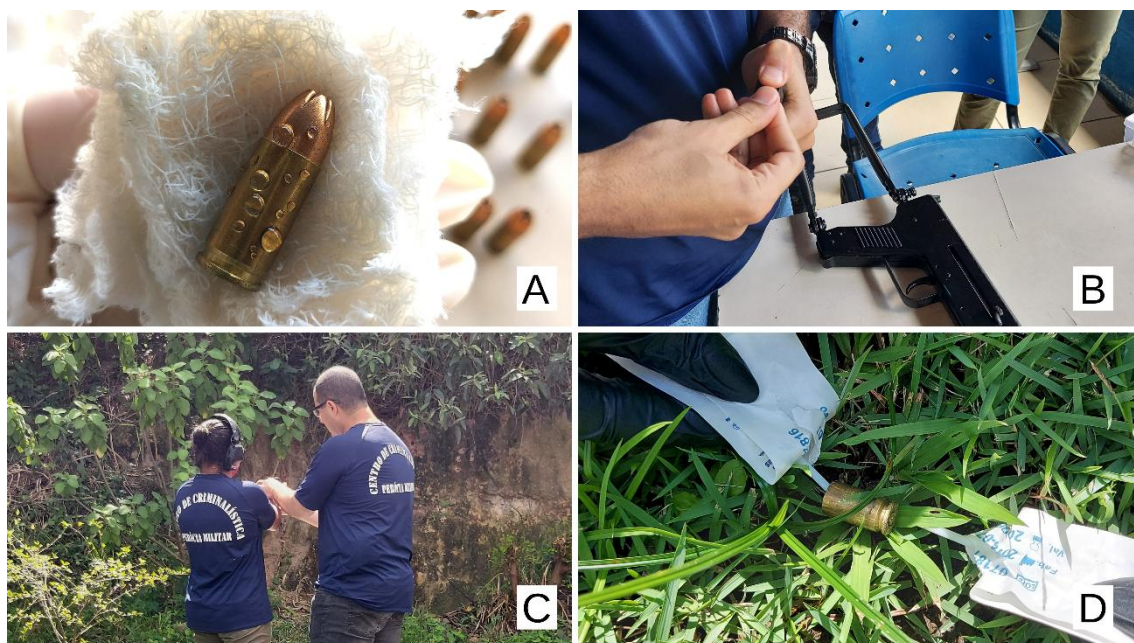
a) Limpeza e Esterilização das munições: com o objetivo de eliminar quaisquer resquícios de material genético, impressões papiloscópicas e impurezas pré-existent nas munições, garantindo que os resultados obtidos em cada fase dos experimentos sejam controlados (Figura 48 – A).

b) Manuseio das munições e municionamento dos armamentos: após a limpeza individual de cada munição, três voluntários as manusearam normalmente como fariam na rotina. Cada munição foi inserida no carregador do armamento e este foi inserido em posição específica no armamento (Figura 48 – B)

c) Execução dos tiros: após o municionamento dos armamentos, cada voluntário executou nove tiros em sequência (Figura 48 – C)

d) Coleta dos estojos: após a finalização dos tiros, os estojos ejetados foram içados pela borda aberta com uma haste plástica e depositados em espaço individualizado em caixa plástica organizadora de modo a não haver mistura dos estojos manuseados por cada voluntário (Figura 48 – D)

Figura 36 – Esquema de pré-processamento amostral



Legenda: A – Limpeza das munições com hipoclorito 5 %, seguido de álcool líquido 70 %; B – Municionamento do carregador por um dos voluntários; C – Execução dos tiros; D – Coleta dos estojos ejetados a cada tiro.

Nota 1: Os estojos foram coletados dos pontos nos quais repousaram após serem ejetados do armamento, com duas hastes plásticas com o objetivo de preservar o material biológico ali presente.

Nota 2: Nas imagens, Peritos Criminais militares do Centro de Criminalística da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro.

Fonte: A autora, 2021.

5.4.2 Tipo de amostras

As superfícies metálicas de interesse para a prática forense utilizadas neste trabalho foram estojos de munição deflagrados. Nesta dinâmica, a munição completa (projétil acoplado ao estojo) foi manuseada como é normalmente na prática e logo depois, inserida no carregador do armamento. O carregador foi inserido no armamento e os tiros foram então executados em alvo inanimado em estande de tiro, sendo o estojo ejetado para fora do armamento e coletado para a análise genética. As munições foram previamente preparadas em etapa de pré-processamento conforme descrição supracitada.

5.4.3. Tipos de munições

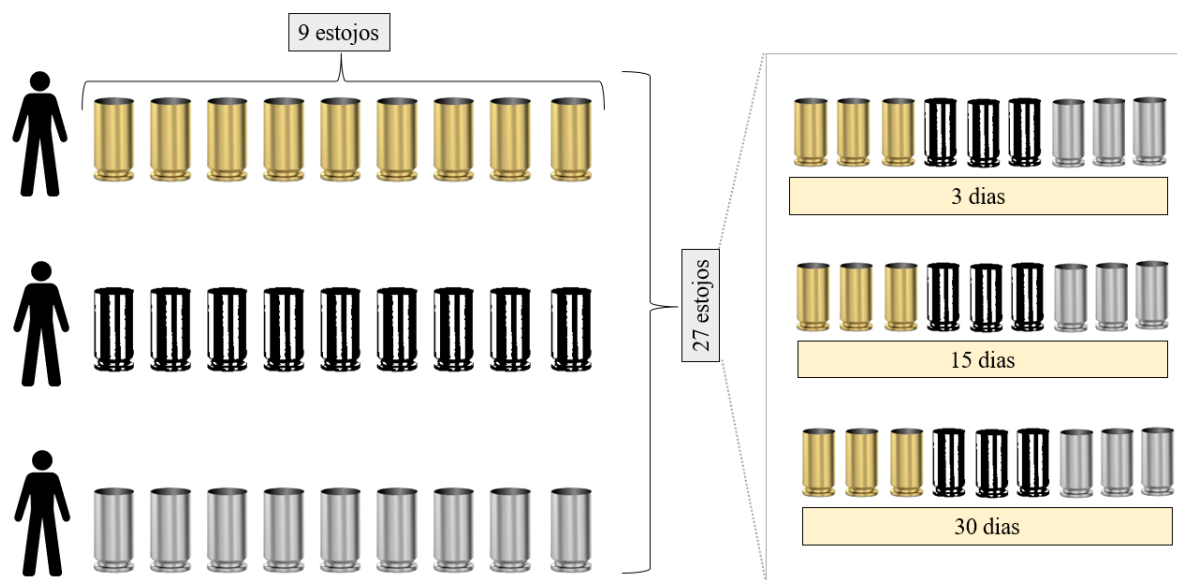
Foram utilizadas 9 munições da marca CBC (Companhia Brasileira de Cartuchos) do calibre 9 mm *Luger*, tipo de projétil ETOG (Encamisado Total Ogival) de peso 124 gr, 18 Munições CBC calibre 9 mm, tipo de projétil EXPO (Encamisado Ponta Oca / *Hollow Point*) 124 gr, totalizando 27 munições de um mesmo calibre (9 mm).

5.4.4 Voluntários

Para o cumprimento desta fase, três voluntários (dois indivíduos do sexo masculino e um indivíduo do sexo feminino) participaram manuseando as munições de armas de fogo e executando os tiros. O total de amostras produzidas para a fase de análise molecular genética foi de 27 amostras, sendo analisadas nos intervalos de tempo de 3 dias, 8 dias e 30 dias conforme ilustra a figura 49.

Os voluntários foram esclarecidos dos objetivos da pesquisa e de sua execução, consolidando seu entendimento na assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

Figura 37 – Desenho esquemático que ilustra a produção e distribuição de amostras para as análises genéticas



Legenda: A figura ilustra o quantitativo de amostras produzido por cada voluntário (9 tiros) e a distribuição do número total de amostras para os três intervalos de tempo. As imagens dos estojos foram coloridas artificialmente para elucidar a distribuição desses entre os intervalos de tempo.

Fonte: A autora, 2024.

5.4.5 Análise temporal

Após a produção das amostras – realização dos 27 tiros – estas foram analisadas em diferentes intervalos de tempo com o objetivo de cumprir a análise temporal proposta inicialmente (Tabela 11).

Tabela 2 – Correlação entre os tipos e quantidades de munições avaliadas e respectivos intervalos de tempo.

Intervalo de tempo*	Número de estojos analisados
3 dias	9 estojos CBC 9 mm <i>Luger</i> ETOG
8 dias	9 estojos CBC 9 mm EXPO 124gr
30 dias	9 estojos CBC 9 mm EXPO 124gr

Legenda: *Tempo em dias corridos transcorridos entre a execução do tiro e a extração de DNA da superfície do estajo.

Fonte: A autora, 2021.

5.5 Padronização de metodologia de coleta de DNA da superfície dos estojos

Dada a natureza da amostra – DNA de toque – e condições as quais foi submetida – tiro e os efeitos do tiro – foi realizada uma padronização de metodologia para a retirada (coleta) deste material genético existente na superfície do estojo após a sua ejeção do armamento. As metodologias avaliadas foram: a) suabe de algodão (método mais tradicional), b) papel de filtro tratado FTA[®] (Whatman, GE) e c) submersão do estojo em solução de coleta de acordo com o protocolo adaptado de Montpetit e O'Donnel (2015).

Para esse propósito foram utilizadas 6 amostras para cada metodologia avaliada, totalizando 18 amostras avaliadas na padronização. Estojos já deflagrados previamente foram limpos e esterilizados com solução de hipoclorito de sódio 5 % e álcool líquido 70 %. Em seguida foram manuseados por um voluntário do sexo feminino de modo a transferir material genético através das impressões papiloscópicas no ato do toque.

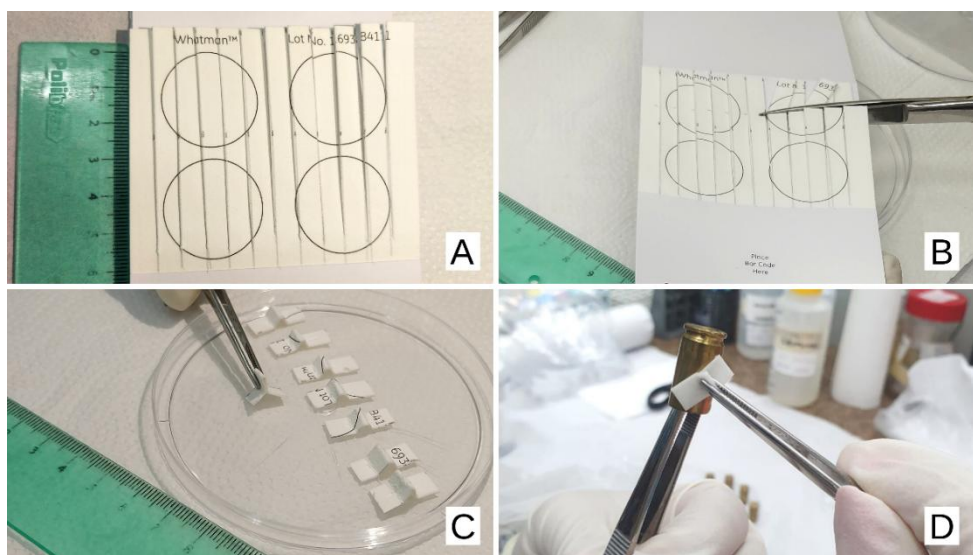
a) Coleta com suabe de algodão: um suabe de algodão foi umedecido com água destilada ultrapura (em torno de 80 µl) e com movimentos circulares foi feita a coleta de toda a superfície dos estojos. Os suabes foram transferidos para o tubo de extração de DNA.

b) Coleta com papel de filtro FTA[®] (Whatman, GE): Tiras de papel de filtro (Figura 50 – A) na medida 2,5 cm de comprimento por 0,5 cm de largura foram produzidas (Figura 50 – B). As tiras de papel FTA[®] foram separadas em placa de petri (Figura 50 – C) e para cada estojo uma tira foi utilizada para realizar a coleta. O papel FTA[®] foi umedecido com 50 µl de água destilada ultrapura e durante 60 segundos foi arrastado sobre a superfície metálica do estojo de modo a efetivamente transferir os elementos ali presentes para o papel (Figura 50 – 7). Em seguida, a tira de papel FTA[®] foi cortada ao meio e adicionada a tubo plástico (volume 2 ml) no qual foram adicionados posteriormente os reagentes para a extração de DNA.

c) Submersão do estojo – protocolo adaptado de Montpetit e O'Donnel (2015): em um tubo de 5 ml foi adicionado 850 µl de tampão de lise, 34 µl de proteinase K e 1 µl de carreador de RNA. O estojo foi submerso nesta solução e incubado a 56 °C por 60 minutos. Após essa etapa, o lisado foi transferido para tubo de 2 ml e submetido a extração de DNA e o estojo foi descartado (Figura 51). O protocolo de Montpetit e O'Donnel (2015) consistia na submersão do próprio estojo na solução tampão supracitada, seguida de incubação com agitação por 30 minutos, sendo finalizada com a retirada do estojo da solução remanescente e uma coleta de quaisquer materiais restantes neste com um suabe. Na proposta de original, esse suabe seria

incubado novamente por mais 90 minutos na mesma solução tampão inicial e por fim, este volume submetido à extração de DNA.

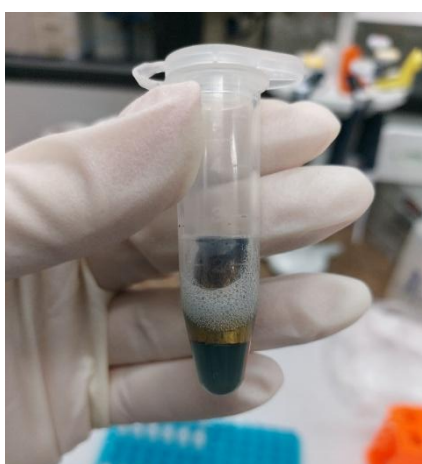
Figura 38 – Esquema de coleta de DNA utilizando papel de filtro em superfície de estojos deflagrados



Legenda: A – Papel de filtro FTA®; B – Tiras de papel na medida 2,5 cm por 0,5 cm; C – Tiras de papel de filtro recortadas, pinçadas e separadas para uso; D – Coleta de DNA da superfície do estojo.

Fonte: A autora, 2021.

Figura 39 – Ilustração de processamento pré-automação segundo protocolo de O'Donnel (2015)



Legenda: Estojo de munição deflagrado após ser submetido a processo de incubação prévio à extração automatizada de DNA.

Nota: Observação para a intensa tonalidade verde azulada após o tempo de incubação. O estojo após ser retirado do tubo também apresentou mudança acentuada de coloração.

Fonte: A autora, 2021.

Todas as amostras foram submetidas à extração automatizada no EZ1 *Advanced XL* (Qiagen). A eficácia de cada metodologia foi avaliada através de PCR em tempo Real com o kit Investigator Quantiplex Pro RGQ (Qiagen). Posteriormente todas as amostras desta padronização foram genotipadas com o kit PowerPlex® Fusion 6C (*Promega Corporation*) no analisador genético ABI 3500 (Thermofisher).

5.6 Coleta de material genético dos estojos deflagrados

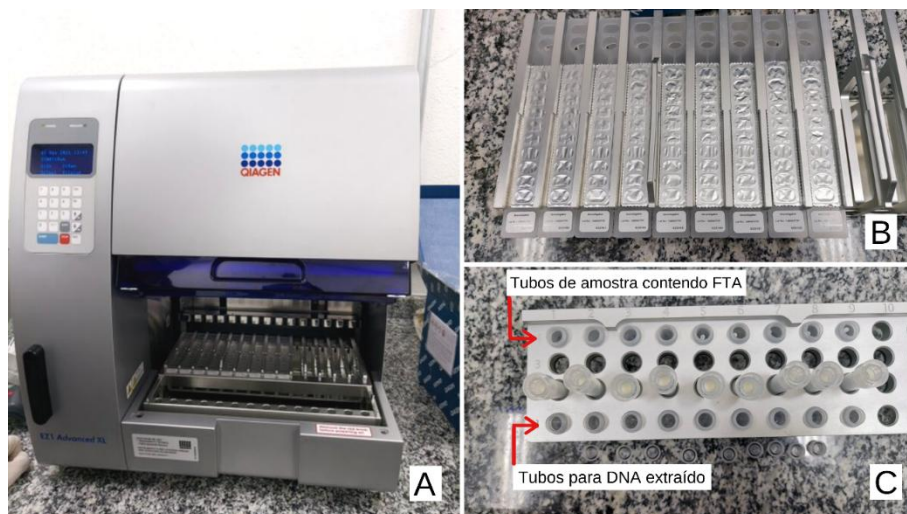
Para a coleta de material genético que foi transferido para os estojos no momento do manuseio das munições, foi utilizado papel de filtro tratado do tipo FTA® Classic (Whatman™, GE Healthcare Life Sciences) conforme resultado da padronização de metodologia de coleta de DNA.

5.7 Procedimentos para a Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada na plataforma automatizada EZ1 *Advanced XL* (Qiagen) utilizando-se o kit de extração por *beads* magnéticas EZ1® DNA Investigator® (Qiagen). O kit utilizado inclui uma etapa prévia à extração automatizada que consiste em uma lise enzimática. Para esta, foi adicionado à cada tubo de amostra 290 µl de buffer, 10 µl de proteinase K e 1ul de RNA Carrier. As amostras foram colocadas em agitação (900 RPM) e sob aquecimento (56 °C) no aparelho ThermoMixer® (Eppendorf) por uma hora. Após essa etapa, os tubos de amostras foram brevemente centrifugados para a retirada de gotículas das paredes e tampa do tubo.

O kit de extração por *beads* magnéticas EZ1® DNA Investigator® (Qiagen) (Figura 52 – A) apresenta cartuchos selados contendo os reagentes que serão adicionados durante a automação aos tubos para realizar a extração (Figura 52 – B) Os tubos de amostras são inseridos no equipamento em uma estante montada conforme indica a figura (Figura 52 – C). O protocolo de automação escolhido no equipamento é o *Trace Tip Dance* (indicado para amostras sólidas como as que contém o papel FTA®), Tris TE-4 como solução de eluição e 40 µl como volume final de eluição do DNA extraído. O tempo total de extração no equipamento foi de 17 minutos.

Figura 40 – Esquema de equipamento automatizado para extração de DNA



Legenda: A - Plataforma automatizada EZ1 Advanced XL (Qiagen); B – Cartuchos selados contendo os reagentes para a extração; C – Tubos de amostras contendo material biológico coletado da superfície do estojo deflagrado e tubos para receber o DNA extraído após o processo de automação.

Fonte: A autora, 2021.

5.8 Análise quantitativa: quantificação absoluta por PCR em tempo real

Após a finalização do procedimento de extração, o volume eluído foi quantificado através da técnica de PCR em tempo real na plataforma Rotor-Gene Q (QIAGEN) usando o kit Investigator Quantiplex Pro RGQ (QIAGEN). O referido kit proporciona quantificação total de DNA genômico, DNA masculino e índice de degradação das amostras, permitindo assim a determinação da viabilidade da genotipagem tendo como base a quantidade de DNA por microlitro na amostra, bem como a constatação da existência de inibidores que podem interferir com esta aplicação subsequente.

Para a quantificação do DNA humano genômico total, é amplificada uma região alvo pequena, contendo 91 pares de base. Essa quantificação é detectada no canal amarelo do Rotor-Gene Q. Uma região alvo de 81 pares de base é amplificada para a quantificação de DNA masculino presente na amostra, sendo a detecção realizada no canal verde do Rotor-Gene Q. Já a presença de inibidores é constatada a partir da análise da amplificação do controle interno, tendo a região alvo 434 pares de base e detecção no canal *crimson* do Rotor-Gene Q. A determinação da degradação da amostra é feita pela amplificação de uma região alvo de 353 pares de base no mesmo *locus* que ocorre a amplificação dos 91 pares de base relativos à quantificação do DNA genômico total. De forma análoga, é feita a determinação da degradação

do DNA masculino com a amplificação de uma região alvo contendo 359 pares de base no mesmo *locus* que ocorre a amplificação dos 81 pares de base relativos à quantificação do DNA masculino. As regiões alvo para amplificação contempladas neste kit são descritas na tabela a seguir:

Tabela 3 – Relação de sondas utilizadas na quantificação absoluta por qPCR

Quantificação	Tamanho região alvo	Locus	Canal de detecção no Rotor-Gene Q
DNA genômico total	91 pb	4NS1C	Amarelo (<i>Yellow</i>)
DNA masculino	81 pb	*	Verde (<i>Green</i>)
Controle Interno	434 pb	*	Carmim (<i>Crimson</i>)
Degradação DNA genômico	353 pb	4NS1C	Vermelho (<i>Red</i>)
Degradação DNA masculino	359 pb	*	Laranja (<i>Orange</i>)

Legenda: Resumo das detecções realizadas através do kit de quantificação por PCR em tempo real Investigator Quantiplex Pro RGQ (QIAGEN). * = dado não informado pelo fabricante.

Fonte: A autora, 2021.

As amostras foram quantificadas em duplicatas conforme indicação do fabricante seguindo o protocolo: 9 µl de Quantiplex Pro RGQ Reaction Mix, 9 µl de Quantiplex Pro RGQ Primer Mix e 2 µl de cada amostra. Todas as amostras (27) foram quantificadas e ao total foram realizadas 80 reações de quantificação, incluindo curvas de calibração, controles positivos, negativos e “*no template control (NTC)*”. Amostras NTC são referentes ao próprio tampão de quantificação que é utilizado para compor a curva de calibração da corrida e objetivam assegurar que não há contaminação na curva de calibração e que o resultado obtido é confiável. As amostras foram submetidas à 40 ciclos que compreenderam uma etapa inicial de ativação (95° C por 3 minutos) e uma segunda etapa com dois passos: 95 °C por 5 segundos (desnaturação) e 60° C por 10 segundos (anelamento e extensão combinados) Todos os parâmetros de eficiência da reação de PCR por tempo real foram atingidos de modo satisfatório, permitindo a conclusão de que os resultados obtidos são válidos.

5.9 Genotipagem – Análise de STR

As amostras foram processadas para a análise de STR com o kit PowerPlex® Fusion 6C (Promega Corporation) no analisador genético ABI 3500 (Thermofisher) segundo o protocolo do fabricante: 5 µl de PowerPlex® Fusion 6C 5X Master Mix, 5 µl de PowerPlex® Fusion 6C 5X Primer Mix e 15 µl de amostra de DNA extraído, sendo 25 µl o volume final da reação de amplificação. O kit PowerPlex® Fusion 6C (Promega Corporation) é um multiplex para a detecção de um painel de 27 regiões STR no genoma humano em conformidade com a base de dados de DNA referência *Combined DNA Index System* (CODIS, em português, Sistema de índice de DNA combinado). O limite de detecção deste kit é de 60 pg / µl.

5.10 Análise Estatística

Os dados de quantificação relacionados às amostras de estojos deflagrados nos diferentes intervalos de tempo foram analisados estatisticamente no programa *Graphpad Prism* 5.0 (GraphPad Software®). O teste de normalidade D'Agostino & Pearson foi realizado para os dados de quantificação por PCR em tempo real, objetivando-se identificar o quanto esses dados se distanciam de uma distribuição gaussiana (“distribuição normal”) ou se foram obtidos de uma população que segue essa distribuição (hipótese nula). Se $p > 0,05$ para este teste, então a hipótese nula é verdadeira e os dados seguem uma distribuição gaussiana ou bem próxima a essa. Se $p < 0,05$, então a hipótese nula é rejeitada e conclui-se que os dados não são normais.

Em seguida, a esses mesmos dados foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis o qual realiza comparações entre três ou mais grupos não pareados com o objetivo de avaliar se há alguma diferença entre as distribuições apresentadas. Se $p > 0,05$ para este teste, conclui-se que não há diferença entre os grupos analisados. Se $p < 0,05$ então, rejeita-se a hipótese de que a diferença encontrada seja aleatória e conclui-se que há uma real diferença entre os grupos. Além disso, também foi aplicado o teste post hoc de Dunn com o intuito de se identificar entre quais grupos estaria a diferença, se esta existisse. Ambos os testes – Kruskal-Wallis e teste de Dunn – foram aplicados também aos dados de genotipagem.

Os dados de quantificação relacionados ao estudo de padronização de metodologia de coleta foram analisados estatisticamente no programa *Graphpad Prism* 5.0 (GraphPad

Software[®]), sendo aplicado o teste de normalidade D'Agostino & Pearson seguido do teste não paramétrico teste U de Mann Whitney que compara dois grupos de amostras independentes.

6 RESULTADOS

6.1 Protocolo para a aplicação da análise morfométrica em Papiloscopia

As tabelas 2 – 5 apresentam os resultados da aplicação do protocolo desenvolvido para a aferição da espessura das cristas. Os parâmetros determinados por estes resultados foram utilizados para aferir todas as impressões digitais dos três voluntários nos sete recortes temporais pré-determinados (0, 7, 14, 28, 68, 75 e 82 dias).

Tabela 4 – Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 1

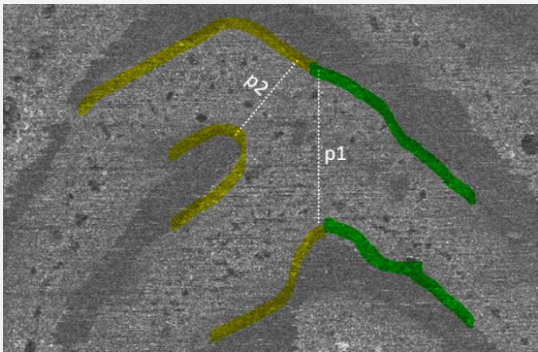
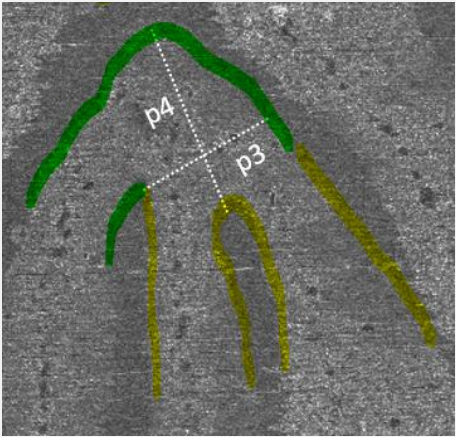
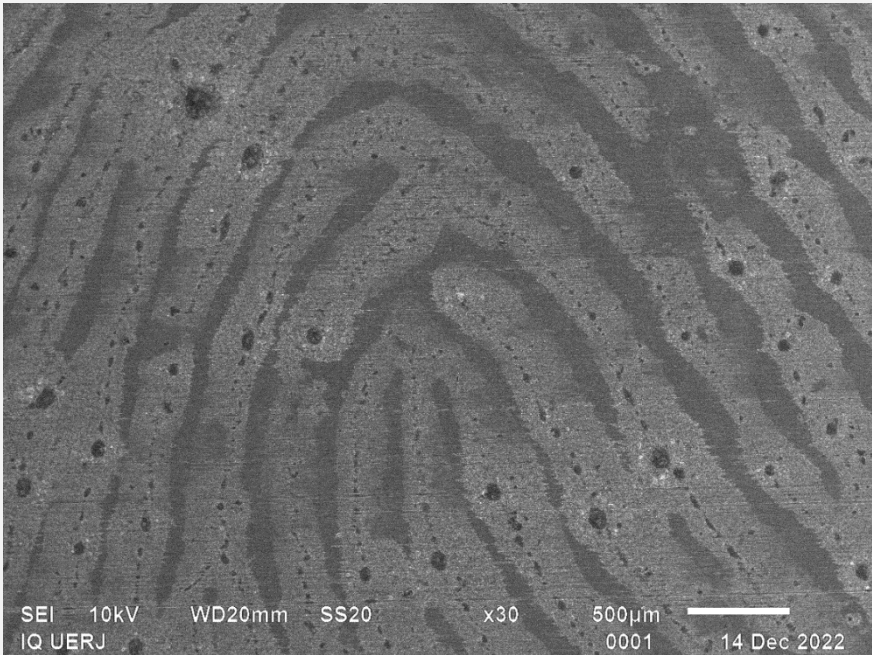
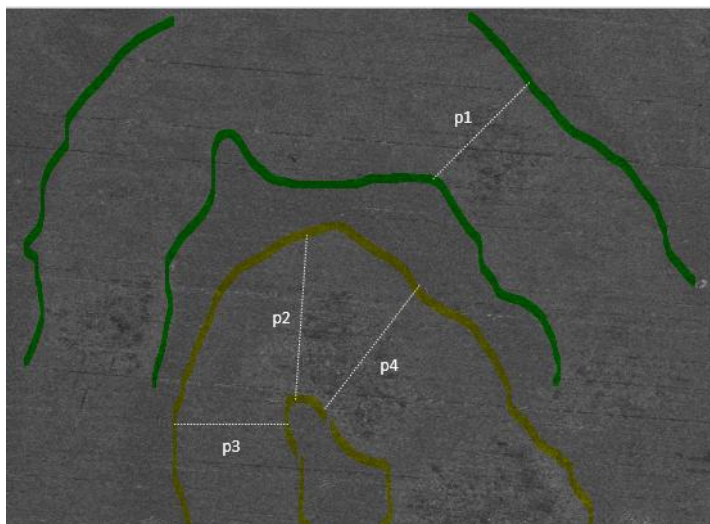
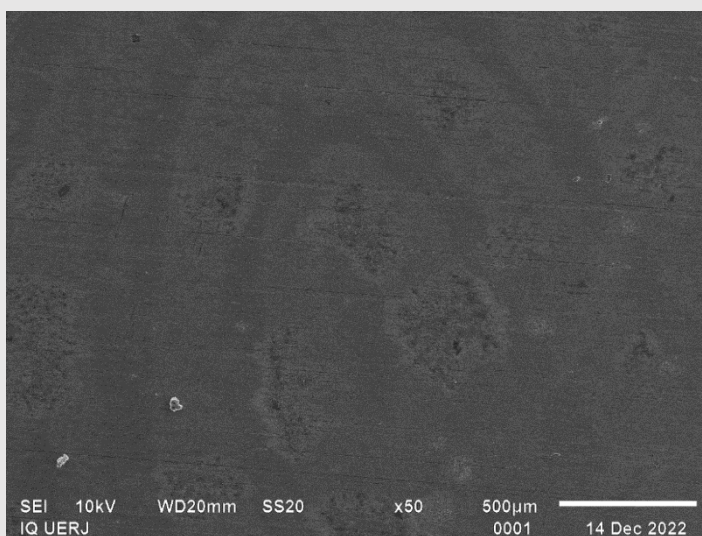
Bifurcação	Ponto 1 (p1)	Ponto 2 (p2)
	Ramo de crista que dá origem à minúcia. P1 é a região limítrofe na qual há a mudança na morfologia da crista, dando origem à ramificação da crista originária.	Ramo superior da bifurcação. P2 é a região de ramificação.
Ângulo de aferição:	0°	45°
Bifurcação	Ponto 3 (p3)	Ponto 4 (p4)
	Ramo de crista que dá origem à minúcia. P3 é a região limítrofe na qual há a mudança na morfologia da crista, dando origem à ramificação da crista originária.	Distância entre ápice da bifurcação e ramo de crista que dá origem à minúcia.
Ângulo de aferição:	35°	23°
		
Micrografia da região avaliada na impressão digital do voluntário 1, magnificação 50x		

Tabela 5 – Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 2

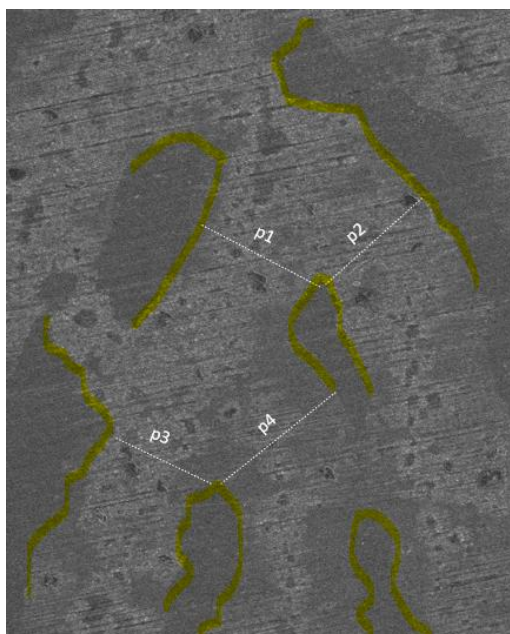


Crista contínua	Ápice da laçada central	Crista contínua	Crista contínua
Ponto 1 (p1)	Ponto 2 (p2)	Ponto 3 (p3)	Ponto 4 (p4)
Ausência de minúcias na região nucelar da impressão digital do voluntário – Crista contínua	Ausência de minúcias na região nucelar da impressão digital do voluntário – P2 é a região do ápice da laçada central	Ausência de minúcias na região nucelar da impressão digital do voluntário – Crista contínua	Ausência de minúcias na região nucelar da impressão digital do voluntário – Crista contínua
Ângulo de aferição:			
45°	0°	0°	45°

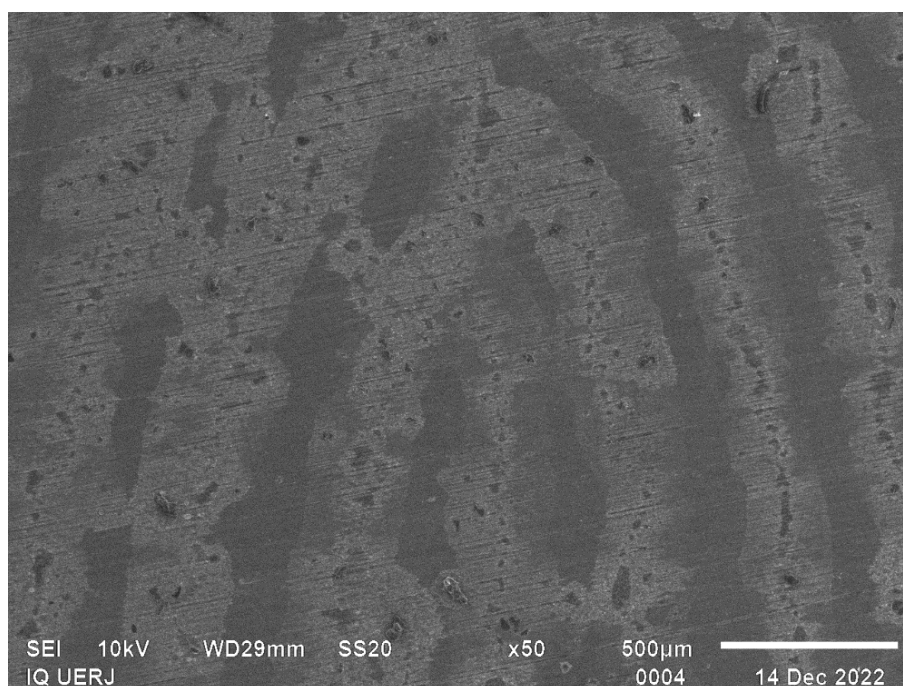


Micrografia da região avaliada na impressão digital do voluntário 2, magnificação 50x

Tabela 6 – Determinação das minúcias para análise morfométrica – Voluntário 3



Bifurcação		Bifurcação	
Ponto 1 (p1)	Ponto 2 (p2)	Ponto 3 (p3)	Ponto 4 (p4)
Ramo à esquerda da bifurcação.	Ramo à direita da bifurcação.	Ramo à esquerda da bifurcação.	Ramo à direita da bifurcação.
Ângulo de aferição:			
45°	0°	0°	45°



Micrografia da região avaliada na impressão digital do voluntário 3, magnificação 50x.

6.2 Análises morfométricas

Os resultados das aferições de espessura das cristas foram compilados nas tabelas a seguir. As tabelas apresentam as métricas obtidas para cada voluntário nos intervalos de tempo estudados, bem como indicam se o comportamento geral da crista ao longo do tempo indicou aumento ou diminuição de espessura (expresso em porcentagem – “espessura *overall*”). Essa métrica foi calculada comparando a espessura das cristas entre o primeiro e último tempo aferidos, ou seja, tempo 0 e tempo 28, e tempo 68 e tempo 82 dias.

Tabela 7 – Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas
– Voluntário 1

	Crista 1		Crista 2	
	p1	p2	p3	p4
Ângulo de aferição	0,0°	45°	35°	23°
	Coletas realizadas em maio de 2023			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
0 dias	13,1	6,2	6,9	4,7
7 dias	11,0	5,7	*	*
14 dias	13,5	7,1	*	*
28 dias	17,1	9,2	9,3	14,4
Espessura <i>overall</i>	+30,5%	+48,38%	+34,7%	+206,3%
	Coletas realizadas em setembro de 2022			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
68 dias	10,2	6,8	4,6	5,7
75 dias	13,5	6,9	4,9	12,5
82 dias	13,9	9,0	8,5	13,3
Espessura <i>overall</i>	+ 36,2%	+32,3%	+84,7%	+33,3%

Legenda: * representa regiões de crista que não puderam ser aferidas devido à ausência de visibilidade (contraste, nitidez insuficientes para uma aferição dentro dos parâmetros estabelecidos: localização da minúcia e angulação).

Fonte: A autora, 2023.

Tabela 8 – Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas
– Voluntário 2

	Crista 1	Crista 2		
	p1	p2	p3	p4
Ângulo de aferição	45°	0°	0°	45°
	Coletas realizadas em maio de 2023			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
0 dias	7,9	7,7	6,6	7,2
7 dias	7,5	6,1	7,0	6,8
14 dias	7,2	5,4	5,3	4,8
28 dias	7,9	8,9	7,9	8,1
<i>Espessura overall</i>	0%	+15,5%	+19,6%	+12,5%
	Coletas realizadas em setembro de 2022			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
68 dias	9,3	10,8	6,7	9,9
75 dias	*			
82 dias	16,1	18,5	16,8	16,4
<i>Espessura overall</i>	+73,1%	+71,2%	+50%	+65,6%

Legenda: * representa regiões de crista que não puderam ser aferidas devido à ausência de visibilidade (contraste, nitidez insuficientes para uma aferição dentro dos parâmetros estabelecidos: localização da minúcia e angulação).

Fonte: A autora, 2023.

Tabela 9 – Avaliação morfométrica das impressões latentes a partir de quatro regiões distintas
– Voluntário 3

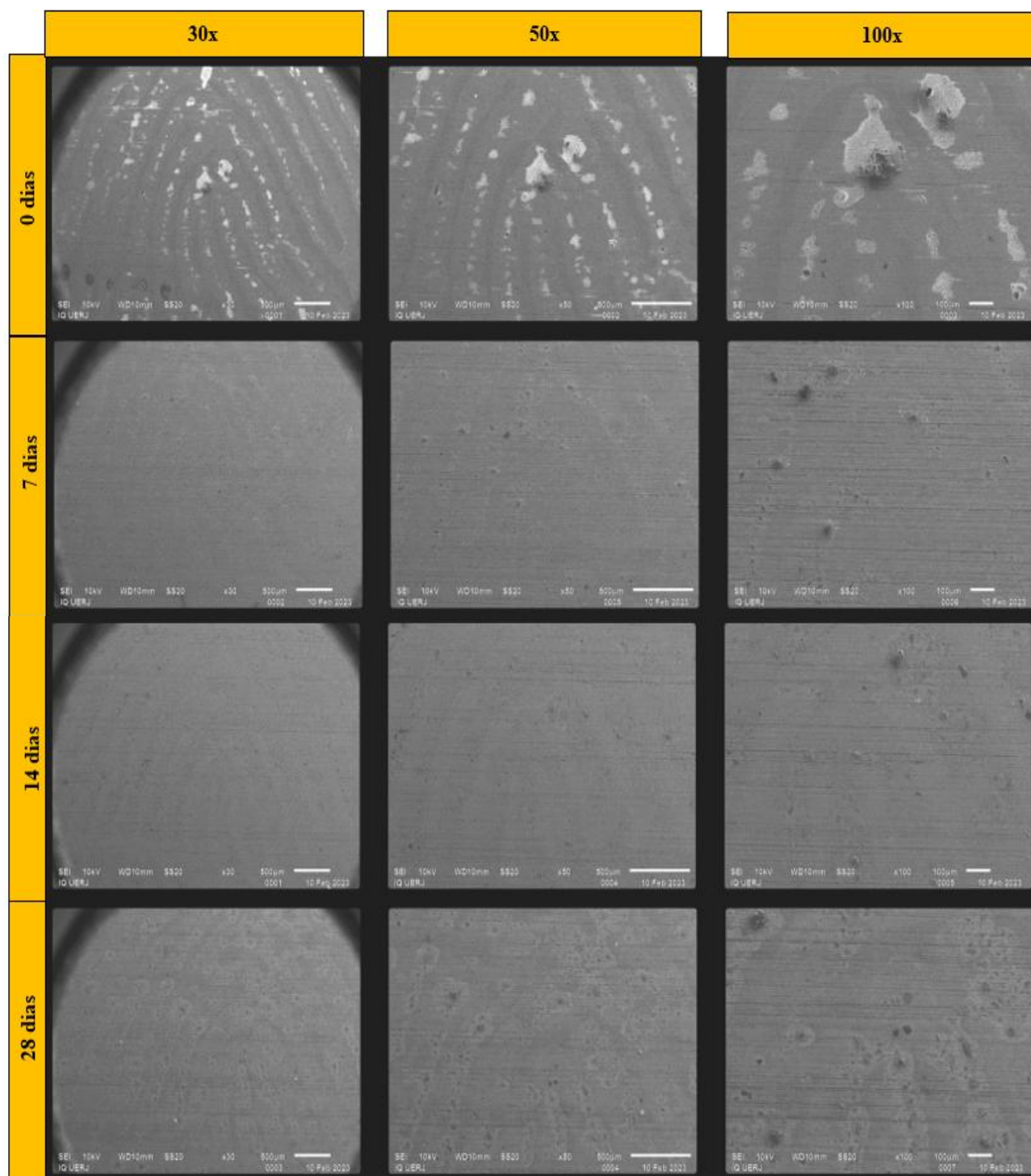
	Crista 1		Crista 2	
	p1	p2	p3	p4
Ângulo de aferição	45°	45°	0°	45°
	Coletas realizadas em maio de 2023			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
0 dias	14,6	13,3	18,6	15,3
7 dias	16,7	17,3	26,0	24,2
14 dias	18,5	17,5	17,1	16,1
28 dias	11,6	10,3	13,6	13,7
<i>Espessura overall</i>	-79,4%	-77,4%	-73,1%	-89,5%
	Coletas realizadas em setembro de 2022			
Intervalos de tempo	Espessura (mm)			
68 dias	16,8	14,0	12,2	16,1
75 dias	17,4	13,1	15,4	14,0
82 dias	18,4	11,2	16,7	12,9
<i>Espessura overall</i>	+9,5%	-20%	+37%	-20%

Legenda: * representa regiões de crista que não puderam ser aferidas devido à ausência de visibilidade (contraste, nitidez insuficientes para uma aferição dentro dos parâmetros estabelecidos: localização da minúcia e angulação).

Fonte: A autora, 2023.

As micrografias obtidas a partir dos ensaios de microscopia eletrônica de varredura para os intervalos de tempo estudados estão compilados nas figuras a seguir (Figuras 30 a 35).

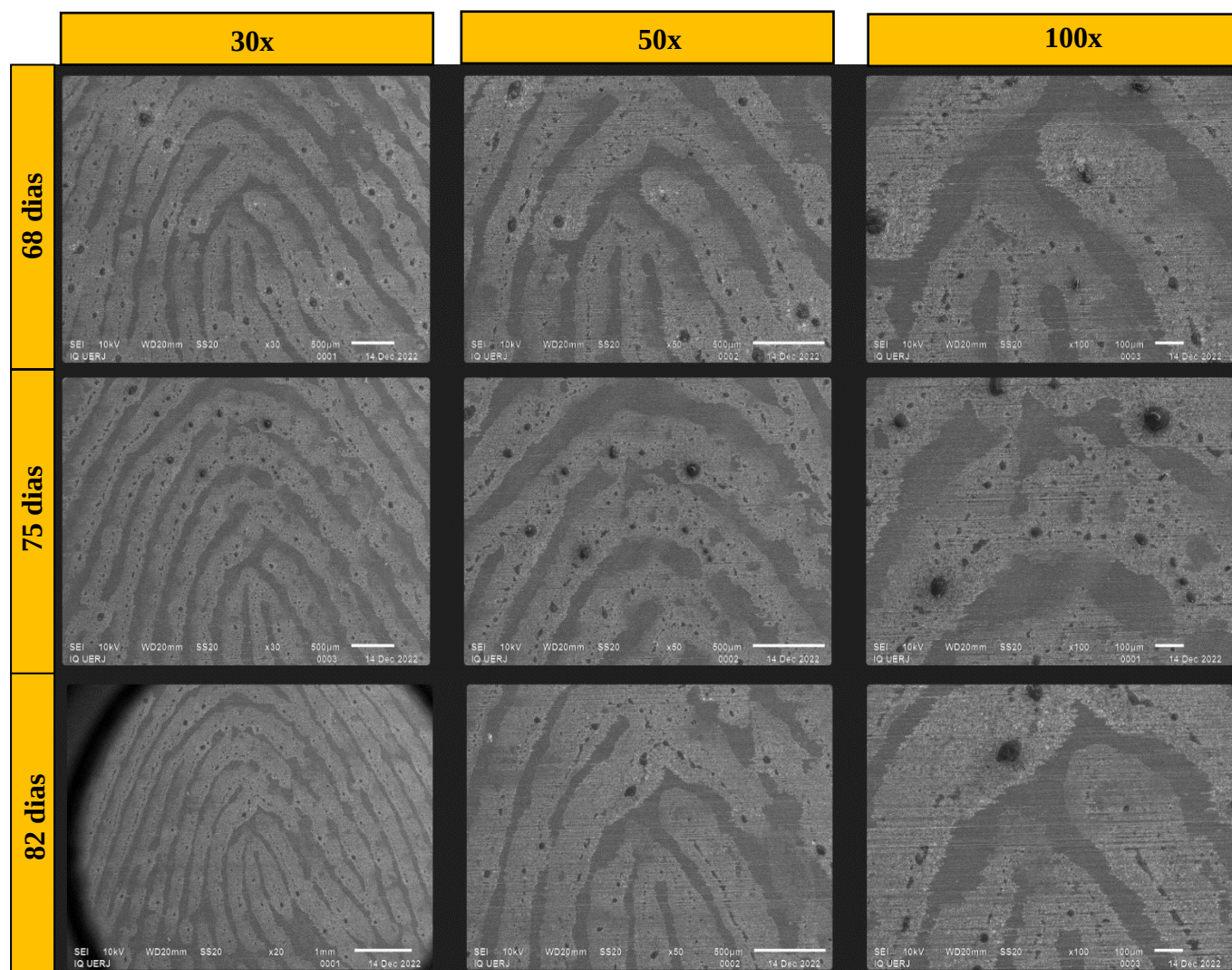
Figura 41 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 1



Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.

Fonte: A autora, 2023.

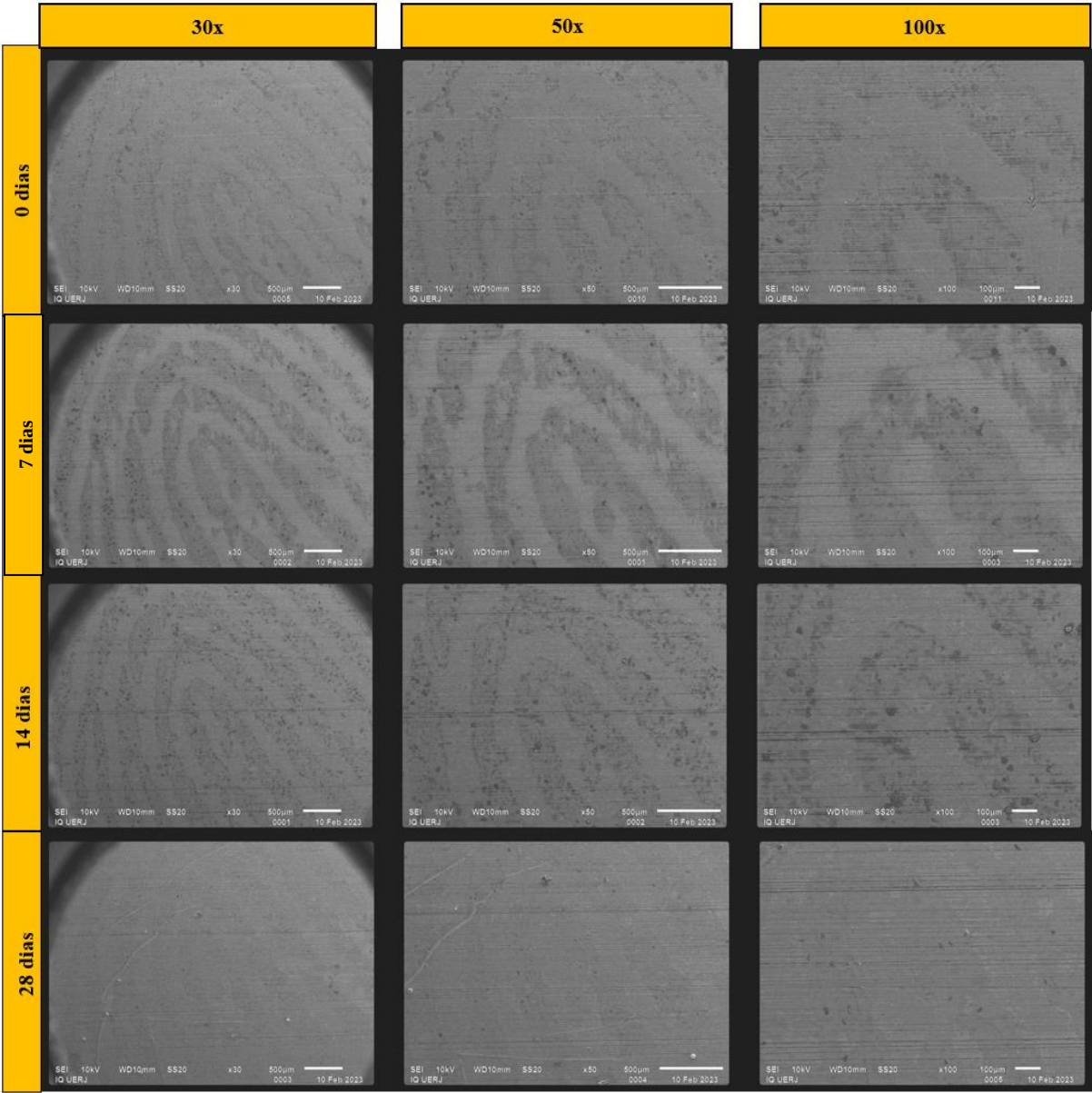
Figura 42 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 1



Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.

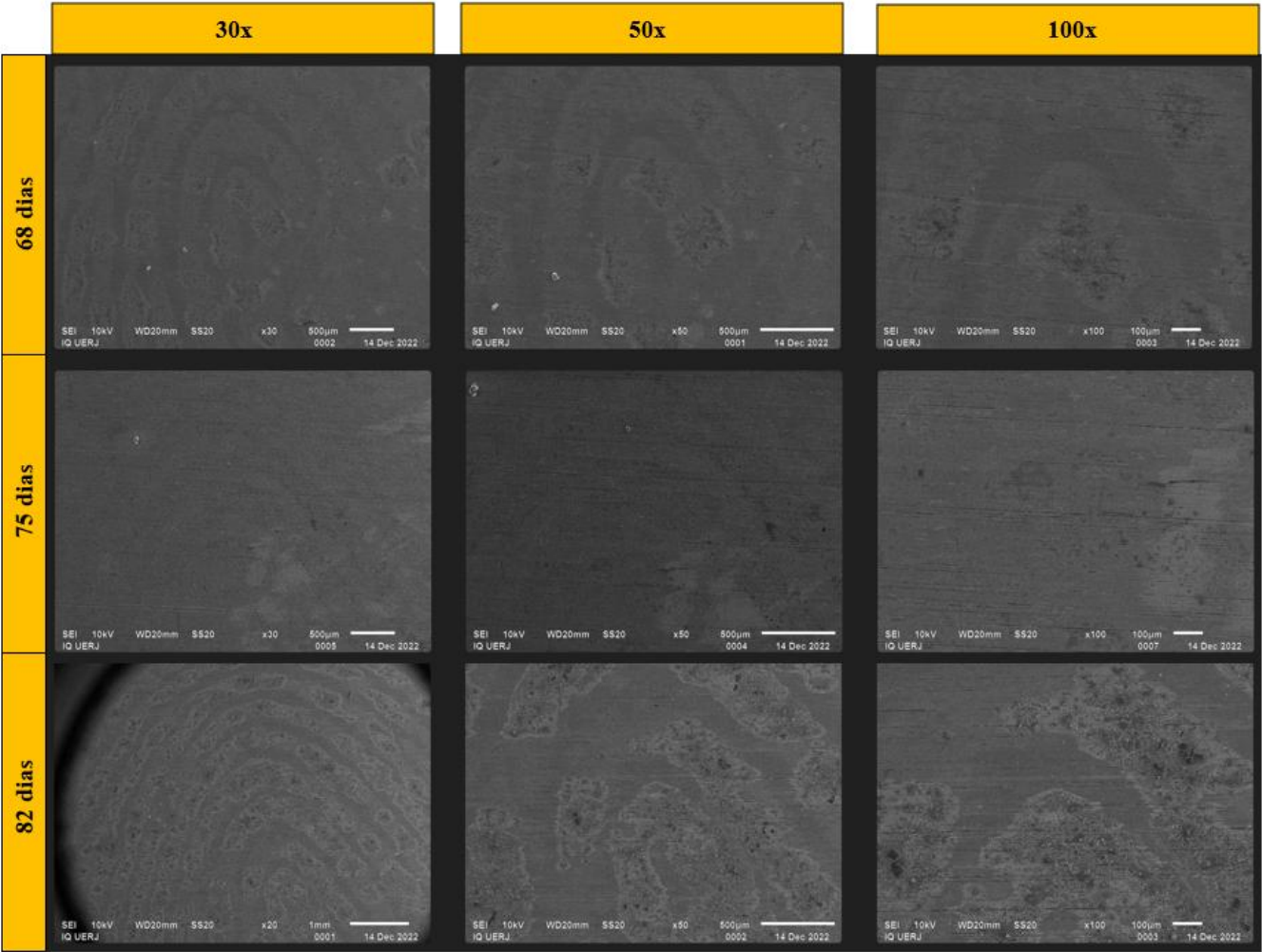
Fonte: A autora, 2023.

Figura 43 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 2



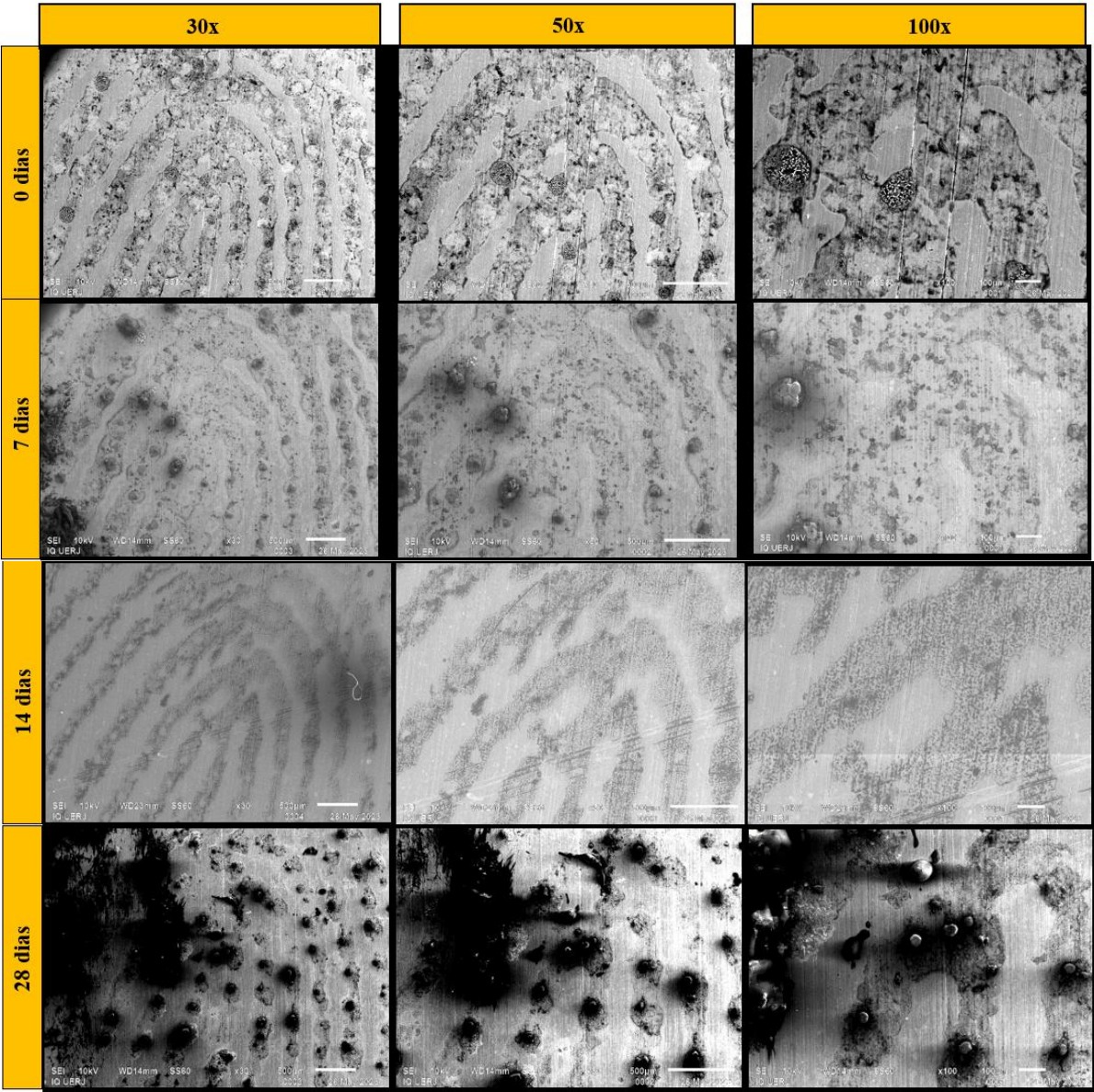
Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.
Fonte: A autora, 2023.

Figura 44 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 2



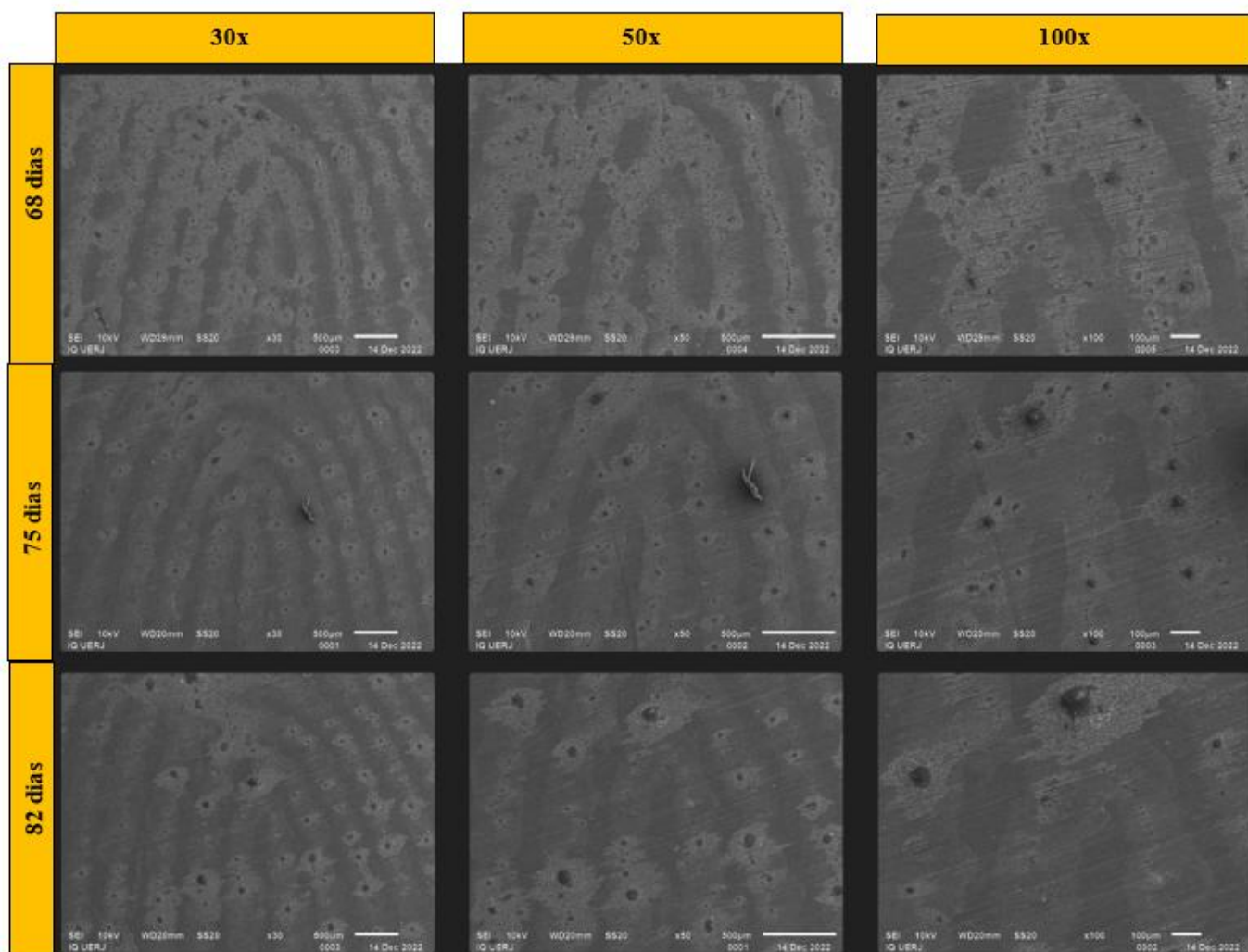
Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.
Fonte: A autora, 2023.

Figura 45 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 0 a 28 dias – Voluntário 3



Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.
Fonte: A autora, 2023.

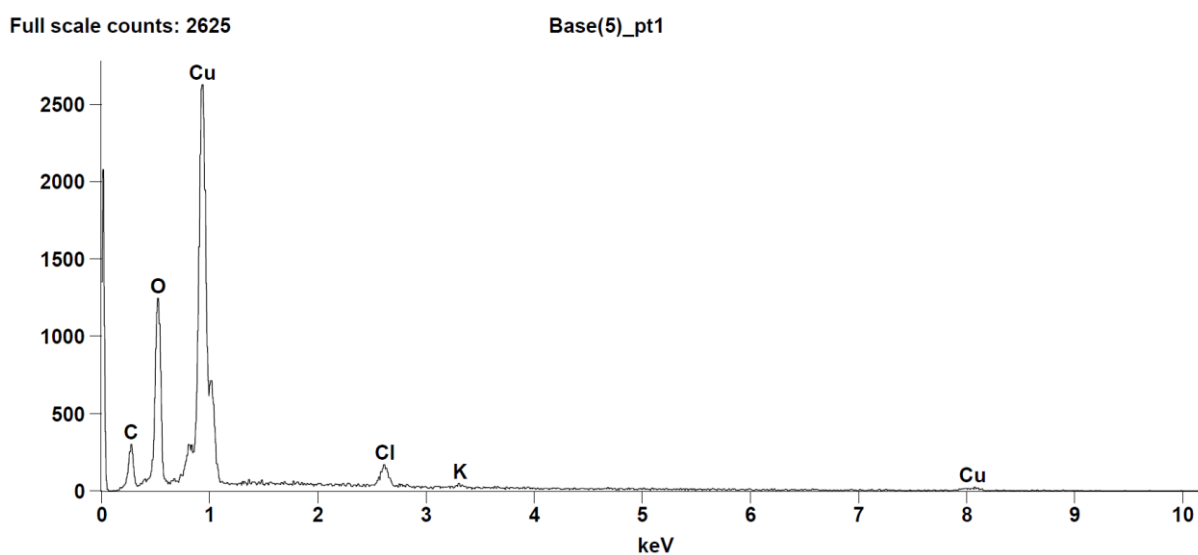
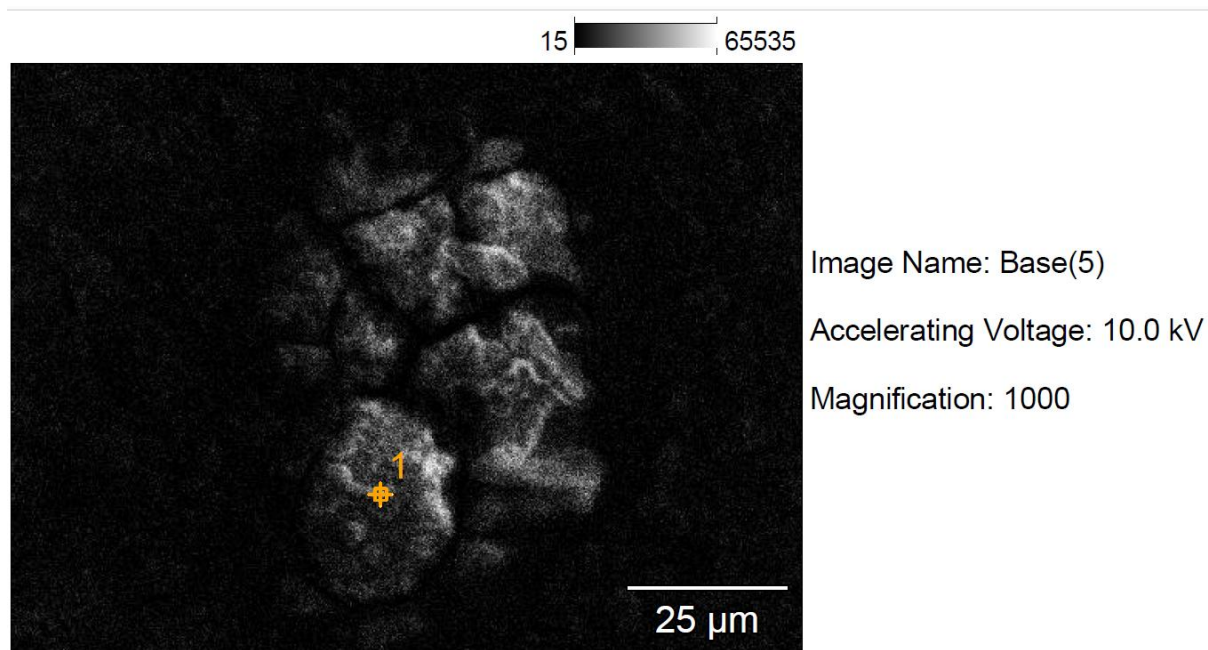
Figura 46 – Caracterização morfológica de impressão latente por MEV no período de 68 a 82 dias – Voluntário 3



Legenda: As colunas da esquerda para a direita representam as magnificações aplicadas.
 Fonte: A autora, 2023.

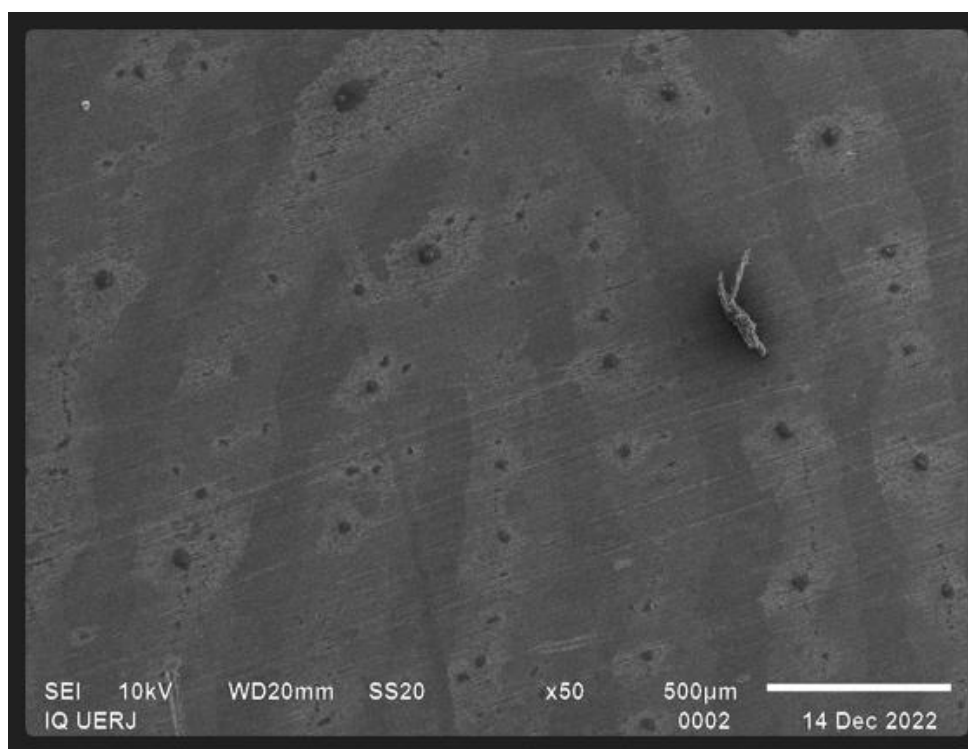
A morfologia das impressões digitais em algumas micrografias foi estudada mais profundamente com o uso pontual da técnica EDS, ou seja, regiões ou estrutura específicos foram selecionados no *software* para a determinação da composição elementar naquele ponto, gerando as figuras 36 a 39, as quais serão discutidas na seção 5 deste trabalho.

Figura 47 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 82 dias



Legenda: O espectro EDS indica a composição química da estrutura marcada pelo ponto 1.
Fonte: A autora, 2023.

Figura 48 – Micrografia de impressão digital de 75 dias – voluntário 3



Legenda: Estrutura morfológica (em azul, colorida artificialmente) distinta. Magnificação 50x.
Fonte: A autora, 2023.

Figura 49 – Caracterização química pontual através da técnica MEV-EDS de estrutura distinta em impressão digital aposta há 75 dias (continua)

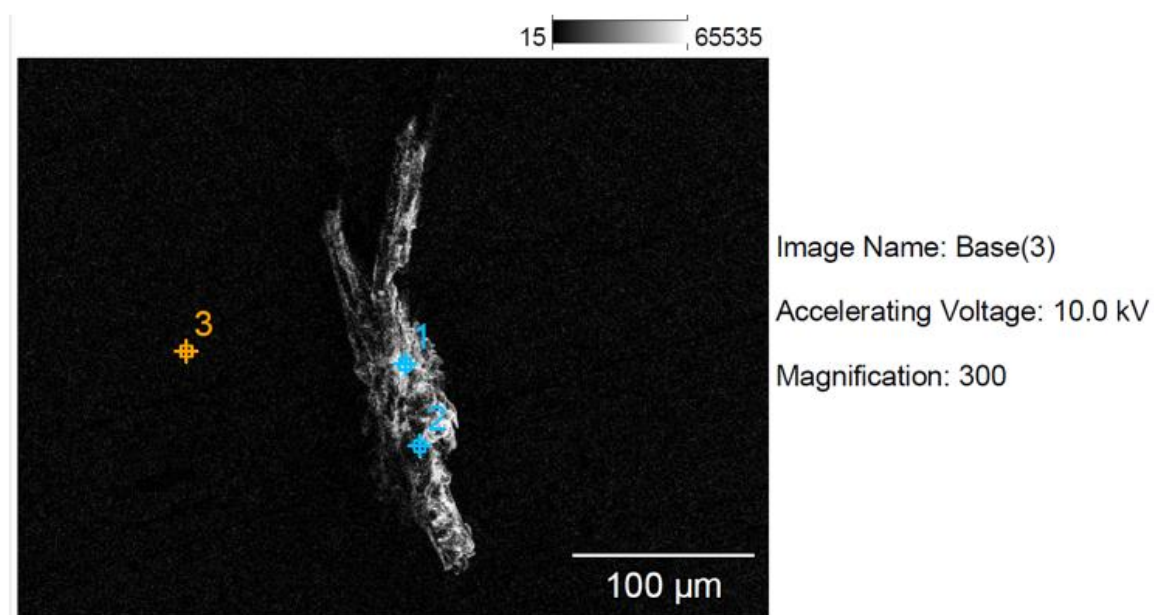
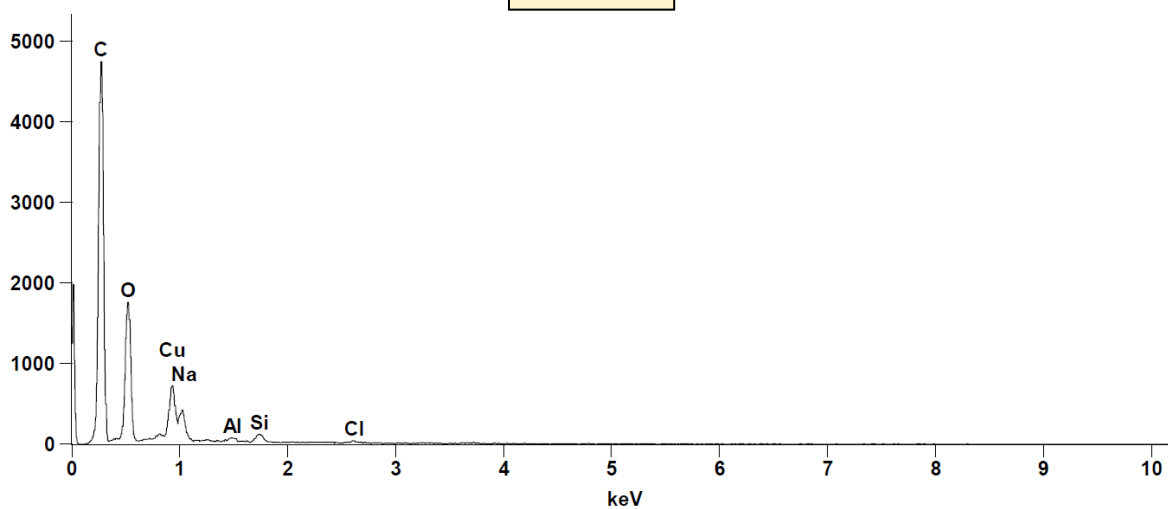


Figura 50 – Caracterização química pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital apostada há 75 dias (continua)

Full scale counts: 4738

Ponto 1



Full scale counts: 3035

Ponto 2

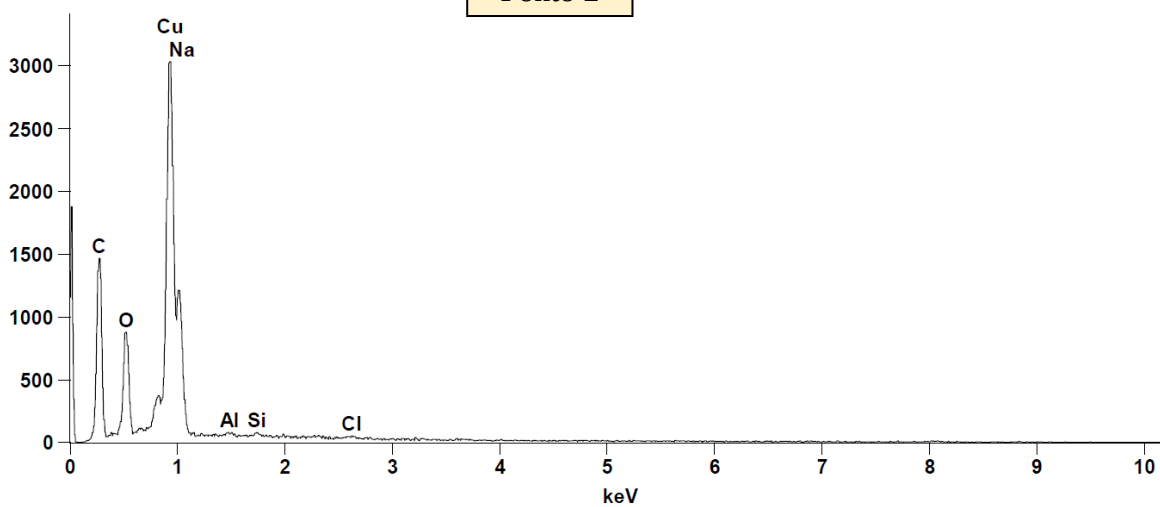
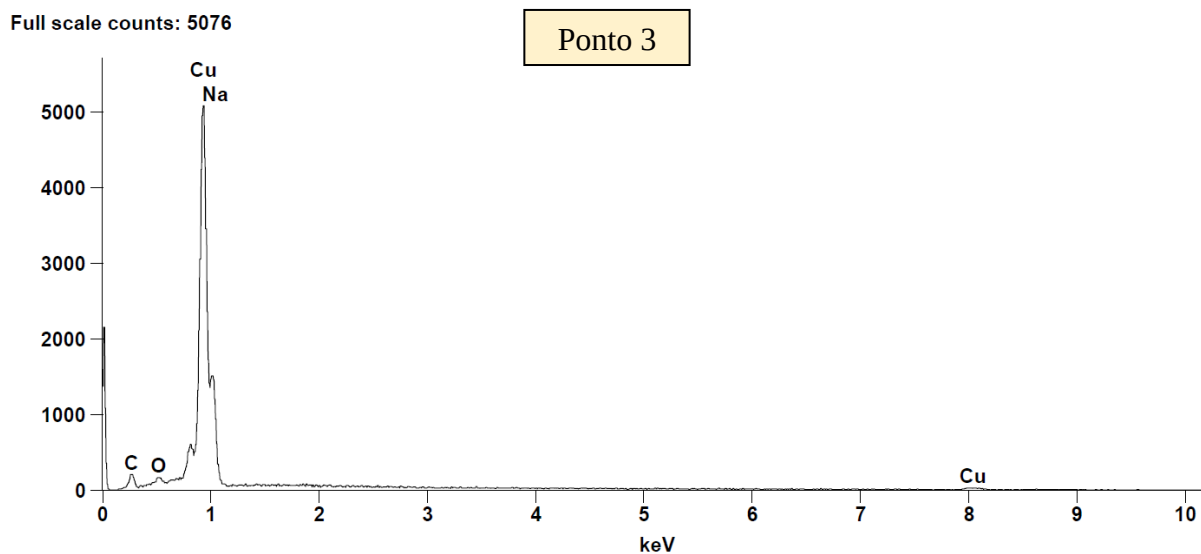


Figura 50 – Caracterização química pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 75 dias (conclusão)



Legenda: Os espectros EDS indicam a composição química dos três pontos analisados da estrutura morfológica vista na micrografia da Figura 37.

Fonte: A autora, 2023.

Figura 51 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 3(continua)

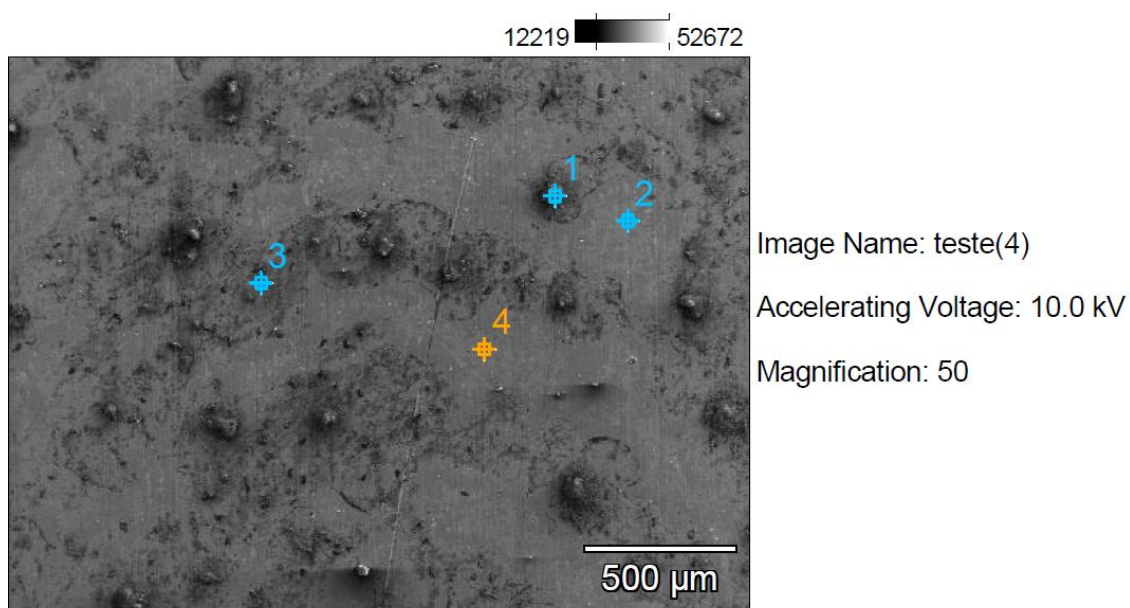
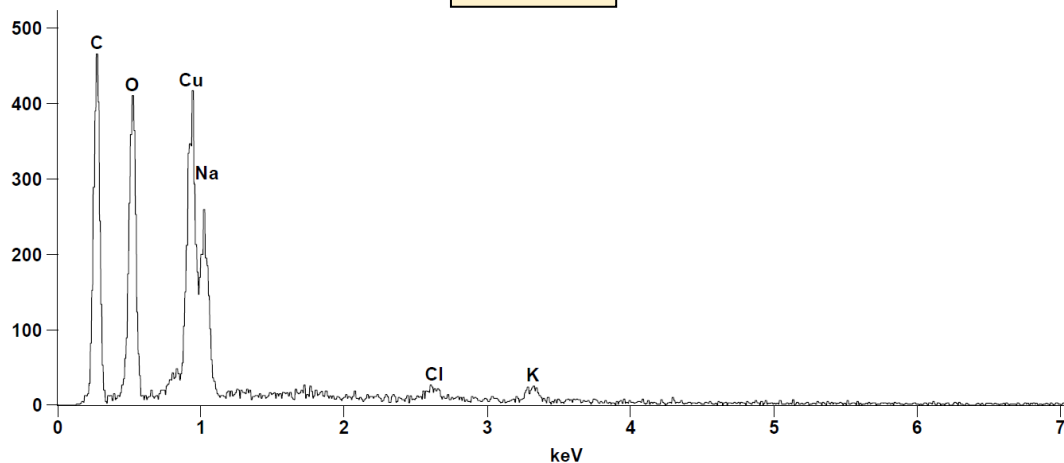


Figura 51 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 3 (continua)

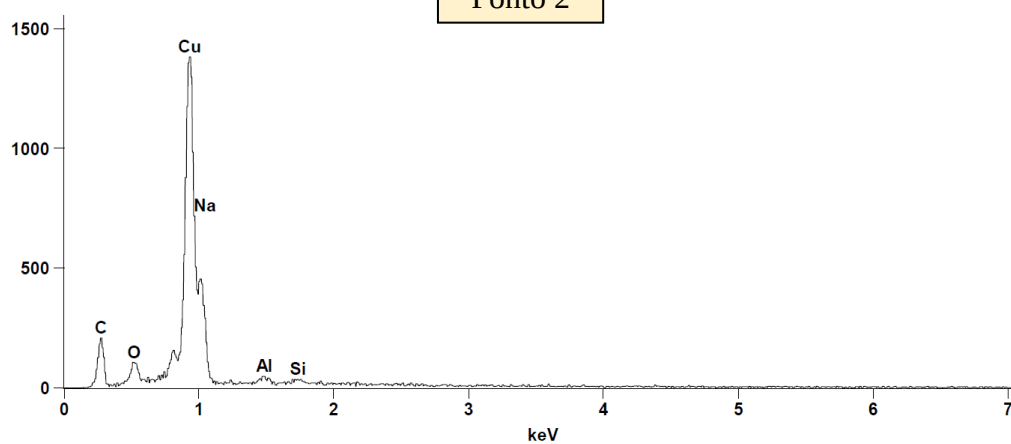
Full scale counts: 466

Ponto 1



Full scale counts: 1381

Ponto 2



Full scale counts: 1244

Ponto 3

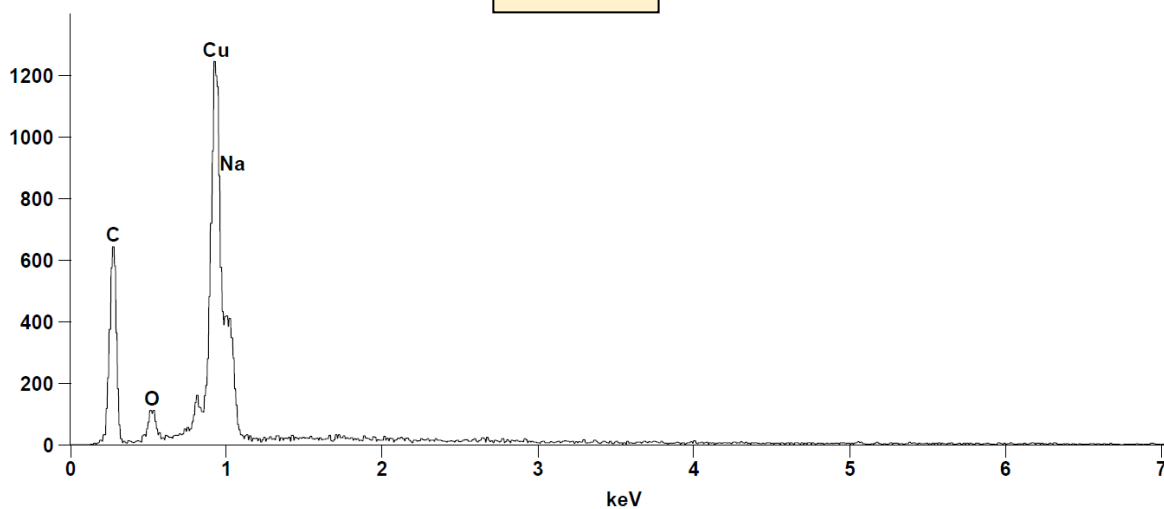
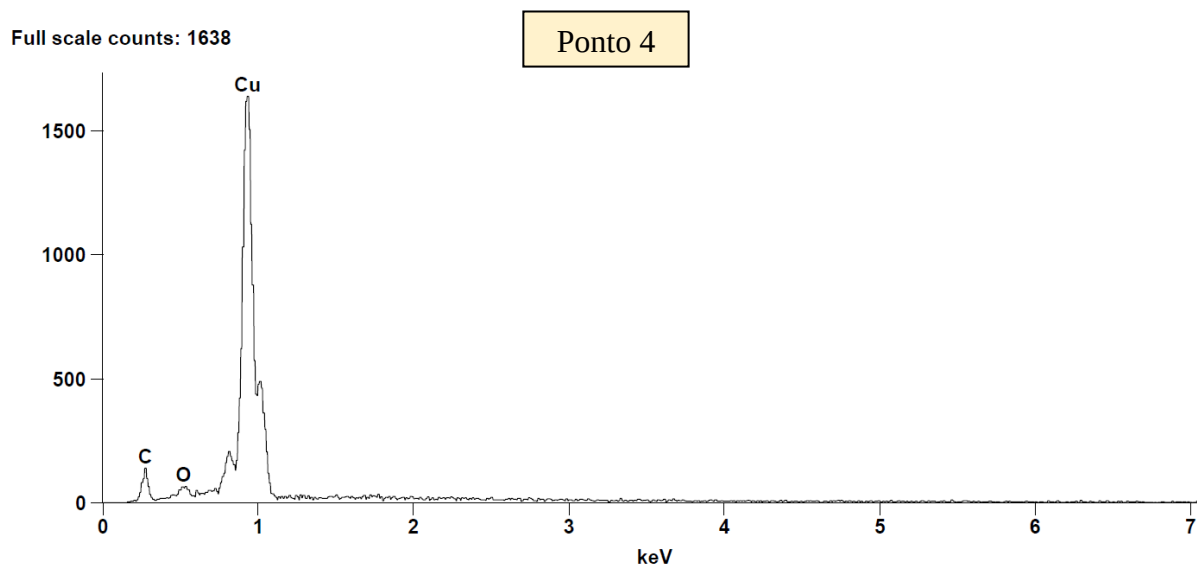


Figura 51 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 3 (conclusão)



Legenda: Os espectros EDS indicam a composição química dos quatro pontos analisados.
Fonte: A autora, 2023.

Figura 52 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 2 (continua)

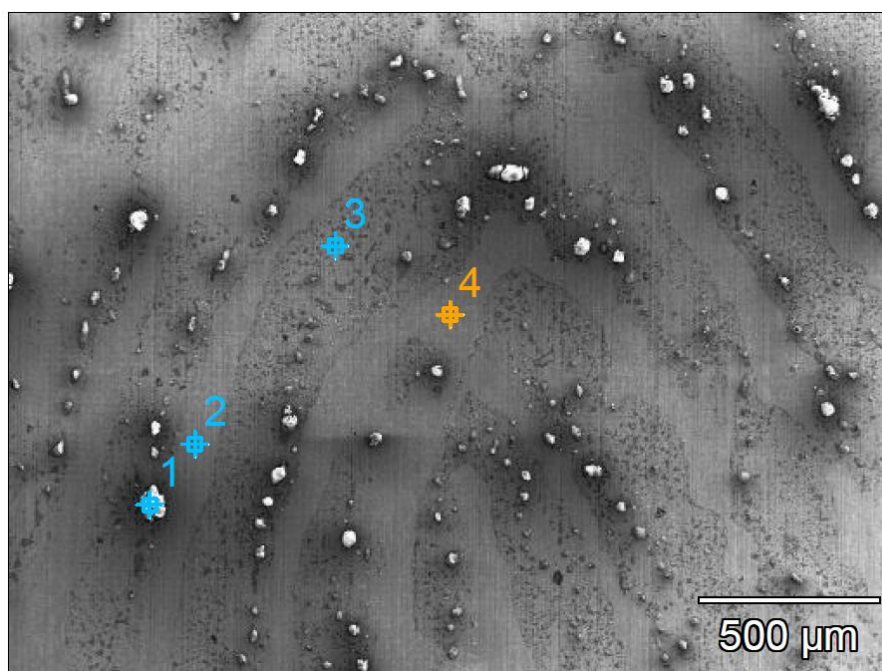


Figura 52 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 2 (continua)

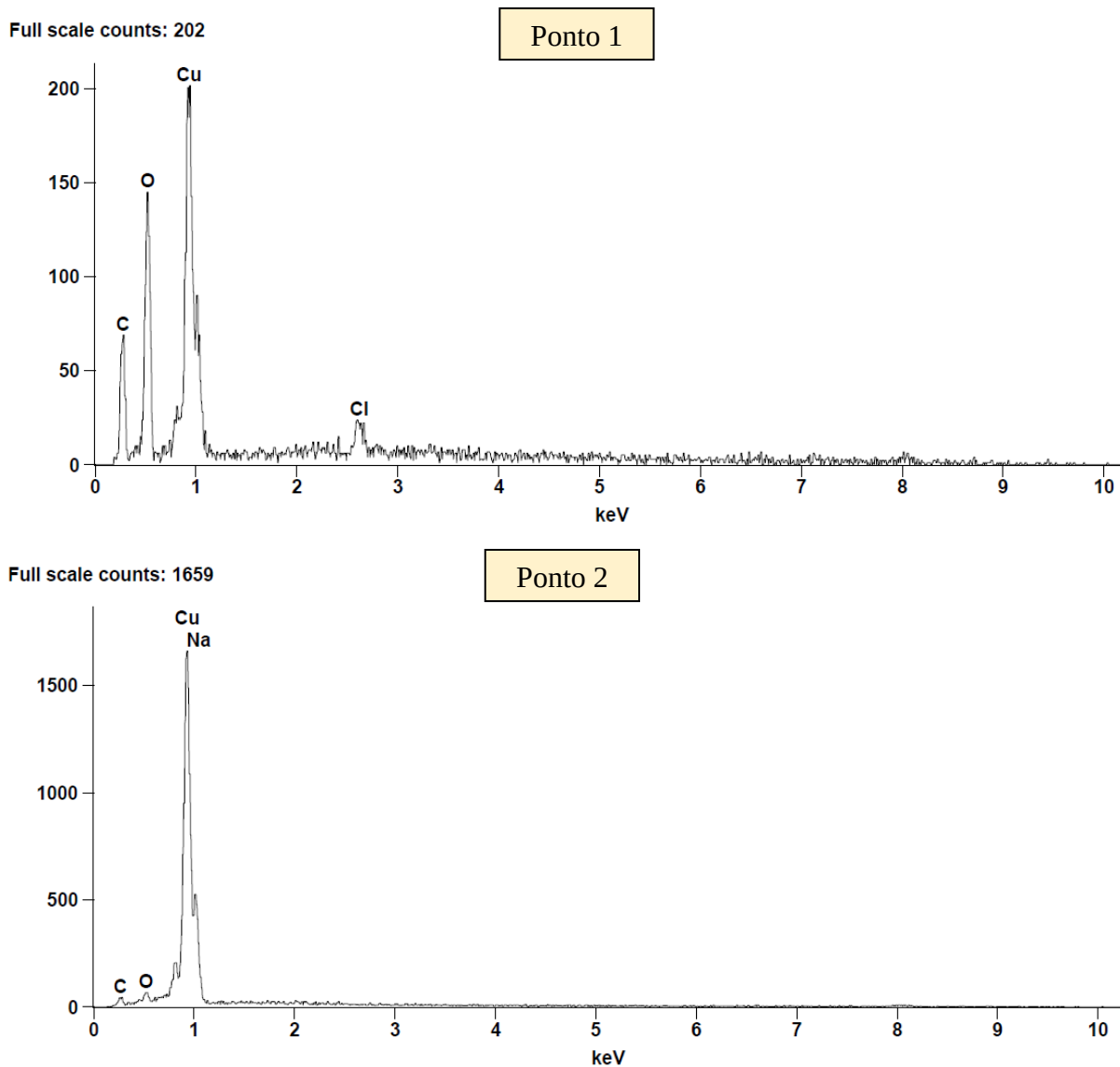
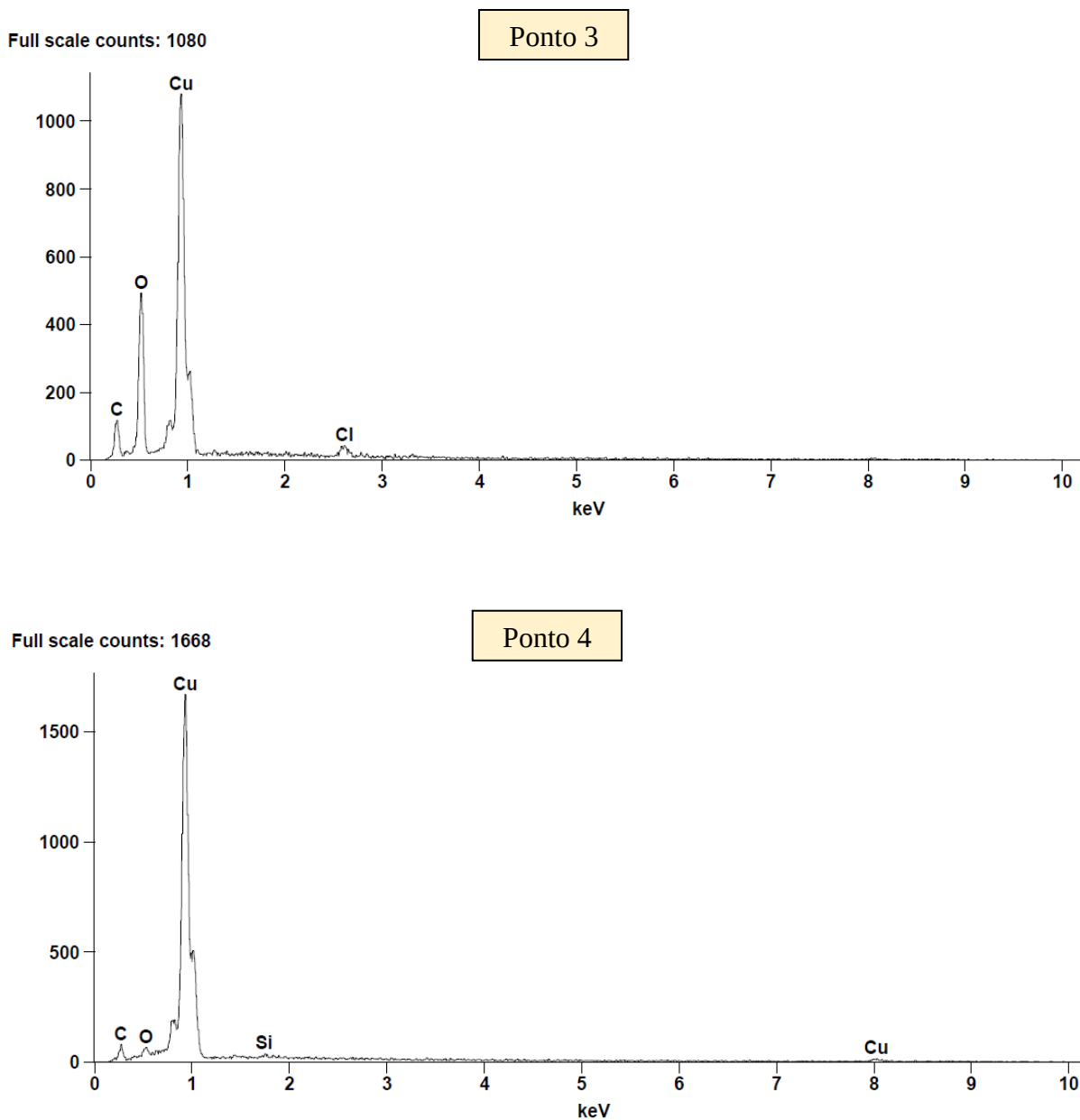


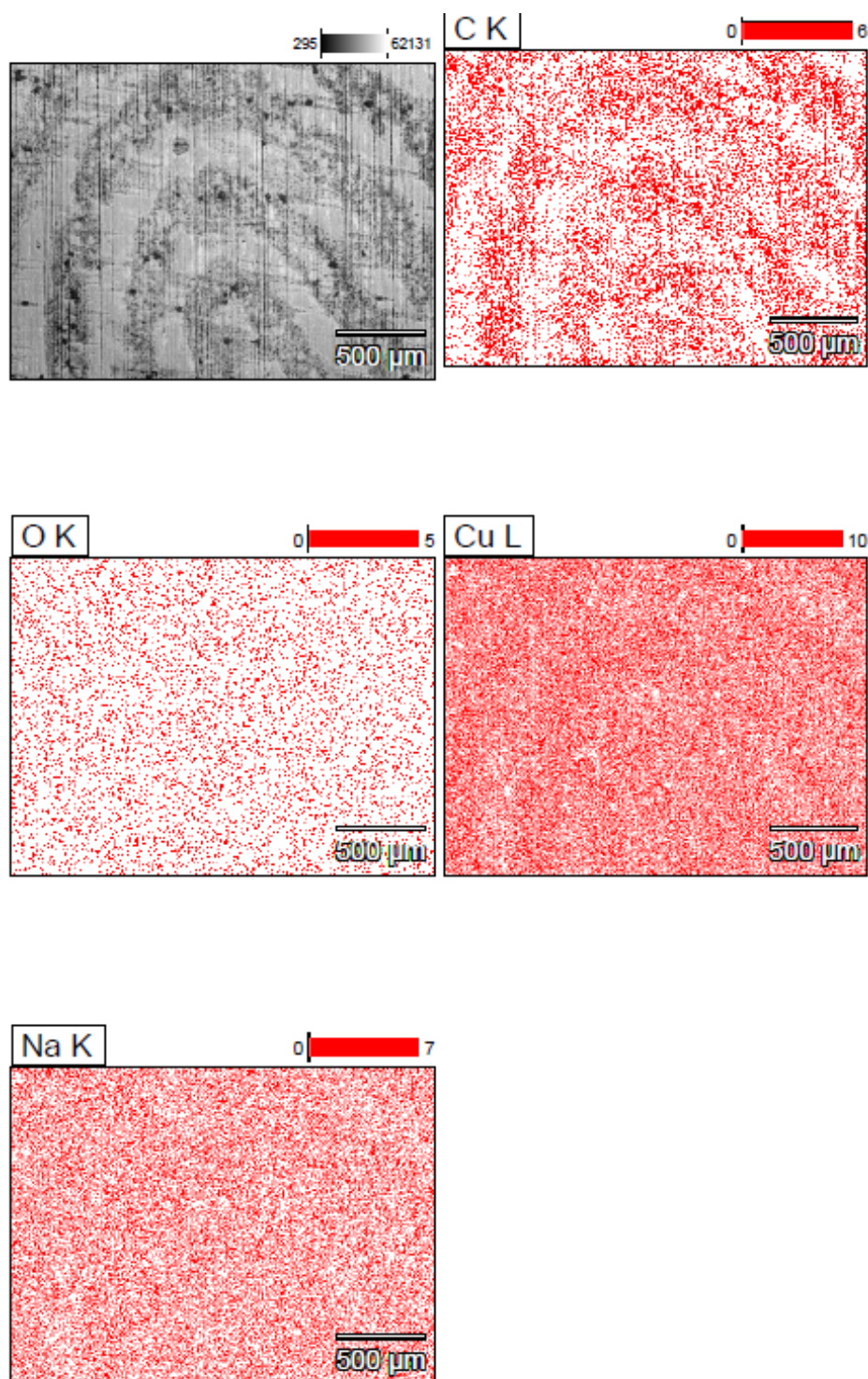
Figura 52 – Caracterização morfológica pontual através da técnica MEV-EDS em impressão digital aposta há 28 dias – voluntário 2 (conclusão)



Legenda: Os espectros EDS indicam a composição química dos quatro pontos analisados.

Fonte: A autora, 2023.

Figura 53 – Exemplo de mapa da composição química elemental gerado por MEV-EDS



Legenda: Mapa do imageamento químico gerado pelo detector EDS, indicando a presença dos elementos químicos carbono, oxigênio, cobre e sódio para a impressão digital do voluntário 1.

Fonte: A autora, 2023.

6.3 Análises químicas elementares por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X

As análises semiquantitativas de espectroscopia por energia dispersiva (EDS) foram realizadas apenas para as impressões digitais no intervalo de 0 a 28 dias em função da disponibilidade do *software* utilizado no equipamento de MEV-EDS empregado. As análises foram realizadas em triplicata para cada voluntário. As quantidades relativas de cada elemento químico detectado são representadas em porcentagem. A tabela representa as médias destas triplicatas, compiladas por voluntários e por elementos químicos detectados (Tabela 8).

Tabela 10 – Análise semiquantitativa por MEV-EDS de impressões digitais nos intervalos de 0 a 28 dias

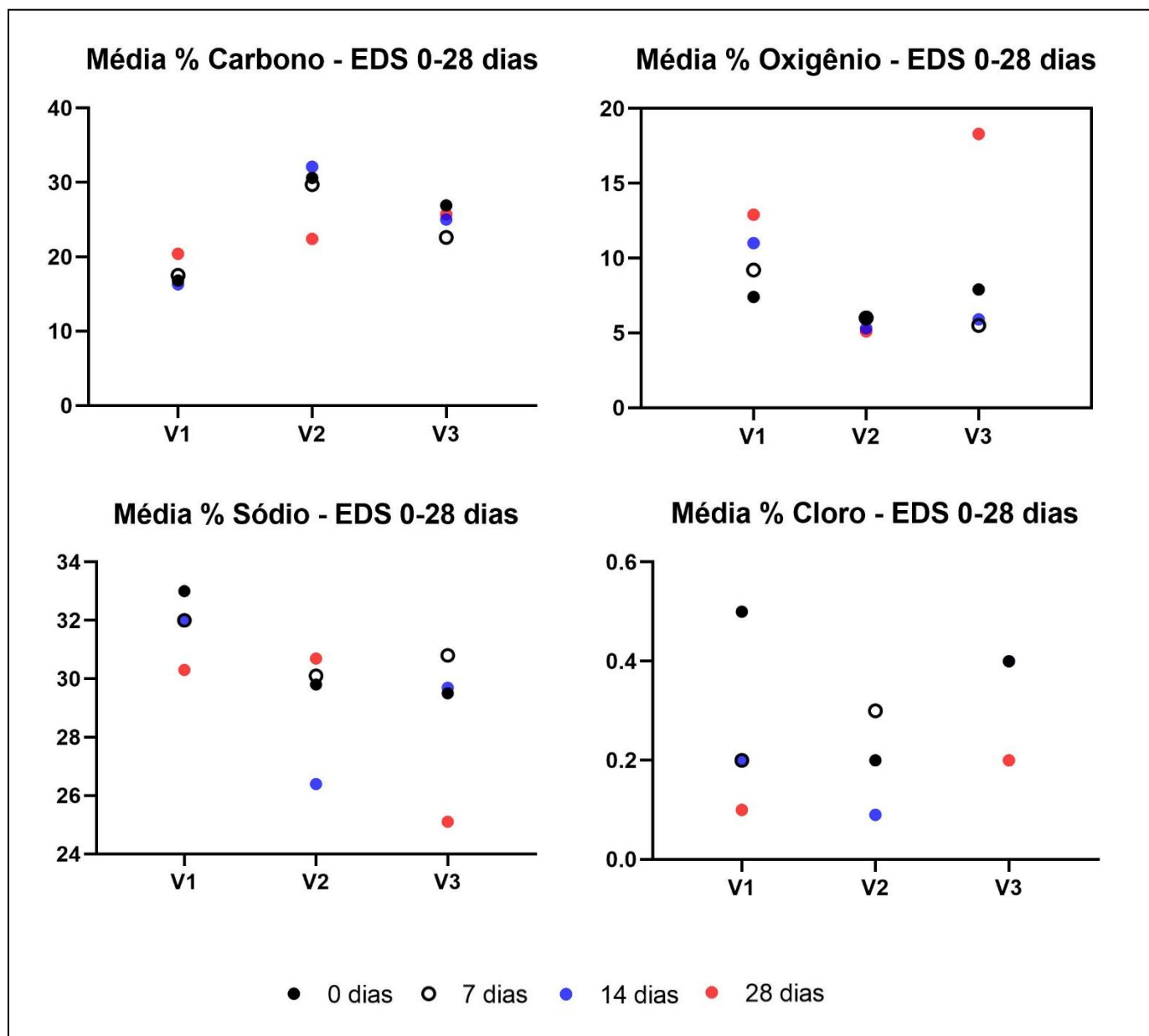
	0 dias	7 dias	14 dias	28 dias
Voluntários	C (%)			
V1	16,8	17,5	16,3	20,4
V2	30,6	29,7	32,1	22,4
V3	26,9	22,6	25	25,7
	O (%)			
V1	7,4	9,2	11	12,9
V2	5,9	6	5,3	5,1
V3	7,9	5,5	5,9	18,3
	Na (%)			
V1	33	32	32	30,3
V2	29,8	30,1	26,4	30,7
V3	29,5	30,8	29,7	25,1
	Cl (%)			
V1	0,5	0,2	0,2	0,1
V2	0,2	0,3	0,09	*
V3	0,4	*	0,4	0,2

Legenda: A tabela indica os elementos químicos detectados C (carbono), O (oxigênio), Na (sódio) e Cl (Cloro), e as porcentagens representam a média das triplicatas analisadas para cada voluntário.

Fonte: A autora, 2023.

Os resultados da tabela 8 foram representados graficamente a seguir (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Representação gráfica das quantidades relativas de elementos químicos detectados nas impressões digitais no intervalo de 0 a 28 dias por voluntário



Fonte: A autora, 2023.

Para avaliar estatisticamente os dados gerados, foi aplicado o teste Two-Way ANOVA (Tabela 9) que avalia a influência de duas variáveis (voluntário e intervalos de tempo) sobre um componente principal (elementos químicos individualmente). Também foi aplicado o pós-teste de comparações múltiplas de Turkey para cada elemento químico detectado, visando detectar quaisquer diferenças no conjunto total de amostras (todos os voluntários em todos os tempos).

Tabela 11 – Análise estatística dos dados gerados por MEV-EDS (Two-Way ANOVA)

Elemento químico	Voluntário (%)	p	Intervalo de tempo (%)	p
Carbono	76,6	< 0,05	2,3	>0,05
Oxigênio	24,4	>0,05	32,2	>0,05
Sódio	38,7	>0,05	19,4	>0,05
Cloro	31,1	>0,05	5,06	>0,05

Legenda: As porcentagens indicam o grau de influência da variável em questão sobre o elemento químico detectado.

Fonte: A autora, 2023.

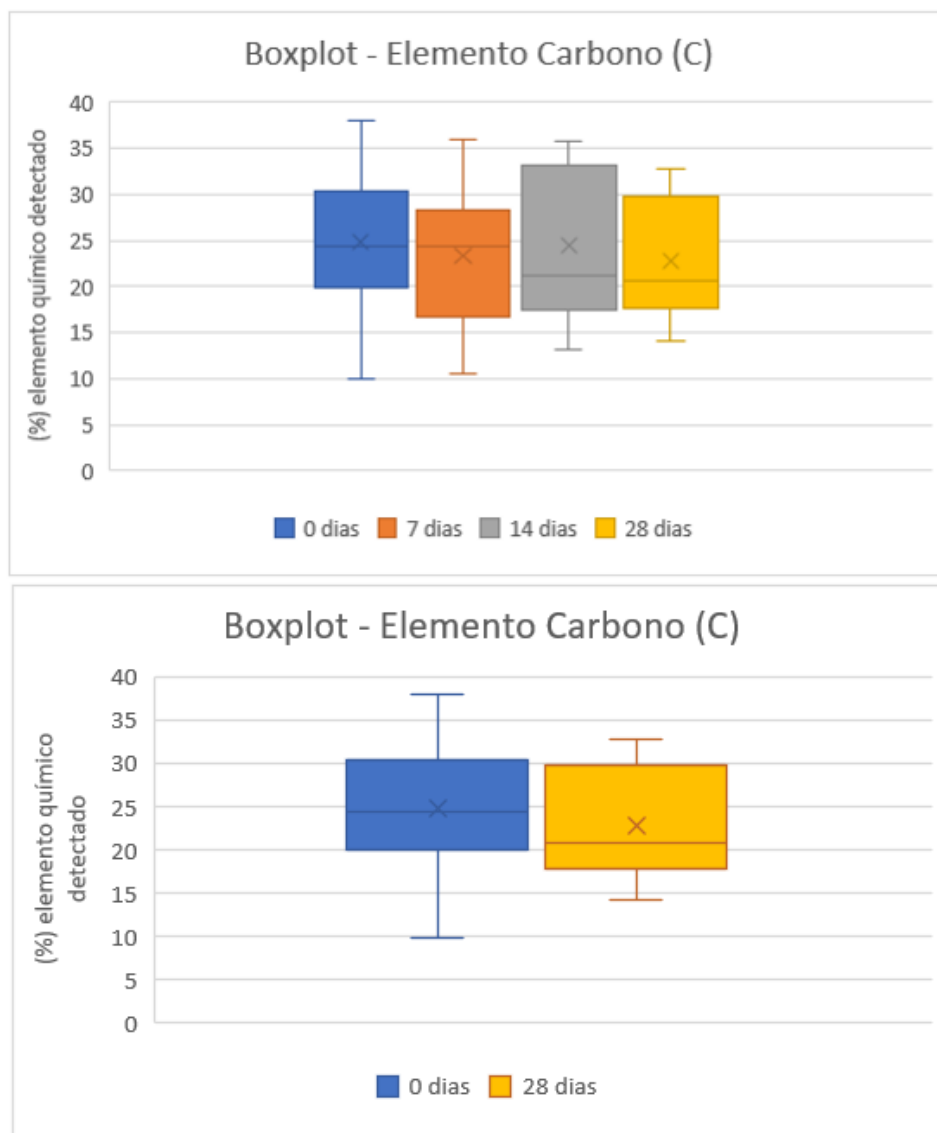
Tabela 12 – Detecção da quantidade relativa (%) de cloro em impressões digitais de 0 a 28 dias

Voluntário 1	Cl (%)	1ª coleta	0,5	0,2	0,2	0,1
		2ª coleta	*	*	*	*
		3ª coleta	*	*	*	*
Voluntário 2	Cl (%)	1ª coleta	0,2	0,3	0,09	*
		2ª coleta	*	*	*	*
		3ª coleta	*	*	*	*
Voluntário 3	Cl (%)	1ª coleta	0,8	*	0,4	0,3
		2ª coleta	0,2	*	*	0,2
		3ª coleta	0,3	*	*	0,1

Fonte: A autora, 2023.

Com o objetivo de avaliar a distribuição dos elementos químicos ao longo do tempo, obtendo uma perspectiva clara sobre o caráter dos dados, foram construídos gráficos do tipo diagrama de caixa (*boxplot*) considerando todos os intervalos de tempo estudados (0, 7, 14 e 28 dias) e apenas os intervalos extremos (0 e 28 dias), os quais demonstraram uma tendência a diferenciação nas quantidades relativas dos elementos químicos detectados (gráficos 2 a 5).

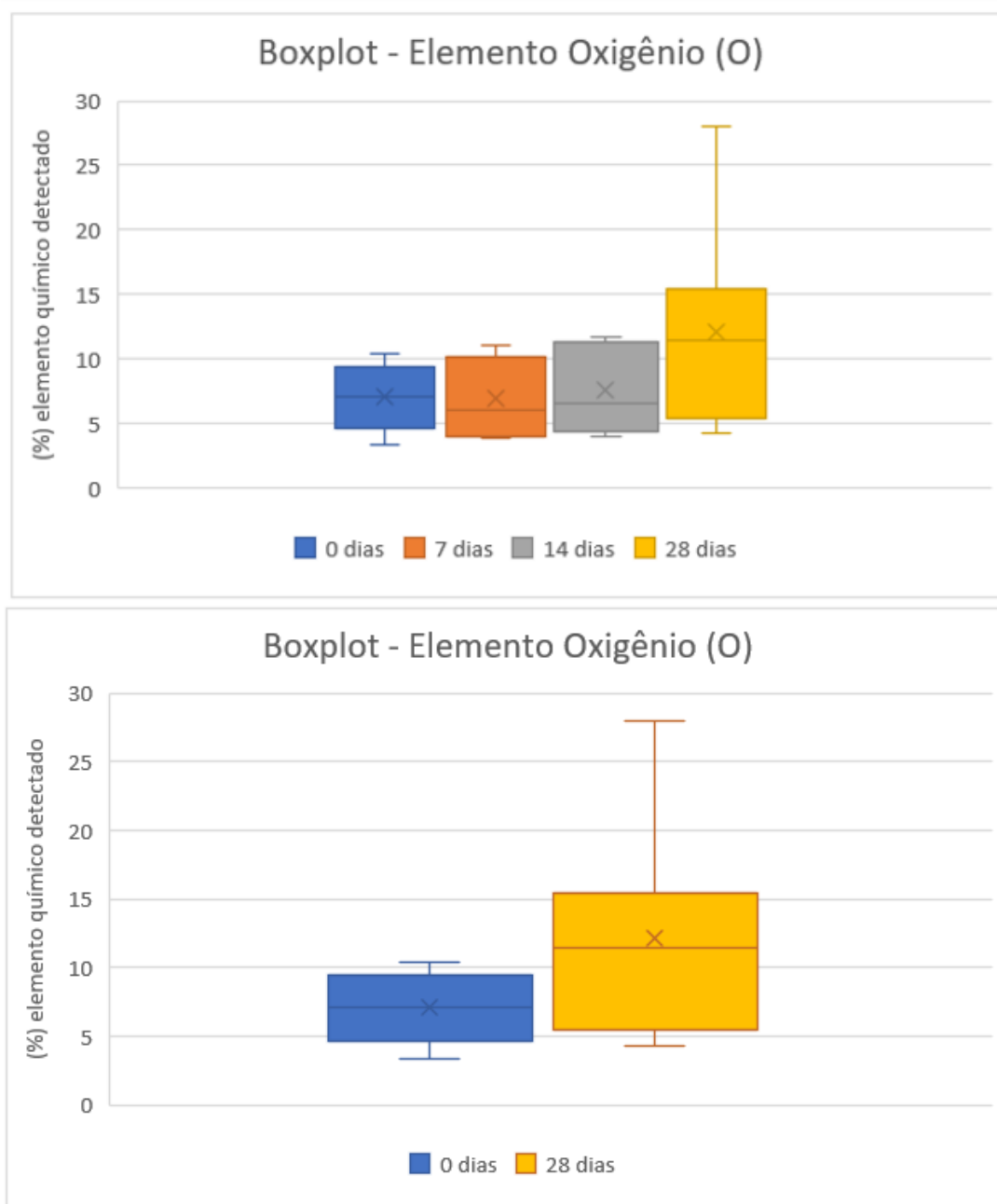
Gráfico 2 – *Boxplot* comparativo do elemento carbono detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes



Legenda: Distribuição das amostras avaliadas com a representação da amplitude de variação (tamanho das caixas de diagrama), valores máximo e mínimo (barras) e mediana (linha horizontal).

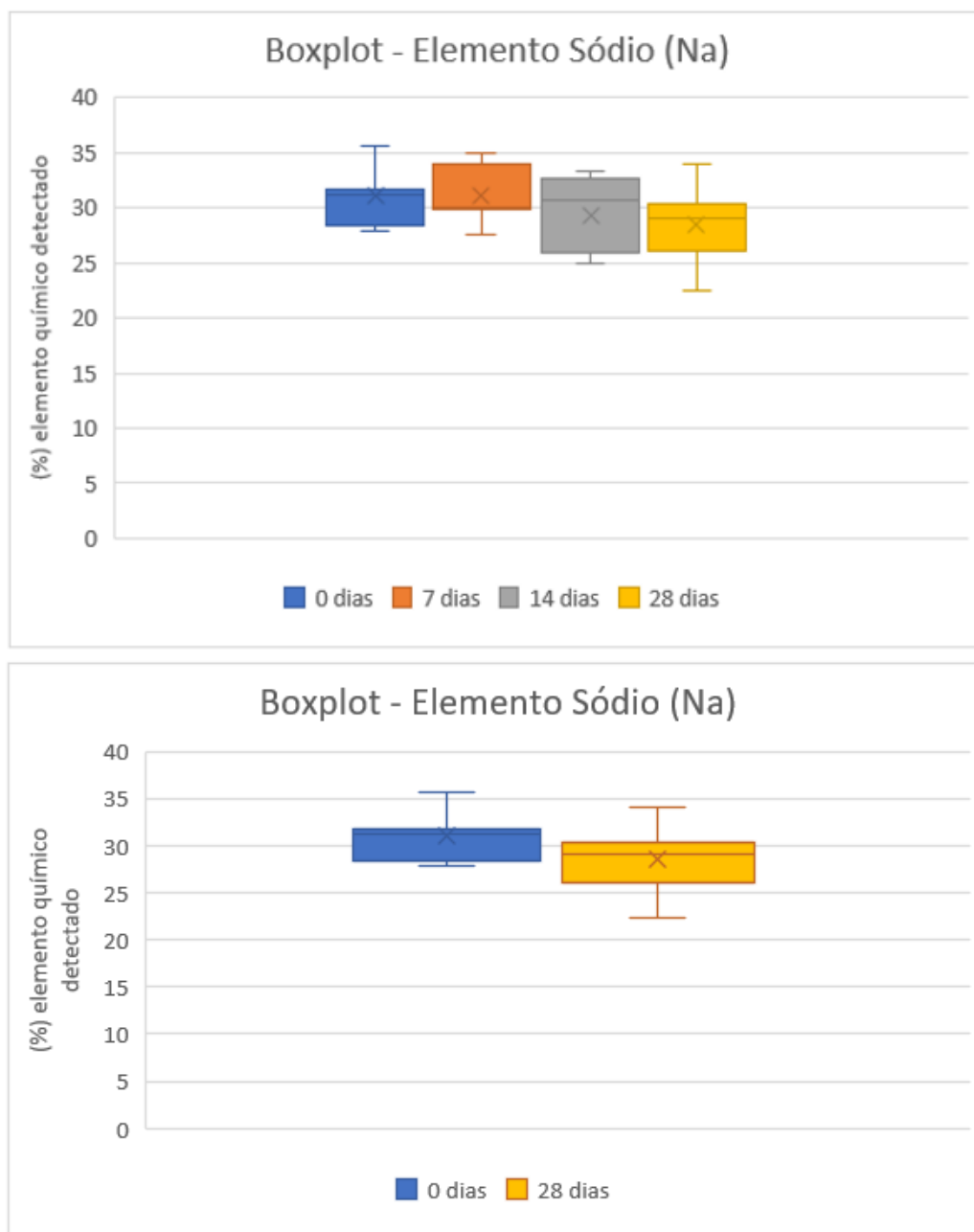
Fonte: A autora, 2023.

Gráfico 3 – *Boxplot* comparativo do elemento oxigênio detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes



Legenda: Distribuição das amostras avaliadas com a representação da amplitude de variação (tamanho das caixas de diagrama), valores máximo e mínimo (barras) e mediana (linha horizontal).
 Fonte: A autora, 2023.

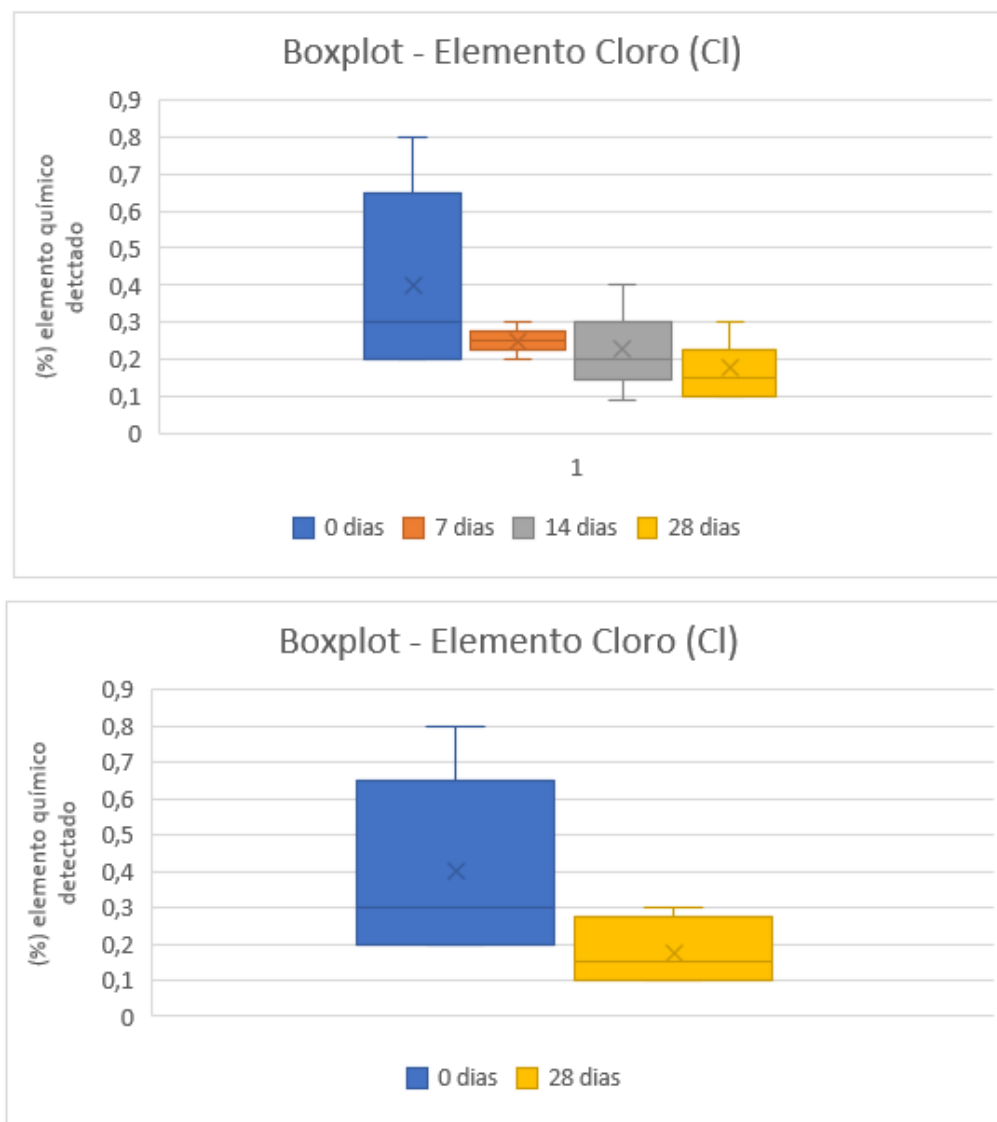
Gráfico 4 – *Boxplot* comparativo do elemento sódio detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes



Legenda: Distribuição das amostras avaliadas com a representação da amplitude de variação (tamanho das caixas de diagrama), valores máximo e mínimo (barras) e mediana (linha horizontal).

Fonte: A autora, 2023.

Gráfico 5 – *Boxplot* comparativo do elemento cloro detectado com a técnica EDS a partir de impressões digitais latentes



Legenda: Distribuição das amostras avaliadas com a representação da amplitude de variação (tamanho das caixas de diagrama), valores máximo e mínimo (barras) e mediana (linha horizontal).

Fonte: A autora, 2023.

6.4 Padronização de metodologia de coleta de DNA da superfície dos estojos

A concentração média de DNA obtida a partir de cada metodologia testada é representada na tabela a seguir.

Tabela 13 – Resultados da quantificação absoluta por qPCR – Padronização de metodologia de coleta de DNA

Amostra	Concentração média de DNA pg/µl	Amostra	Concentração média de DNA pg/µl	Amostra	Concentração média de DNA pg/µl
FTA 1	2,6	S1	0,9	SUB1	*
FTA 2	1,8	S2	9,9	SUB2	
FTA 3	2,2	S3	1,8	SUB3	
FTA 4	4	S4	2,5	SUB4	
FTA 5	2,7	S5	4,0	SUB5	
FTA 6	2,7	S6	1,9	SUB6	
média	2,6	média	3,5	média	

Legenda: papel de filtro (FTA); suabe de algodão (S); estojo submerso de acordo com o protocolo de O'Donnel (2015); *amplificação não detectada.

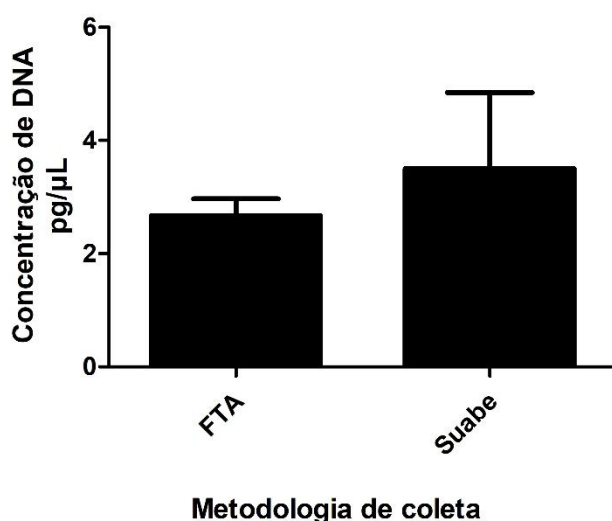
O teste de normalidade Shapiro-Wilk foi inicialmente aplicado aos dados da quantificação, e os indicadores de simetria amostral (*skewness*) e de distribuição gaussiana (*kurtosis*) indicaram que os resultados não assumem uma distribuição gaussiana (Tabela 14). Dados com distribuição simétrica e distribuição gaussiana apresentam os respectivos indicadores iguais a zero (*skewness* = 0; *kurtosis* = 0). Em seguida, procedeu-se com a aplicação de teste adequado aos tipos de dados (não paramétricos e independentes), em um comparativo para apenas dois grupos, visto que a partir da terceira metodologia de coleta testada não foram obtidos resultados de quantificação. O teste estatístico teste U de Mann Whitney apresentou um valor de $p = 0,6$, ou seja, não foi detectada diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) (Gráfico 6).

Tabela 14 – Resultados do teste de normalidade Shapiro-Wilk para a padronização de metodologia de coleta de DNA em estojos deflagrados

Teste de Normalidade	Shapiro-Wilk	
Metodologia de coleta	FTA	Suabe
<i>Skewness</i> – simetria amostral	1,188	1,961
<i>Kurtosis</i> – distribuição gaussiana?	2,458 Não gaussiana	4,028 Não gaussiana
Desvio padrão	0,7421	3,299

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 6 – Comparativo das metodologias de coleta de DNA



Legenda: As barras cheias indicam as médias de DNA obtido de cada metodologia de coleta testada em picogramas por microlitro; papel FTA e Suabe de algodão.

Fonte: A autora, 2021.

A análise dos resultados a partir do canal *Crimson* (controle interno de reação) detectou amplificação para todas as amostras de FTA e de Suabe. A análise a partir do canal *Red* (degradação do DNA genômico) detectou amplificação para todas as amostras de FTA e de Suabe, muito embora em quantidades muito pequenas: médias de 1 pg/μl e 2 pg/μl respectivamente. Em ambos os canais não foi detectada amplificação para as amostras de estojos submersos, indicando a existência de inibidores nestas amostras.

6.5 Quantificação absoluta por PCR em tempo real – Estojos deflagrados

Os resultados obtidos nos três intervalos de tempo (3, 8 e 30 dias) para as quantidades de DNA genômico estão representados a seguir (Tabela 15).

Tabela 15 – Resultados da quantificação de DNA genômico total por PCR em tempo real dos estojos de munição deflagrados de calibre 9mm

Intervalos de tempo	3 dias	8 dias	30 dias
Média (pg/μl)	0,3	0,3	0,3
Desvio padrão ^{*1}	0,3	0,2	0,4
Erro padrão	0,1	0,09	0,1

Legenda: Médias de DNA genômico total obtido dos estojos deflagrados depois de 3 dias, 8 dias e 30 dias após a realização dos tiros.

Nota: ^{*1} O desvio padrão quantifica a variabilidade ou dispersão das amostras. ^{*2} O erro padrão da média quantifica a precisão da média. É uma medida de quão longe a média da sua amostra provavelmente estará da verdadeira média da população. As medidas de desvio padrão e erro padrão são nas mesmas unidades das amostras (pg/ μl).

Fonte: A autora, 2021.

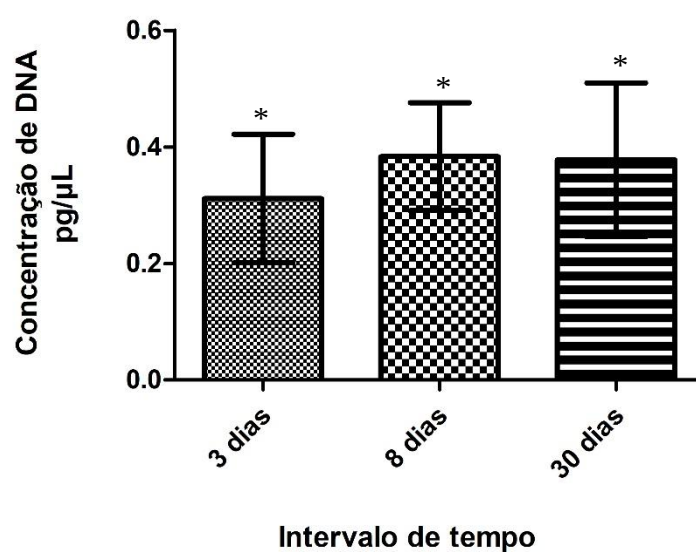
O teste de normalidade D'Agostino & Pearson foi inicialmente aplicado a estes dados da quantificação de DNA genômico, e os indicadores de simetria amostral (*skewness*) e de distribuição gaussiana (*kurtosis*) indicaram que os resultados não assumem uma distribuição gaussiana. Em seguida, procedeu-se com a aplicação de teste adequado aos tipos de dados (não paramétricos e independentes), em um comparativo para os quatro grupos. O teste estatístico de Kruskal-Wallis apresentou um valor de $p = 0,6$, ou seja, não foi detectada diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) (Gráfico 7). O teste post hoc de Dunn foi aplicado identificando não existir diferença significativa entre os intervalos de tempo (Tabela 16) não sendo possível estatisticamente determinar uma correlação entre a influência do fator temporal (intervalos de tempo) e a quantidade de DNA obtido nestes diferentes períodos.

Tabela 16 – Dados resultantes do teste estatístico Kruskal-Wallis e teste post hoc de Dunn quando aplicados aos resultados da quantificação de DNA genômico nos estojos deflagrados

Teste estatístico	Kruskal-Wallis
Valor de p	>0,05
Teste post hoc:	Comparação múltipla de Dunn
3 dias vs 8 dias	Não significativo
3 dias vs 30 dias	Não significativo
8 dias vs 30 dias	Não significativo

Fonte: A autora, 2021.

Gráfico 7 – Resultado da quantificação de DNA genômico por PCR em tempo real de amostras de estojos de munição deflagrados

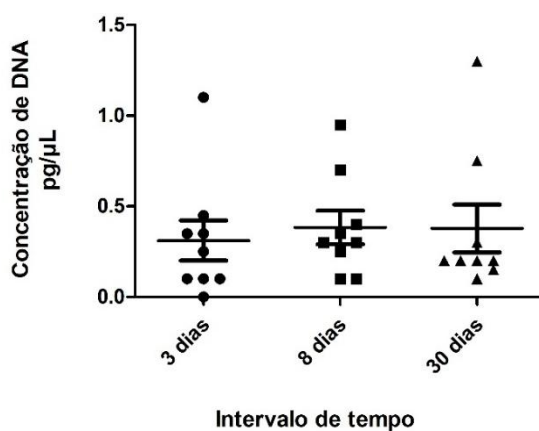


Legenda: As barras indicam as médias de DNA obtido após o tiro em diferentes intervalos de tempo. *As barras indicam o erro padrão da média.

Fonte: A autora, 2021.

O gráfico 8 indica a quantidade de DNA obtido considerando cada voluntário em cada tiro realizado. Cada símbolo em cada intervalo de tempo representa uma amostra obtida de um estojo deflagrado. É possível notar acentuada variabilidade na quantidade de DNA transferido bem como a pouca quantidade deste presente na superfície do estojo.

Gráfico 8 – Quantificação de DNA genômico em superfície de estojo de munição deflagrado considerando cada voluntário



Fonte: A autora, 2021.

A análise dos resultados a partir do canal *Crimson* (controle interno de reação) detectou amplificação para todas as amostras nos três intervalos de tempo estudados. A análise a partir do canal *Red* que detecta a degradação do DNA genômico, indicou que 85 % das amostras não foram amplificadas e as amplificações observadas (14,8 %) foram em quantidades acentuadamente baixas, variando de 0,1 pg/μl a 1,3 pg/μl.

6.6 Análise de regiões STR

Considerando as amostras avaliadas dentro dos intervalos de tempo propostos, foram obtidos dois perfis genéticos parciais de dois voluntários distintos no intervalo de 8 dias, o que representa uma taxa de sucesso de 22 % (Tabela 17). A taxa de sucesso global foi de 7%.

Tabela 17 – Resultados da análise de regiões STR

Amostra	Número de alelos obtidos	Número total de alelos possíveis* ¹
V1 – 8 dias	47	54
V2 – 8 dias	31	54

Nota: *¹– O kit utilizado PowerPlex® Fusion 6C (Promega Corporation) possui 27 loci para a composição do perfil genético. Se completo, até 54 alelos podem ser obtidos para indivíduos heterozigotos. Valores inferiores denotam perfil genético incompleto.

7 DISCUSSÃO

7.1 Análises morfológicas e químicas

7.1.1 Considerações acerca da variação das espessuras das cristas ao longo do tempo

A aferição da espessura das cristas em diferentes regiões de minúcias evidencia que não há uniformidade de espessura ao longo das impressões digitais, mesmo sem os efeitos da passagem do tempo, como pode ser observado nas medidas das minúcias logo após a deposição (tempo 0, tabelas 5 a 7). Esse fato também aponta para a necessidade de uma padronização de metodologia para o emprego da análise morfométrica visto que, é provável que se diferentes avaliadores aferirem as mesmas impressões, possam chegar a medidas diferentes ao eleger áreas distintas para a aferição. Além disso, como as cristas não são regulares ao longo de sua estrutura, ao utilizar uma ferramenta de medição dos *softwares* como GIMP® ou Photoshop®, podem haver pequenas diferenças nos valores aferidos a depender do local a partir do qual o perito fez a aferição. Neste estudo, foi proposto o uso da ferramenta de medição do *software* GIMP tendo como base a padronização da aferição a partir da seleção de minúcias específicas para cada digital avaliada e a determinação de um ângulo de aferição que é gerado pela própria ferramenta. Futuramente, a padronização proposta poderá ter sua eficácia avaliada a partir de um estudo de validação com a aplicação por examinadores independentes. É esperado que o desvio padrão das aferições realizadas por cada examinador seja pequeno, indicando pouca ou nenhuma variação nas medidas obtidas.

Avaliando o comportamento das cristas estudadas para o voluntário 1, no intervalo de tempo de 0 a 28 dias, é possível verificar que em um primeiro momento, entre 0 e 7 dias, há uma diminuição da espessura das cristas para todos os pontos e, nos intervalos seguintes as cristas demonstram uma tendência ao aumento de sua espessura. No entanto, ao se observar as cristas mais envelhecidas, a partir de 68 dias, não se nota esse comportamento de diminuição e aumento, apenas uma tendência ao aumento das espessuras até 82 dias.

Para o voluntário 2, as aferições indicam uma tendência à diminuição da espessura das cristas a partir do tempo 0 até o tempo 14 dias. Após esse período, em 28 dias, as espessuras tendem a aumentar, à exceção de um dos pontos aferidos que não apresentou nem aumento e

nem diminuição no tempo 28 dias. As impressões digitais mais envelhecidas deste voluntário (68 a 82 dias) apresentaram o mesmo comportamento que as do voluntário 1, com uma tendência ao aumento ao longo do tempo.

Comparativamente, o voluntário 3 apresentou valores iniciais de espessura de crista maiores que os voluntários 1 e 2, no entanto o comportamento de suas cristas ao longo do tempo indicou uma tendência à diminuição na maioria dos intervalos de tempo analisados para ambos os períodos analisados (0 a 28 dias; e 68 a 82 dias). O voluntário 3 foi um voluntário do sexo masculino e os voluntários 1 e 2 eram do sexo feminino. Muito embora o espaço amostral seja reduzido, essa observação dialoga com a possibilidade de que o uso da morfometria para a determinação de idade do vestígio papiloscópico possa apresentar variações relacionadas ao sexo biológico do indivíduo, visto que algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de identificar características físicas das impressões digitais que possam diferenciar o sexo biológico dos indivíduos (Acree *et al.*, 1999; Agnihotri *et al.*, 2012; Mundorff *et al.*, 2014).

Este perfil de degradação que nos primeiros dias resulta na diminuição da espessura das cristas pode ser explicado pela evaporação inicial da água presente nos resíduos de impressão digital e componentes orgânicos mais voláteis (Bright *et al.*, 2013; Czech *et al.*, 2019). Recentemente, Boseley *et al.* (2022) verificaram que nas primeiras oito horas após a aposição ocorre uma intensa desidratação do vestígio digital, o que poderia explicar o estreitamento das cristas. Já o aumento na espessura das cristas com a evolução do tempo pode ser explicado pela degradação de lipídios, gerando um espalhamento das moléculas na largura das cristas, resultando no aumento das métricas (Barros *et al.*, 2013; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2018; De Alcaraz-Fossoul *et al.*, 2019). O aumento de espessura também poderia ser explicado pela reabsorção de água (umidade do ar) por alguns elementos higroscópicos que possam estar na impressão digital ou na própria superfície na qual essa foi depositada (Croxtan, 2008).

Um tópico interessante de discussão acerca da presença de água nos resíduos de impressão digital é abordado por Kent (2016). Muitas literaturas de referência em Ciência Papiloscópica (The Fingerprint Sourcebook, 2011; Cadd *et al.*, 2015; Daluz, 2015) dentre muitos artigos científicos que reproduzem a informação, apontam que as impressões digitais são compostas por uma secreção écrina que contém majoritariamente água, em torno de 90 a 98%. No entanto, muito embora a produção pelas glândulas écrinas possa ser de uma excreção majoritariamente composta por água e diversas moléculas solúveis em água em baixas concentrações (Hurley, 2001), pouco se é discutido sobre a real proporção desse conteúdo écrino disponível para compor um vestígio digital, considerando ainda, que esse conteúdo

sofrerá evaporação e reabsorção antes de ser transferido e que além disso, a impressão digital também é composta por secreção sebácea.

Nesse contexto, talvez seja pouco provável que um vestígio de impressão digital tenha em torno de 90 a 98% de sua composição apenas de água. Em uma revisão da literatura para determinar cálculos teóricos acerca dos constituintes da impressão digital, Kent (2016) conclui que um vestígio digital seria composto em torno de 20% de água e 80% de uma mistura de elementos orgânicos e inorgânicos (Scruton *et al.*, 1975; Croxton, 2008; Girod, Ramotowski e Weyrmann, 2012). É possível que esse entendimento sobre a proporcionalidade dos constituintes da impressão digital seja um dos motivos para explicar o grande foco da comunidade científica no estudo dos elementos lipídicos como indicadores de temporalidade do vestígio, em detrimento da análise de elementos inorgânicos.

Analizando as micrografias dos vestígios digitais do voluntário 1, essas corroboram visualmente os achados morfométricos no que diz respeito ao comportamento das cristas no tempo 0 e tempo 28 dias. Ao se observar as imagens do tempo 0, aumento 100x, é possível verificar uma delimitação clara das cristas com organização estrutural, enquanto a micrografia do tempo 28 dias no mesmo aumento exibe uma estrutura mais alargada, desorganizada, não sendo possível verificar com clareza as delimitações das margens das cristas. Alguns autores explicam que ao longo do tempo os lipídios rapidamente são degradados, resultando em um espalhamento pelas cristas, o que poderia justificar o aumento de espessura (Pleik, *et al.*, 2016). Aliado a isso, ao longo do tempo as micrografias passam a apresentar claros sinais de oxidação, resultado da interação dos componentes do vestígio papiloscópico com a superfície metálica, o que pode ser corroborado pelas análises elementares pontuais de algumas destas regiões realizadas com a técnica da EDS.

Ainda, a partir das micrografias do voluntário 1, é possível perceber que a análise visual das impressões mais envelhecidas é favorecida em comparação com as impressões entre 0 e 28 dias. Muito embora o comportamento do vestígio papiloscópico não seja o mesmo para todos os tipos de metais, a superfície estudada – latão – demonstra que uma marca digital poderia ser visualizada em uma superfície de interesse forense, e.g. estojos de munição deflagrada, mesmo que decorrido um tempo maior.

Bond e Phill (2008) demonstraram a reação de 10 metais e 10 ligas metálicas aos elementos constituintes da impressão digital, evidenciando que alguns são mais suscetíveis à degradação, e.g. a prata e o aço inoxidável foram menos reativos do que o latão (liga metálica comumente empregada no contexto forense na fabricação de estojos de munição), ou seja, nas superfícies de latão foi possível visualizar uma maior porcentagem de impressões digitais.

A reação química que ocorre entre a superfície metálica e os resíduos da impressão digital altera as características físico-químicas da superfície, e essa informação vem sendo investigada na literatura científica na temática de técnicas de revelação. Uma das abordagens estudadas foi o uso da Microscopia de Varredura com Sonda Kelvin que detecta as variações no potencial elétrico ao longo da superfície gerando uma imagem que permite a visualização da impressão digital pois há uma diferença de potencial elétrico entre as áreas que sofreram corrosão (presença do vestígio papiloscópico) e áreas adjacentes (Williams, McMurray e Worsley, 2001; Williams e McMurray, 2007).

A presença de íons com forte poder de corrosão como o cloreto (Cl^-) (Torres, 2011; Athayde, 2020) bem como a sua concentração na secreção écrina pode ter relação com a permanência e visualização do vestígio papiloscópico ao longo do tempo. No entanto, a literatura científica não reporta o uso dessa informação para fins do desenvolvimento de metodologias e/ou do próprio entendimento do processo de senescência das impressões digitais. No presente estudo, a captura de imagens de alta resolução com a microscopia eletrônica de varredura de vestígios latentes (não revelados) foi viabilizada pelo processo de interação química vestígio-superfície. A análise das micrografias ao longo do tempo permitiu a visualização do alargamento das cristas para a maioria dos voluntários e do emprego de técnicas de morfometria mais precisas.

Nessas circunstâncias, Bond e Phill (2008) verificaram que superfícies compostas por mais de 40% de cobre apresentaram os maiores índices de corrosão gerando imagens das impressões digitais que permitiram a verificação das informações morfológicas de nível 2 (minúcias) e de nível 3 (poros), as últimas as quais são raramente visualizadas com o uso das técnicas tradicionais de revelação. Logo, a MEV poderia também ser empregada em estudos futuros para a comparação do comportamento do vestígio digital em diferentes superfícies metálicas com aplicação para a prática forense, visto que há diferentes tipos de estruturas, objetos e superfícies metálicas que são periciados na rotina.

Ao analisar as micrografias e os dados morfométricos, é possível verificar que os intervalos de tempo intermediários na maioria das vezes – visualmente ou numericamente – não permitem inferir sobre o comportamento preciso do vestígio. No entanto, a observação de intervalos de tempo mais distantes entre si, viabilizam a percepção de mudança de comportamento na crista, no caso das condições testadas neste estudo, com uma tendência pelo aumento das espessuras. A hipótese de que seja possível apenas a diferenciação de impressões recentes de impressões antigas também foi verificada em estudo envolvendo a degradação de

um componente lipídico (esqualeno), no qual vestígios de até 3 dias foram diferenciados com sucesso de vestígios a partir de 30 dias de idade (Girod *et al.*, 2016).

Comparando as micrografias dos voluntários 1 e 2 (mulheres) com a do voluntário 3 (homem), fica evidente que nesse último são visíveis uma quantidade maior de áreas oxidadas (Figura 34 e 35 em comparação com as Figuras 30 a 33). Esse fato pode ser explicado ao se estudar o fenômeno da corrosão.

A corrosão consiste na degradação de um metal pela ação do meio, sendo que a corrosão eletroquímica (úmida ou galvânica) é aquela que será intermediada por uma solução aquosa (presença de um eletrólito). Quando uma superfície metálica está em contato com uma solução aquosa, os átomos da superfície tendem a se dissociar e formar elétrons livres que se mantêm na superfície, o que caracteriza o processo de oxidação (Universidade de São Paulo, 2017).

No caso das impressões digitais, as glândulas écrinas presentes abundantemente na pele das mãos, secretam a solução aquosa, composta de água e sais iônicos que irão corroer a superfície metálica, resultando na fixação do formato da impressão digital na superfície. Esse processo de corrosão do metal é oportunizado pela ação de íons cloreto que compõem a secreção écrina das impressões digitais (Bond, 2008; Bleay, Croxton e Puit, 2018). A qualidade desta marca gerada pela oxidação da superfície metálica é dependente de dois fatores principais, a composição do metal e a quantidade da secreção écrina excretada pelo indivíduo (Bond e Phill, 2008). Neste estudo, o voluntário 3 relatou ter naturalmente um excesso de suor nas mãos, perceptível visualmente durante o período de coleta de impressões digitais. Muito embora essa característica não tenha sido explorada de modo aprofundado por outros experimentos, é possível correlacionar a quantidade aumentada de secreção écrina deste voluntário com o comportamento de suas impressões digitais nas superfícies metálicas (mais áreas de oxidação).

Esse fato reforça a necessidade do estudo por períodos mais extensos das características do doador a fim de corroborar o comportamento de suas impressões, bem como, monitorar a variabilidade intrapessoal do indivíduo. Isso também dialoga com a hipótese de que não seja possível o emprego de um único método para todo e qualquer indivíduo para a datação de impressões digitais (Frick *et al.*, 2021), de modo que para o estabelecimento de um modelo de envelhecimento capaz de estimar a idade do vestígio, é sugerido que as impressões digitais do suspeito sejam estudadas considerando as circunstâncias particulares do caso (Girod *et al.*, 2016).

Essa perspectiva para o uso de metodologia de datação foi utilizada em um caso de repercussão nacional ocorrido no Brasil em 2009. O caso ficou conhecido como “Crime da 113 Sul” e se refere ao triplo homicídio ocorrido em Brasília, envolvendo o ex-ministro do Tribunal

Superior Eleitoral José Guilherme Villela, sua esposa Maria Carvalho Mendes Villela e a empregada doméstica da família Francisca Nascimento Silva. Na ocasião, uma impressão palmar da filha das vítimas – Adriana Villela – foi identificada no apartamento. No entanto, essa informou que não havia estado no apartamento dos pais recentemente, que sua última visita teria sido em torno de quinze dias antes do crime, o que suscitou a investigação da idade do vestígio palmar encontrado na cena do crime.

A estimativa de datação do vestígio encontrado foi realizada a partir do estudo particular das condições climáticas e utilizando as impressões da própria suspeita. Após um ano do ocorrido, a fim de reproduzir as condições da época do crime, as impressões de Adriana Villela foram apostas na mesma superfície no local do crime (apartamento dos pais). E então foi realizado novo exame destas impressões para a comparação com as impressões recolhidas à época do crime, bem como estudar o comportamento das impressões da suspeita ao longo de diferentes intervalos de tempo, a fim de corroborar ou refutar a sua versão dos fatos.

O envelhecimento das impressões foi estudado a partir de suas características físicas, através da morfometria. O resultado da análise morfométrica incluiu as impressões digitais da época do crime em um intervalo de tempo de 3 a 9 dias, com 95% de intervalo de confiança, o que refutou o discurso de Adriana Villela no qual a impressão palmar teria em torno de 15 dias.

Muito embora no momento não exista metodologia científica validada para datar um vestígio papiloscópico, a conduta aplicada ao caso real está alinhada aos resultados observados e perspectivas das inúmeras pesquisas realizadas no tema nas últimas décadas, ressaltando a importância de se considerar a necessidade da inclusão de variáveis específicas do caso concreto aos modelos de envelhecimento.

7.1.2 Considerações acerca da distribuição de elementos químicos nos vestígios digitais ao longo do tempo por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X

As figuras 36 a 39 demonstram uma das vantagens do uso da técnica MEV associada com a EDS que é o estudo mais profundo da morfologia do vestígio. Ao analisar as micrografias obtidas é possível perceber que as cristas possuem bordas irregulares de modo geral, de modo que ao longo de uma mesma crista observam-se morfologias estruturais que variam. Com o passar do tempo ficam evidenciadas descontinuidades ao longo das cristas em decorrência da degradação dos elementos constituintes do vestígio. As micrografias das impressões mais

antigas (68 a 82 dias) apresentam maior contraste e nitidez do que as impressões do intervalo de tempo 0 a 28 dias, o que poderia ser explicado em função do substrato metálico no qual foram apostas: com o passar do tempo a oxidação do metal nas áreas de depósito de elementos constituintes das impressões digitais se intensifica, tornando o vestígio mais evidenciado. Também é possível observar nas impressões mais antigas uma distribuição maior de pontos de oxidação. Um destes pontos foi caracterizado pela técnica MEV-EDS a partir de uma impressão de 82 dias do voluntário 1 (Figura 36).

O espectro EDS obtido para o ponto estudado indica a presença de cobre e oxigênio compatível com o espectro do cobre oxidado (CuO ; CuO_2), não sendo possível precisar a partir deste ensaio qual espécie oxidada foi detectada. Espectros semelhantes foram observados no trabalho de Sudha *et al.* (2021) que caracterizam estruturas de cobre oxidadas. Também se observa pouca presença do átomo carbono, indicando pouca presença de matéria orgânica.

Além destas observações, algumas impressões digitais apresentaram estruturas particulares que foram caracterizadas individualmente pela técnica MEV-EDS (Figuras 37 e 38). Na figura 38, as incidências dos pontos 1 e 2 realizados diretamente sobre a estrutura em destaque indicam a presença de carbono, compatível com a composição majoritária de matéria orgânica. O ponto 1 principalmente evidencia a natureza da estrutura observada, que é distinta dos espectros EDS observados para as áreas comuns de crista. A incidência do ponto 3 realizada fora da estrutura morfológica em questão indica a presença majoritária do elemento cobre, confirmando tratar-se de área compatível com o substrato metálico.

Já na figura 39 são visualizados os espectros obtidos com a técnica EDS a partir de diferentes áreas em uma impressão digital de 28 dias de idade. O ponto 1 caracteriza uma região de oxidação sob a região terminal de uma crista (presença acentuada de átomos de carbono, oxigênio e cobre, além de potássio, cloro e sódio), indicando a presença de matéria orgânica dos elementos constituintes da crista, bem como a oxidação do substrato metálico. Os pontos 2 e 4 caracterizam a região de substrato (detecção majoritária de átomo de cobre) e o ponto 3 caracteriza uma área de continuidade de crista. A intensidade da incidência do feixe de elétrons do detector EDS pode ter mobilizado elétrons além da superfície da crista, atingindo também o substrato e por este motivo verificou-se a presença do átomo de cobre no espectro EDS do ponto 3.

Considerando a tabela 9 que reporta a análise estatística para todos os elementos químicos detectados (carbono, oxigênio, sódio e cloro) nas impressões estudadas, muito embora os valores de *p* indiquem que a hipótese nula não possa ser rejeitada (H_0 = o intervalo de tempo não tem influência sobre a % detectada de elementos químicos), o teste aplicado demonstra que

apenas o elemento oxigênio pode ter potencial para estabelecer uma correlação com o envelhecimento das impressões digitais, pois 32% da variação observada em suas quantidades relativas foi influenciada pelo intervalo de tempo. Considerando as duas variáveis, voluntário e intervalo de tempo, o teste demonstra que, nas condições do experimento, para todos os elementos químicos, à exceção do oxigênio, o voluntário foi a variável majoritariamente responsável pelas variações observadas.

Ao se observar as quantidades relativas de oxigênio na tabela 8, em dois dos três voluntários testados, nota-se o aumento gradativo do percentual de oxigênio detectado a partir de 0 até 28 dias, destacando-se as amostras de 0 dias com 7,4% e 7,9% de oxigênio, em contraste com as amostras de 28 dias com 12,9% e 18,3% de oxigênio, respectivamente para os voluntários 1 e 3, um aumento de 74,3% e 31,6%. Esse perfil corrobora as observações de Girod *et al.* (2016) no que diz respeito à possibilidade de diferenciação assertiva entre impressões recentes e antigas.

Dos elementos analisados, o elemento cloro apresentou as menores quantidades relativas detectadas. Para os voluntários 1 e 2, este elemento foi detectado em apenas em uma das triplicatas e para o voluntário 3 foi detectado nas três coletas realizadas em alguns dos intervalos de tempo (Tabela 10). A tabela 10 apresenta as quantidades relativas (%) do elemento cloro ao longo do tempo para os voluntários para cada uma das coletas realizadas. O cloro detectado se relaciona com os íons cloreto advindos da secreção écrina comum nas impressões digitais. Ao se observar as quantidades relativas de cloro para o voluntário 3, essas são superiores às quantidades verificadas para as voluntárias 1 e 2, o que corrobora a informação de sudorese excessiva reportada por este voluntário e com consequência a oxidação acentuada na superfície de latão vista nas micrografias.

Além disso, para o elemento cloro, observando as quantidades relativas detectadas, é possível notar uma tendência a diminuição da presença de cloro ao longo do tempo. Nas coletas nas quais o elemento foi detectado pela técnica da EDS, ao se comprar as impressões imediatamente após a aposição (0 dias) e as impressões mais envelhecidas (28 dias) há um decréscimo na quantidade relativa de cloro detectada para todos os voluntários. Para o voluntário 1, entre o tempo 0 e o tempo 28 dias, houve uma redução de 80% do elemento cloro. Já para o voluntário 2, a quantidade inicial detectada foi de 0,2% e após 28 dias, a quantidade existente estava abaixo do limite de detecção da técnica de EDS, representando também uma tendência para a diminuição. Para o voluntário 3, em duas das três coletas houve diminuição do elemento cloro (62,5% e 66,7%, coleta 1 e coleta 3 respectivamente) entre o tempo 0 e o tempo 28 dias.

Essa variação na concentração de cloro entre indivíduos também foi verificada por outros autores, indicando que a idade e falange distal utilizada influenciaram nas quantidades desse elemento nas impressões digitais. Além disso a porosidade da superfície também influenciou na detecção do elemento, sendo que a quantidade de cloro foi quase três vezes maior nas impressões apostas em superfície porosa (papel de filtro) do que em superfície não porosa (alumínio) (Cuthbertson, 1969; Croxton *et al.*, 2010).

Nas condições experimentais testadas, o elemento cloro apresenta potencial para a diferenciação entre impressões recentes e impressões envelhecidas com pelo menos 28 dias de idade. Os intervalos de tempo intermediários (7 e 14 dias) não foram detectados na maioria das coletas.

Ao se analisar os gráficos do tipo diagrama de caixa – *boxplot* (Gráficos 2 a 5) que indicam a distribuição dos elementos químicos ao longo do tempo, o tamanho das caixas dos diagramas indica a amplitude da variação do dado em questão (quantidade relativa do elemento químico detectado).

Ao observar os diagramas de todos os elementos detectados, é possível verificar que os elementos sódio e carbono apresentaram uma tendência a estabilidade ao longo do tempo, não apresentando grandes variações nos tamanhos das caixas dos diagramas. O elemento químico oxigênio apresentou uma tendência ao aumento em impressões mais envelhecidas, ao passo que o elemento químico cloro apresentou uma tendência à diminuição no mesmo intervalo de tempo (28 dias).

A detecção de elementos inorgânicos como potássio e cloro (cloreto) em vestígios de impressões digitais foi demonstrada de modo pioneiro por Worley *et al.* em 2005 com o emprego da espectrometria de fluorescência de micro raios-X (MXRF - *Micro X-ray fluorescence spectrometry*). O princípio da técnica é semelhante ao EDS no qual há um mapeamento da região selecionada gerando um imageamento da impressão com base na distribuição química dos elementos presentes na amostra, e espectros indicativos da presença destes elementos (Wei *et al.*, 2016), no entanto, os imageamento gerados pelo EDS apresentam apenas a distribuição geral do elemento naquela região analisada, não gerando uma imagem da impressão digital definida propriamente dita a partir da detecção dos elementos químicos (Figura 40). Logo, diferente da técnica MXRF que tem uso potencial para a detecção de impressões digitais como uma técnica de revelação, o EDS pode não ser indicado para tal propósito. A MXRF permite uma análise microscópica não destrutível e sem a necessidade de um preparo prévio devido à sua alta resolução espacial.

A existência de elementos químicos não voláteis como o potássio em resíduos de impressão digital poderia explicar, em teoria, a permanência dessas em superfícies por longos períodos (Worley *et al.*, 2005), de modo que quanto maior o teor de compostos inorgânico no vestígio, maior seria a propensão de sua permanência na superfície e maiores as chances de ser visualizado com o uso de técnicas que favoreçam a detecção de elementos inorgânicos. No entanto, na prática pericial, as técnicas tradicionais de revelação se pautam principalmente na aderência do revelador de modo inespecífico ao conteúdo aquoso e sebáceo das impressões.

Novamente, a percepção acerca da presença dos elementos inorgânicos se relaciona com a temática da revelação de vestígios e pouco se comenta sobre a possibilidade do seu uso para a datação. No trabalho de Worley *et al.* (2005) foi mencionado brevemente que um vestígio digital foi visualizado pela técnica através da detecção de potássio e cloreto após 7,5 meses, mas o tema não é explorado.

Ainda considerando especificamente o elemento potássio, diferente do trabalho acima, neste estudo o potássio foi detectado em apenas dois momentos (dados não evidenciados nos resultados), para o mesmo voluntário (voluntário 2 – sexo feminino) em duas impressões de 14 e 28 dias respectivamente. Estudos mais robustos, com um número amostral mais amplo e um acompanhamento mais aprofundado de cada voluntário, incluindo hábitos cotidianos, é necessário para melhor compreender a presença ou ausência desse elemento químico.

A presença dos elementos sódio e cloreto visualizados nas análises EDS advêm do cloreto de sódio (NaCl) que é um produto de excreção das glândulas écrinas (Baker, 2019). No presente estudo, o sódio se manteve relativamente estável ao longo dos dias (gráfico 4) enquanto o cloro apresentou uma variação mais perceptível, principalmente ao se comparar o tempo 0 e o tempo 28 dias. Muito embora a presença de íons cloreto nos resíduos de impressão digital seja melhor explorada no que diz respeito ao fenômeno da corrosão em superfícies metálicas como descrito na seção inicial desta discussão, não foram encontrados artigos que discutissem a presença e estabilidade verificada neste trabalho acerca do elemento químico sódio.

A escassez de estudos que avaliem a distribuição elementar química das impressões digitais, deixando essa característica pouco conhecida, pode se relacionar com a dificuldade até então de abordagens técnicas com sensibilidade para a detecção desses elementos em escala de resolução espacial de micron (μM ; 1×10^{-6} m) e sub- μM (Boseley *et al.*, 2019). Esse recente trabalho desenvolvido por Boseley *et al.* com o emprego da técnica de Microscopia de Fluorescência de Raios-X evidenciou a distribuição clara dos íons Ca^{2+} , Cl^- e K^+ e dos elementos Cu e Zn em impressão natural de um dos doadores, corroborando as perspectivas

futuras no desenvolvimento de pesquisas dedicadas à análise da porção inorgânica dos vestígios papiloscópicos.

Uma das vantagens da avaliação de elementos inorgânicos oriundos da secreção écrina é a possibilidade de um estudo do vestígio a longo prazo (anos), diferentemente dos elementos lipídicos que possuem um período mais rápido de degradação (Frick *et al.*, 2021). E, como visto, compostos écrinos, assim como outros componentes que podem ser detectados em impressões digitais (e.g. debris celulares), embora negligenciados pelas pesquisas nas últimas décadas, vêm demonstrando potencial para serem marcadores de temporalidade no estudo da senescência de vestígios de impressão digital.

7.2 Análises genéticas

No que diz respeito à escolha da metodologia de coleta de DNA, a análise estatística realizada demonstrou não existir diferença significativa entre o uso do papel de filtro FTA[®] e os suabes de algodão. Contudo, estudos prévios demonstraram que o uso do suabe de algodão propicia a não extração completa do DNA da matriz fibrosa do algodão e que alguns tipos de suabes são capazes de reter este material genético a partir de uma ligação com estas fibras, de modo que o sucesso da recuperação do DNA coletado a partir dos suabes não atinge 100% de eficiência (Bruijns *et al.*, 2018).

Estudo recente que compara a eficiência de obtenção de DNA a partir do uso de FTA[®] e de suabe, concluiu que as quantidades de DNA obtidas com o uso do papel de filtro foram significativamente maiores quando comparadas àquelas proveniente dos suabes (Kirgiz e Calloway, 2017). Tal fato pode ser explicado pela própria natureza do papel de filtro FTA[®] que é quimicamente tratado para permitir melhor preservação e liberação do DNA, bem como os recortes deste papel apresentam uma efetiva área de contato com a superfície do objeto de interesse (van Oorschot *et al.*, 2003), concentrando o material coletado. De modo contrário, o suabe retém o DNA em suas fibras e possui uma área muito maior do que a que é efetivamente usada, visto que apenas o exterior da porção de algodão é de fato utilizada.

A terceira metodologia de coleta de DNA testada no ensaio de padronização foi a submersão dos estojos. Considerando a natureza escassa do material biológico depositado nestes estojos, o protocolo foi adaptado a partir do protocolo de Montpetit e O'Donnell (2015) que incluía além da incubação da amostra submersa, também uma coleta com o uso de suabe.

Como demonstrado, o suabe de algodão não tem se mostrado o melhor instrumento de coleta em se tratando de amostras com pouco DNA como as amostras no presente trabalho e, desta forma, esta etapa não foi realizada. No estudo de Montpetit e O'Donnell (2015), 800 munições e 10 voluntários foram envolvidos, o que favorece as chances de obtenção de perfis genéticos interpretáveis, bem como a variabilidade entre os voluntários. Neste trabalho, 34,7% de perfis genéticos interpretáveis (o parâmetro faz alusão a detecção de quaisquer alelos) foram obtidos, sendo destes apenas um perfil completo foi obtido com o método de submersão. O referido estudo não aborda os aspectos de degradação e inibição amostral, contudo, no presente trabalho o uso do método de submersão indicou inibição completa, possivelmente em decorrência do desprendimento de material metálico da superfície do estojo e depósito na solução (Figura 51).

Segundo van Oorschot *et al.* (2013) 20 a 76% do DNA coletado é perdido durante o processo de extração e, considerando que as amostras objetos deste estudo são amostras traço (provenientes do toque) com pouca disponibilidade de material genético para análise, o papel de filtro FTA® foi a opção de escolha como metodologia de coleta.

Com a metodologia de coleta determinada, os estojos de munição deflagrados foram processados de acordo com os intervalos de tempo determinados considerando um critério de recenticidade a partir de 3 dias (recente), 8 dias e 30 dias (antigo). Este critério foi desenvolvido com o objetivo de estabelecer recomendações futuras para a prática forense, partindo da hipótese que estojos processados em intervalos de tempo menores resultariam na obtenção de um maior número de alelos em um perfil genético. Em contraponto à hipótese inicial, os resultados obtidos a partir da PCR em tempo real apresentaram quantidades de DNA acentuadamente baixas em todos os intervalos de tempo, não sendo possível estatisticamente estabelecer uma correlação entre intervalo de tempo e quantidade de DNA recuperada. A informação que se destaca mediante as análises realizadas é o perfil de degradação presente em todas as amostras, independente do intervalo de tempo estudado.

Ademais, muito embora o teste estatístico não tenha detectado diferença significativa entre os grupos comparados ($p > 0,05$), a quantidade de DNA transferida pelo manuseio das munições por cada voluntário varia consideravelmente (Lowe *et al.*, 2002; Montpetit, 2019) como também demonstra o gráfico 3 e é uma variável não controlável que influencia o sucesso de quaisquer análises de DNA de toque e pode influenciar o sucesso da genotipagem.

Das 27 amostras analisadas, o perfil genético foi recuperado em duas destas, uma taxa de sucesso de 22% dentro deste intervalo de tempo. Dentre os fatores que podem explicar as baixas taxas de obtenção de perfil genético, também podem ser considerados o tempo de manuseio da munição bem como a intensidade da pressão aplicada na superfície desta pelo

indivíduo (Dieltjes *et al.*, 2011). Em um estudo conduzido por Jansson *et al.* (2020) os voluntários manusearam as munições por um período estendido de um minuto, o que não é compatível com a prática do municiação de armamentos, mas que pode justificar os bons resultados obtidos em termos de perfis genéticos (13 de 15 marcadores STR obtidos). Neste estudo, contudo, os voluntários manusearam as munições brevemente como habitualmente fazem na rotina sendo o tempo de manuseio e municiação inferior a um minuto. Ainda, à medida que o número de munições inseridas no carregador aumenta, denota-se uma resistência ao processo, o que faz com que haja um aumento de força para esta tarefa, e em consequência, compreende-se haver maior quantidade de material biológico depositado nas munições devido. Neste caso, os voluntários inseriram 3 munições de cada vez em um carregador com capacidade para até 15 munições, de modo que pouca ou nenhuma força foi necessária para completar o municiação.

Dentre os fatores que podem explicar o sucesso na obtenção de perfil genético são discutidos os aspectos relativos ao material que compõe o estojo, tamanho e textura (Mawlood *et al.*, 2015; Ray *et al.*, 2015; Fan *et al.*, 2017 e Milnthorp *et al.*, 2018), bem como, a temperatura da câmara do armamento se encontra o estojo durante o mecanismo do tiro, pelos processos corrosivos dos gases produzidos pela combustão do propelente e o tipo de munição (Gashi *et al.*, 2010; Mawlood *et al.*, 2015).

Gashi *et al.* (2010) avaliaram as temperaturas externas de um estojo de munição de calibre 9 mm durante o tiro e demonstraram que muito embora as temperaturas de queima dos propelentes que impulsionam o projétil e dos gases formados pela combustão podem alcançar uma temperatura máxima de 142,8 °C, essa não é a temperatura que atinge o estojo de munição. Ocorre, de fato, uma transferência de calor para a superfície do estojo de modo que as temperaturas máximas atingidas são de 98,8 °C para estojos de alumínio e 62,8 °C para estojos de latão. Ainda, a temperatura aferida na extensão da superfície do estojo não é homogênea, variando dentro dos milésimos de segundos (0 até 2,4 ms) nos quais o estojo faz seu ciclo dentro do armamento até ser ejetado, sendo a temperatura na base do estojo (região da espoleta que contém o propelente) sempre maior do que no restante do estojo.

Considerando a temperatura observada por Gashi *et al.* (2010) e estabelecendo um paralelo com as temperaturas as quais o DNA é submetido na etapa de amplificação (96 °C por 1 minuto, 96 °C por 5 segundos e 60 °C por 1 minutos por 29 ciclos, 60 °C por 10 minutos), é possível inferir que isoladamente, a temperatura durante o tiro não seria suficiente para degradar o material genético inviabilizando a obtenção de perfil genético.

Os tipos de munições utilizados neste estudo eram compostos por estojos de latão (liga metálica de cobre e zinco), submetidos em teoria, a temperatura média de 62,8 °C durante o tiro, não sendo suficientes para causar degradação. Contudo, ao analisar os dados de quantificação referentes ao canal *red* (Tabela 12) referente à detecção de degradação de DNA genômico, 85% das amostras não amplificaram, indicando que naquelas amostras não foram detectados fragmentos de DNA com mais de 353 pares de base, confirmando um perfil de degradação amostral. Fatores como a oxidação da superfície metálica, temperatura e umidade do ar no dia dos tiros e as condições ambientais podem justificar a inviabilidade de obtenção de perfil genético em um cenário próximo à realidade. Para os estojos deflagrados analisados, a temperatura e umidade relativa do ar eram respectivamente de 25,4 °C e 75 % na estação meteorológica mais próxima no bairro de Santa Cruz (RJ) (Sistema Alerta Rio da Prefeitura do Rio de Janeiro). A umidade do ar catalisa os processos de oxidação do metal que constitui os estojos (Goidanich *et al.*, 2011; Jansson *et al.*, 2020) podendo ser um fator importante para o perfil de degradação observado. Ainda, os tiros foram realizados em estande de tiro em região de mata, sendo ejetados diretamente na terra e em meio a vegetações locais umedecidas o que pode ter contribuído com alguma perda parcial do material biológico previamente depositado ali.

Em uma análise mais detalhada, considerando que na reação de amplificação de DNA utilizando o kit PowerPlex® Fusion 6C foram colocados 15 µl de DNA extraído, de acordo com a tabela 3 conclui-se que a quantidade média de DNA genômico total (sonda com 91 pares de base) extraído inserido nas amplificações foi de 4,5 pg – 6 pg. Estudo de validação do referido kit demonstrou que com 31,25 pg de DNA inserido na reação, apenas 40% dos alelos são recuperados (Ensenberger *et al.*, 2015) o que pode corroborar para a baixa taxa de sucesso obtida. Considerado que uma célula humana diploide possui 6 picogramas de DNA. Nas situações apresentadas neste estudo, menos do que uma célula em termos de DNA foi inserida em 74 % das reações de amplificação. Ainda, considerando a sensibilidade do kit de genotipagem utilizado – 60 pg/ µl – é esperada uma taxa de sucesso diminuída, bem como perfis genéticos parciais, como observado.

O estudo de Gashi *et al.* (2010) com 10 voluntários, a partir de munições de calibre 9mm apresentou elevadas taxas de obtenção de perfil genético a partir dos estojos deflagrados (de 18 % a 100 % a depender do voluntário), o que não foi observado nas amostras avaliadas neste estudo com o mesmo calibre. Um contraponto relevante concentra-se no fato que Gashi *et al.* (2010), com base no estudo de Xiu *et al.* (2010) e utilizando um papel esmeril (papel abrasivo ou lixa), modificaram a superfície lisa dos estojos, tornando-as rugosas de modo a

reter maior quantidade de células e debris celulares, o que foi comprovado através de imagens de microscopia eletrônica de varredura indicando visualmente debris retidos, bem como posteriormente, sucesso na obtenção de perfis genéticos. Ainda, o estudo não apresentou dados de quantificação de DNA o que tem se mostrado muito comum na literatura deste tema, bem como não deixou clara a forma e condições de transferência de DNA para os estojos processados.

Alterações na estrutura física das munições, assim como no processo natural de manuseio e municamento apresentam de modo geral resultados satisfatórios e tornam-se relevantes para o entendimento dos fatores que afetam a viabilidade da obtenção de perfis genéticos de amostras desafiadoras como os estojos deflagrados. Entretanto, não correspondem às condições reais encontradas em amostras provenientes de locais de crime. O presente estudo, muito embora não tenha utilizado amostras de locais de crime, apresentou condições muito semelhantes ao que pode ser encontrado na dinâmica das perícias.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que a causa para a dificuldade encontrada no processamento genético de amostras de estojos deflagrados não se explica por inibição das amostras visto que houve amplificação do controle interno em todas as amostras avaliadas, e corroboram para o entendimento que a superfície metálica destes estojos de munição possa contribuir de modo significativo para a degradação amostral, visto que dentro do espaço temporal analisado, mesmo no intervalo de tempo mais recente (3 dias), é notado acentuado perfil de degradação, afastando – nestas condições – que o tempo transcorrido seja o fator preponderante para o sucesso das análises genéticas.

Outros estudos apontam que os eventos que se relacionam com a execução de um tiro podem ser responsáveis pela perda de DNA, impactando na sua disponibilidade para o processamento genético como a transferência de DNA da munição para o interior do carregador no qual as munições ficam armazenadas antes do tiro ser efetuado e a transferência de DNA para o interior da câmara do armamento no momento que o gatilho é acionado. Ainda, o contato com o solo após a ejeção do estojo e as técnicas de coleta e armazenamento dos estojos em locais de crime (Bonsu, Higgins e Austin, 2020; Jansson *et al.*, 2020; Xin, 2021; McElhoe *et al.*, 2023).

No âmbito da investigação forense, compreender a natureza molecular destes tipos de amostras, bem como os fatores que afetam o sucesso de sua genotipagem, se torna relevante para as aplicações em identificação humana dentro de um sistema autossômico STR (comumente utilizado) bem como, para análises complementares em sistemas desenvolvidos para amostras degradadas (fragmentadas) como INDELs e SNPs.

CONCLUSÕES

- a) Foi desenvolvido um protocolo para a análise morfométrica de impressões digitais com vistas à estimativa de datação do vestígio de impressão digital;
- b) Até a segunda semana de aposição, as cristas datiloscópicas apresentaram uma tendência para o estreitamento das medidas, e posteriormente, as cristas apresentaram um alargamento de espessura para a maioria dos voluntários;
- c) A tendência observada para as cristas datiloscópicas do voluntário do sexo masculino (estreitamento ao longo do tempo) foi distinta da observada para os voluntários do sexo feminino (estreitamento seguido de alargamento), devendo ser melhor investigada em estudos futuros;
- d) Os elementos carbono e sódio apresentaram estabilidade relativa nos intervalos de tempo estudados enquanto o elemento cloro apresentou uma diminuição e o elemento oxigênio apresentou um aumento nas quantidades detectadas com a técnica MEV-EDS ao longo do tempo, principalmente entre impressões recentes (0 dias) e impressões envelhecidas (28 dias);
- e) Os resultados deste trabalho corroboram com os estudos mais recentes na área da datação de impressão digital, os quais destacam a importância do emprego de métodos complementares como a caracterização física e química para a análise de impressões digitais na rotina forense;
- f) O uso de suabe de algodão não é recomendado para a coleta de DNA de toque principalmente em estojos de munição deflagrados, sendo preferencial o uso de suabe de nylon ou papel de filtro FTA[®];
- g) A temperatura atingida durante a execução do tiro não é suficiente para justificar o perfil de degradação de DNA observado nas amostras provenientes dos estojos deflagrados;
- h) Não foi observada a presença de inibidores nas amostras em questão, afastando no universo amostral testado, a hipótese de que os gases provenientes do tiro, bem como os elementos desprendidos do projétil e componentes da pólvora exerceriam inibição, sendo a causa do baixo sucesso de obtenção de perfil genético;
- i) Em 85% das amostras foi detectada degradação, sendo esse um fator significativo para justificar a discreta taxa de sucesso nas análises genéticas dos estojos deflagrados;
- j) Os resultados obtidos sugerem que a superfície metálica exerce significativa influência no sucesso da análise genética de estojos deflagrados;

- k) A possibilidade de se obter um perfil genético a partir deste tipo de amostra muito embora apresente dificuldades é factível e não deve ser descartada.

REFERÊNCIAS

- ACREE, Mark A. Is there a gender difference in fingerprint ridge density? **Forensic Science International**, v. 102, n. 1, p. 35-44, 1999.
- AGNIHOTRI, Arun Kumar; JOWAHEER, Vandna; ALLOCK, Anishta. An analysis of fingerprint ridge density in the Indo-Mauritian population and its application to gender determination. **Medicine, Science and the Law**, v. 52, n. 3, p. 143-147, 2012.
- ALAEDDINI, Reza *et al.* Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA—A review. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 148-157, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.09.007>.
- ALEM, L *et al.* Efficiency of DNA recovery from fingerprints enhanced with black and magnetic powders. *Forensic Science International. Genetics Supplement Series (PRINT)*, v. 1, p. FSIGSS1452, 2017.
- ALEM, Ludmila *et al.* Genetic profiling from 9 mm fired cartridge cases over 30 days. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, [S.L.], v. 8, p. 294-296, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2022.10.067>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875176822001147>. Acesso em: 08 ago. 2023.
- AMERICAN ACADEMY OF FORENSIC SCIENCES, 67., 2015, Orlando. **Examination of factors that affect the recovery and analysis of DNA from spent cartridge casings**. Orlando: Aafs, 2015. Disponível em: <https://www.aafs.org/sites/default/files/media/documents/AAFS-2015-B68.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- AMERICAN ACADEMY OF FORENSIC SCIENCES, 70., 2018, Orlando. **Evaluation and Optimization of DNA Recovery From Bullet Cartridge Cases**. Orlando: Aafs, 2018. Disponível em: <https://www.aafs.org/sites/default/files/media/documents/AAFS-2015-B136.pdf>. Acesso em: 5 fev. 2023.
- ANAWATSAKUN, Thitikan; SEELANAN, Parinya. The Study of Fiber Properties in Burial Conditions by Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy for Forensic Examination. **Review Of Science And Technology**, [s. l], v. 14, n. 1, p. 1-16, nov. 2022.
- ANDERSSON, Per Ola *et al.* Towards Fingermark Dating: a raman spectroscopy proof-of-concept study. **Chemistryopen**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 706-709, 18 out. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/open.201700129>.
- ANDREA, Carlos Eduardo de *et al.* Análise da morfometria nuclear: descrição da metodologia e o papel dos softwares de edição de imagem. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 51-57, fev. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442008000100010>.
- ARCHER, N. *et al.* Changes in the Lipid Composition of Latent Fingerprint Residue with Time after Deposition on a Surface. *Forensic Science International*, v. 154, p. 224-239.

ARCHER, Nia E. *et al.* Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 154, n. 2-3, p. 224-239, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.09.120>.

ARNDT, J. *et al.* Scanning electron microscopy-energy dispersive X-ray spectrometry (SEM-EDX) and aerosol time-of-flight mass spectrometry (ATOFMS) single particle analysis of metallurgy plant emissions. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 210, p. 9-17, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.019>.

ASHBAUGH, D.R. Ridgeology. *J Forensic Identification* 41:16–64 (1991)
ATTARD-MONTALTO, N. *et al.* Determining the chronology of deposition of natural fingermarks and inks on paper using secondary ion mass spectrometry. Royal Society of Chemistry

AYUSHI, Rana *et al.* Alcohol and Handwritings. **Forensic Science Today**, [S.L.], p. 006-008, 21 set. 2021. Peertechz Publications Private Limited.
<http://dx.doi.org/10.17352/fst.000022>.

B, Holyst *et al.* Criminal assessment of the age of fingerprints. **Arch Kriminol**, Germany, v. 179, n. 3-4, p. 94-103, set. 1987.

BAILEY, M. *et al.* Depth profiling of fingerprint and ink signals by SIMS and MeV SIMS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, v. 11, p. 1929-1932, 2010.

BAILEY, Melanie J. *et al.* Rapid detection of cocaine, benzoylecgonine and methylecgonine in fingerprints using surface mass spectrometry. **The Analyst**, [S.L.], v. 140, n. 18, p. 6254-6259, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5an00112a>.

BAKER, Lindsay B.. Physiology of sweat gland function: the roles of sweating and sweat composition in human health. **Temperature**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 211-259, 3 jul. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/23328940.2019.1632145>.

BANIUK, Krystyna *et al.* Determination of age of fingerprints. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 46, n. 1-2, p. 133-137, maio 1990. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/0379-0738\(90\)90151-n](http://dx.doi.org/10.1016/0379-0738(90)90151-n).

BARROS, Rodrigo M. *et al.* Morphometry of latent palmprints as a function of time. **Science & Justice**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 402-408, dez. 2013. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2013.08.002>.

BASU, Nabanita; BOLTON-KING, Rachel S.; MORRISON, Geoffrey Stewart. Forensic comparison of fired cartridge cases: feature-extraction methods for feature-based calculation of likelihood ratios. **Forensic Science International: Synergy**, [S.L.], v. 5, p. 100272, 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsisyn.2022.100272>.

BÉCUE, Andy *et al.* Interpol review of fingermarks and other body impressions 2016–2019. **Forensic Science International: Synergy**, [S.L.], v. 2, p. 442-480, 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsisyn.2020.01.013>. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7770454/>. Acesso em: 08 jan. 2024.

BENTSEN, R.K. *et al.* Post firing visualisation of fingerprints on spent cartridge cases. **Science & Justice**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 3-8, jan. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1355-0306\(96\)72547-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1355-0306(96)72547-9).

BLEAY, Stephen M. *et al.* **Fingerprint Development Techniques: Theory and Application**. [S. L.]: Wiley, 2018. 500 p.

BOND, John W. *et al.* Visualization of Latent Fingerprint Corrosion of Metallic Surfaces. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 812-822, jul. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00738.x>.

BOND, John W.. The Thermodynamics of Latent Fingerprint Corrosion of Metal Elements and Alloys. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 53, n. 6, p. 1344-1352, 27 out. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00860.x>.

BOND, John W.; D.PHIL. Visualization of Latent Fingerprint Corrosion of Metallic Surfaces. **Journal Of Forensic Sciences**, [S. L.], v. 53, n. 4, p. 812-822, jul. 2008.

BONSU, D. O. M., HIGGINS, D., & AUSTIN, J. J. Forensic touch DNA recovery from metal surfaces - A review. *Science & Justice: Journal of the Forensic Science Society*, v. 60, p. 206–215.

BORACCHI, Michele *et al.* Extensive study on electrocution at the Bureau of Legal Medicine of Milan (1993–2017): determination of the current mark with scanning electron microscope/energy-dispersive x-ray analysis on paraffin-embedded samples. **Medico-Legal Journal**, [S.L.], v. 87, n. 2, p. 67-73, 10 abr. 2019. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0025817219833328>.

BOSELEY, Rhiannon E. *et al.* Monitoring the chemical changes in fingermark residue over time using synchrotron infrared spectroscopy. **The Analyst**, [S.L.], v. 147, n. 5, p. 799-810, 2022. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d1an02293h>.

BRASIL. Lei nº 3.689, de 03 de outubro de 1941, de 1941. **Código de Processo Penal**. [S. l.], 1941. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/CCIVIL/Decreto-Lei/Del3689.htm>.. Acesso em: 08 ago. 2023.

BRIGHT, Nicholas J. *et al.* Chemical changes exhibited by latent fingerprints after exposure to vacuum conditions. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 230, n. 1-3, p. 81-86, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.03.047>.

BRUIJINS, B.B.; TIGGELAAR, R.M.; GARDENIERS, H. The extraction and recovery efficiency of pure DNA for different types of swabs. *Journal of Forensic Sciences*, 2018.

BURNSTOCK, Aviva; JONES, Chris. Scanning electron microscopy techniques for imaging materials from paintings. **Radiation In Art And Archeometry**, [S.L.], p. 202-231, 2000. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-044450487-6/50056-0>.

CHADWICK, Scott *et al.* Investigation of some of the factors influencing fingermark detection. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 289, p. 381-389, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.06.014>.

CHAMPOD, C. *et al.* Fingerprints and other ridge skin impressions. CRC Press, Boca Raton (2004)

CHEN, Hongyu *et al.* Advances in fingermark age determination techniques. **The Analyst**, [S.L.], v. 146, n. 1, p. 33-47, 2021. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0an01423k>.

CHEN, Hongyu *et al.* Advances in fingermark age determination techniques. **The Analyst**, [S.L.], v. 146, n. 1, p. 33-47, 2021. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0an01423k>.

CHEN, Tsoching; SCHULTZ, Zachary D.; LEVIN, Ira W.. Infrared spectroscopic imaging of latent fingerprints and associated forensic evidence. **The Analyst**, [S.L.], v. 134, n. 9, p. 1902, 2009. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b908228j>.

CHOI, M.J. *et al.* Investigation into the binding of gold nanoparticles to fingerprints using scanning electron microscopy. **Journal Of Forensic Identification**, [s. l], v. 56, n. 1, p. 10-18, jan. 2006.

CHOUDHARY, Om Prakash; KA, Priyan. Scanning Electron Microscope: advantages and disadvantages in imaging components. **International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences**, [S.L.], v. 6, n. 5, p. 1877-1882, 10 maio 2017. Excellent Publishers. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.207>.

CHRISTOFIDIS, George *et al.* A Preliminary Study on Vacuum Metal Deposition as a Standalone Method for Enhancement of Fingermarks on Ballistic Brass Materials. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 64, n. 5, p. 1500-1505, 25 mar. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.14052>.

CHRISTOFIDIS, George *et al.* Detection of Fingermarks—Applicability to Metallic Surfaces: a literature review. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 63, n. 6, p. 1616-1627, 8 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.13775>.

CLOETE, Karen J.; ?MIT, Žiga; GIANONCELLI, Alessandra. Multidimensional Profiling of Human Body Hairs Using Qualitative and Semi-Quantitative Approaches with SR-XRF, ATR-FTIR, DSC, and SEM-EDX. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 4166, 19 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24044166>.

CONNATSER, R. Maggie *et al.* Toward Surface?Enhanced Raman Imaging of Latent Fingerprints*. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 55, n. 6, p. 1462-1470, nov. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01484.x>.

CORNWELL, Samuel J. *et al.* Evaluation of DNA Extraction Methods for Processing Fingerprint Powder?Coated Forensic Evidence. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 65, n. 3, p. 960-965, 5 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.14233>.

CORROSÃO. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2017. 6 slides, color. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3045735/mod_resource/content/1/10_Corros%C3%A3o%20282017%29.pdf. Acesso em: 21 jan. 2024.

CRANE, Nicole J. *et al.* Infrared Spectroscopic Imaging for Noninvasive Detection of Latent Fingerprints. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 52, n. 1, p. 48-53, 12 dez. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00330.x>.

DA-SILVA-XAVIER, Alexandre; QUEIROZ, Margareth Maria de Carvalho. Ultrastructure analysis of the immature stages of *Ravinia belforti* (Diptera: sarcophagidae), a species of medical-veterinary and forensic importance, by scanning electron microscopy. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 159, p. 192-199, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.039>.

DAVEY, Reginald. **Advantages and Disadvantages of Electron Microscopy**. 2019. Disponível em: <https://www.news-medical.net/life-sciences/Advantages-and-Disadvantages-of-Electron-Microscopy.aspx#2>. Acesso em: 12 jan. 2024.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, J. *et al.* Determination of latent fingerprint degradation patterns - A real fieldwork study. *International Journal of Legal Medicine*.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, Josep de *et al.* Fingermark ridge drift. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 258, p. 26-31, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.11.003>.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, Josep de *et al.* Latent Fingermark Aging Patterns (Part I): minutiae count as one indicator of degradation. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 61, n. 2, p. 322-333, 28 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.13007>.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, Josep de *et al.* Latent Fingermark Aging Patterns (Part III): discontinuity index as one indicator of degradation. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 62, n. 5, p. 1180-1187, fev. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.13438>.

DE ALCARAZ-FOSSOUL, Josep de *et al.* The Paradigm of Fingerprint Age Determination. **Jacobs Journal Of Forensic Science**, [S. L.], v. 1, n. 1, p. 1-6, set. 2015.

DEDAVID, Berenice Anina; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. **Microscopia Eletrônica de Varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre, Rs: Edipucrs, 2007. 60 p.

DIELTJES, P.; MIEREMET, R.; ZUNIGA, S. A sensitive method to extract DNA from biological traces present on ammunition for the purpose of genetic profiling, *International Journal of Legal Medicine*. v: 125, p. 597–602, 2011.

DORAKUMBURA, Buddhika N. *et al.* Analysis of squalene and its transformation by-products in latent fingermarks by ultrahigh-performance liquid chromatography-high resolution accurate mass Orbitrap™ mass spectrometry. **Forensic Chemistry**, [S.L.], v. 17, p. 100193, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forc.2019.100193>.

DORAKUMBURA, Buddhika N. *et al.* Revealing the spatial distribution of chemical species within latent fingermarks using vibrational spectroscopy. **The Analyst**, [S.L.], v. 143, n. 17, p. 4027-4039, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7an01615h>.

ELLINGHAM, Sarah T D; THOMPSON, Tim J u; ISLAM, Meez. Scanning Electron Microscopy-Energy-Dispersive X-Ray (SEM/EDX): A Rapid Diagnostic Tool to Aid the Identification of Burnt Bone and Contested Cremains. **Journal Of Forensic Sciences**, [s. l], v. 63, n. 2, p. 504-510, mar. 2018.

ELWICK, Kylene *et al.* Recovery of DNA from fired and unfired cartridge casings: comparison of two dna collection methods. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 59, p. 102726, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2022.102726>.

ERI?, Suzana. THE APPLICATION AND LIMITATIONS OF THE SEM-EDS METHOD IN FOOD AND TEXTILE TECHNOLOGIES. **Advanced Technologies**, [s. l], v. 6, n. 2, p. 5-10, ago. 2017.

Eric Himpton Holder (org.). **The Fingerprint Sourcebook**. Washington, Dc: National Institute Of Justice, 2011. 422 p. Disponível em: <https://www.ojp.gov/pdffiles1/nij/225320.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2022.

EXALL, A.; GODDARD, I.; BANDEY, H. Preliminary investigations using Recover Latent Fingerprint Technology on unfired ammunition and fired cartridge cases. **Science & Justice**, [S.L.], v. 62, n. 5, p. 556-568, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2022.08.001>.

FAN, G.; LI, W.; LI, S.; ZHANG, Q. An evaluation of the performance of DNA recovery from fired firearms and cartridge cases using micro dialysis filtration. **Forensic Science International: Supplementary Series**. v.6, p. e246–e248, 2017.

FAN, Guang-Yao *et al.* An evaluation of the performance of DNA recovery from fired firearms and cartridge cases using microdialysis filtration. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, [S.L.], v. 6, p. 246-248, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.096>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1875176817300690>. Acesso em: 12 dez. 23.

FIGUEROA, Benjamin *et al.* Label-Free Chemical Imaging of Latent Fingerprints with Stimulated Raman Scattering Microscopy. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 89, n. 8, p. 4468-4473, 31 mar. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04213>.

FRANCESE, S.; BRADSHAW, R.; DENISON, N.. An update on MALDI mass spectrometry based technology for the analysis of fingermarks – stepping into operational deployment. **The Analyst**, [S.L.], v. 142, n. 14, p. 2518-2546, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7an00569e>.

FRICK, A.A. *et al.* Investigations into the initial composition of latent fingermark lipids by gas chromatography–mass spectrometry. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 254, p. 133-147, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.06.032>.

FRICK, A.A. *et al.* Monitoring compositional changes of the lipid fraction of fingermark residues deposited on paper during storage. **Forensic Chemistry**, [S.L.], v. 2, p. 29-36, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forc.2016.09.001>.

FRICK, Amanda A. *et al.* Changes in latent fingermark glyceride composition as a function of sample age using UPLC-IMS-QToF-MSE. **The Analyst**, [S.L.], v. 145, n. 12, p. 4212-4223, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0an00379d>.

FRITZ, Patrick *et al.* Infrared microscopy studies of the chemical composition of latent fingermark residues. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 111, p. 40-46, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2012.08.005>.

GASHI, B. *et al.* Measurement of 9 mm cartridge case external temperatures and its forensic application, **Forensic Science International**, v.200, p. 21–27, 2010.

GASHI, B. *et al.* Measurement of 9mm cartridge case external temperatures and its forensic application. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 200, n. 1-3, p. 21-27, jul. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073810001313?via%3Dihub>. Acesso em: 02 jan. 2024.

GENTILE, Guendalina *et al.* A Brief Review of Scanning Electron Microscopy With Energy-Dispersive X-ray Use in Forensic Medicine. **American Journal Of Forensic Medicine & Pathology**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 280-286, 26 ago. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/paf.0000000000000609>.

GENTILE, Guendalina *et al.* A Brief Review of Scanning Electron Microscopy With Energy-Dispersive X-ray Use in Forensic Medicine. **American Journal Of Forensic Medicine & Pathology**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 280-286, 26 ago. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/paf.0000000000000609>.

GIBSON, Andrew P.; BANNISTER, Matthew; BLEAY, Stephen M.. Comparison of Three Ultraviolet Searching and Imaging Systems for the Recovery of Fingerprints. **Journal Of Forensic Identification**, [s. l], v. 62, n. 4, p. 349-367, ago. 2012.

GILL-KING, H.; HAGLUND, W. D.; SORG, M. H. Forensic taphonomy: the postmortem fate of human remains. **Haglund, WD Sorg, MH CRC Press: New York**, p. 93-108, 1997. GINO, S.; OMEDEI, M. Effects of the most common methods for the enhancement of latent fingerprints on DNA extraction from forensic samples. **Forensic Science International: Genetic Supplement Series**. p. 273- 274. 2011.

GIRELLI, Carlos M.A. *et al.* Recovery of latent fingermarks from brass cartridge cases: evaluation of developers, analysis of surfaces and internal ballistic effects. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 290, p. 258-278, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.07.026>.

GIROD, A. *et al.* Fingermark age determinations: legal considerations, review of the literature and practical propositions. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 262, p. 212-226, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.03.021>.

GIROD, Aline *et al.* Aging of target lipid parameters in fingermark residue using GC/MS: effects of influence factors and perspectives for dating purposes. **Science & Justice**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 165-180, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2015.12.004>.

GIROD, Aline *et al.* Fingermark initial composition and aging using Fourier transform infrared microscopy (?-FTIR). **Forensic Science International**, [S.L.], v. 254, p. 185-196, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.07.022>.

GIROD, Aline; WEYERMANN, Céline. Lipid composition of fingermark residue and donor classification using GC/MS. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 238, p. 68-82, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.02.020>.

GOIDANICH, S. *et al.* Atmospheric corrosion of brass in outdoor applications: Patina evolution, metal release and aesthetic appearance at urban exposure conditions, *Science Total Environment*. p. 412–413, 2011.

GOLDSTEIN, Joseph I. *et al.* **Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis**. 4. ed. New York: Springer New York, 2018. 550 p.

GORAY, M.; MITCHELL, R.J; VAN OORSCHOT, R.A.H. Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions. *Leg Med (Tokyo)*, v. 12, n. 3, p. 117-20. 2010.

GORKA, Marie *et al.* Molecular composition of fingermarks: assessment of the intra- and inter-variability in a small group of donors using maldi-msi. **Forensic Chemistry**, [S.L.], v. 12, p. 99-106, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forc.2018.12.002>.

GÖTHERSTRÖM, A. *et al.* Bone preservation and DNA amplification. **The Fourth International Meeting on Bone Diagenesis**. v. 44, n.3 p. 395-404, 2002.

Great Britain Home Office AddressForensic Science Regulation. **DNA Expansion Programme 2000-2005: Reporting Achievement**. United Kingdom: Great Britain Home Office Addressforensic Science Regulation, 2005. 30 p.

Great Britain Home Office Centre for Applied Science and Technology (org.). **Fingermark Visualisation Manual**. 2. ed. St. Albans, U.K: The Home Office Centre For Applied Science And Technology, 2014. 1200 p.

GREO. **Microscopia Eletrônica de Varredura**. 202-?. Disponível em: <http://greo.mec.puc-rio.br/servicos/microscopiaeletronicadevarredura/>. Acesso em: 15 jan. 2024.

GROENEVELD, G. *et al.* Detection and mapping of illicit drugs and their metabolites in fingermarks by MALDI MS and compatibility with forensic techniques. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-13, 29 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep11716>.

HAN, Shujun *et al.* Earth system science applications of next-generation SEM-EDS automated mineral mapping. **Frontiers In Earth Science**, [S.L.], v. 10, p. 1-22, 23 nov. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/feart.2022.956912>.

HANSEN, Darren B.; JOULLIÉ, Madeleine M.. The development of novel ninhydrin analogues. **Chem. Soc. Rev.**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 408-417, 2005. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b315496n>.

HEATON, Cameron *et al.* Investigating sex determination through MALDI MS analysis of peptides and proteins in natural fingerprints through comprehensive statistical modelling. **Forensic Chemistry**, [S.L.], v. 20, p. 100271, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forc.2020.100271>.

HEMMILA, April *et al.* Fourier Transform Infrared Reflectance Spectra of Latent Fingerprints: a biometric gauge for the age of an individual*. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 53, n. 2, p. 369-376, 19 fev. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00649.x>.

HEU, Rod *et al.* Target Material Selection for Sputter Coating of SEM Samples. **Microscopy Today**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 32-36, jul. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s1551929519000610>.

HORSMAN-HALL, Katie M. *et al.* Development of STR profiles from firearms and fired cartridge cases. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 242-250, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.02.007>.

HOUCK, M. (Ed.), *Forensic Fingerprints*, Academic Press, 2016.

IFA, Demian R. *et al.* Latent Fingerprint Chemical Imaging by Mass Spectrometry. **Science**, [S.L.], v. 321, n. 5890, p. 805-805, 8 ago. 2008. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1157199>.

INTERPOL FORENSIC SCIENCE SYMPOSIUM, 18., 2016, Lyon. **Fingermarks and other body impressions: A review (July 2013 - July 2016)**. Lyon: Interpol Forensic Science Symposium, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/309102465_Fingermarks_and_Other_Body_Impressions_-_A_Review_July_2013_-_July_2016. Acesso em: 05 jan. 2024.

INTERPOL INTERNATIONAL FORENSIC SCIENCE MANAGERS SYMPOSIUM, 17., 2013, Lyon. **Fingermarks and other impressions**. Lyon: Interpol International Forensic Science Managers Symposium, 2013.

JAMES, Richard Michael *et al.* The enhancement of friction ridge detail on brass ammunition casings using cold patination fluid. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 257, p. 385-392, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.10.004>.

JASSON, L. *et al.* Factors affecting DNA recovery from cartridge cases. **Forensic Science International: Genetics**. v. 48, 2020.

JOHNSTON, Andrew; ROGERS, Keith. A study of the intermolecular interactions of lipid components from analogue fingerprint residues. **Science & Justice**, [S.L.], v. 58, n. 2, p. 121-127, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2017.11.004>.

JOHNSTON, Andrew; ROGERS, Keith. The Effect of Moderate Temperatures on Latent Fingerprint Chemistry. **Applied Spectroscopy**, [S.L.], v. 71, n. 9, p. 2102-2110, 14 mar. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0003702817694902>.

KANOKWONGNUWUT, Piyamas *et al.* Shedding light on shedders. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 36, p. 20-25, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.06.004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29902671/>. Acesso em: 02 jan. 2024.

KAUR, Navjot *et al.* An elemental analysis of Indian automotive paint using SEM-EDS. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], v. 48, p. 1748-1753, 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2021.10.046>.

KECKAREVIC, D. Comparison of different methods of DNA recovery and PCR amplification in STR profiling of casings—a retrospective study, *International Journal of Legal Medicine*. v. 132, p.1575–1580, 2018.

KEISAR, Or *et al.* Measuring the water content in freshly-deposited fingerprints. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 294, p. 204-210, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.11.017>.

KHARE, Vartika *et al.* A review on the advancements in chemical examination of composition of latent fingerprint residues. **Egyptian Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-9, 27 jan. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41935-021-00262-2>.

KHUU, Alicia *et al.* Evaluation of one-step luminescent cyanoacrylate fuming. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 263, p. 126-131, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.04.007>.

KIKKAWA, Hitomi S. *et al.* Semi-automated scanning electron microscopy energy dispersive X-ray spectrometry forensic analysis of soil samples. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 305, p. 109947, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.109947>.

KIM, Doogon *et al.* Aging effect on the wettability of stainless steel. **Materials Letters**, [S.L.], v. 170, p. 18-20, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.01.107>.

KING, Roberto S.P. *et al.* NIR?NIR fluorescence: a new genre of fingerprint visualisation techniques. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 262, p. 28-33, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.03.037>.

KISHORE, R. *et al.* Optimization of DNA extraction from low-yield and degraded samples using the BioRobot® EZ1 and BioRobot® M48. *Journal of Forensic Science*, 51(5): 1055-1061, 2005

KUMAR, Rohit *et al.* Ultramorphological study of immature stages and male genitalia of forensically significant flesh fly *Sarcophaga dux thomson*, 1868 (Diptera: sarchophagidae). **Journal Of King Saud University - Science**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 101460, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101460>.

LAM, Rolanda *et al.* Latent fingermark development on fired and unfired brass ammunition under controlled and blind conditions. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 337, p. 111369, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111369>.

LAMOND, G. An introduction to dactyloscopy. Criminal Law (Continuing Legal Education). [http://www.criminalcle.net.au/ attachments/Fingerprints.](http://www.criminalcle.net.au/attachments/Fingerprints.An_Introduction_to_Dactyloscopy.pdf)
An_Introduction_to_Dactyloscopy.pdf (2011)

LANGENBURG, Glenn *et al.* Testing for Potential Contextual Bias Effects During the Verification Stage of the ACE?V Methodology when Conducting Fingerprint Comparisons*. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 571-582, 21 abr. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01025.x>.

LATHAM, Krista E.; MADONNA, Megan E.. DNA Survivability in Skeletal Remains. In: POKINES, James; SYMES, Steven A.. **Manual of Forensic Taphonomy**. Boca Raton: Crc Press, 2013. p. 230-254.

LEEMANS, P. *et al.* Evaluation of methodology for the isolation and analysis of LCN-DNA before and after dactyloscopic enhancement of fingerprints. International Congress Series 1288. p. 583- 585. 2006

LIMA, E.F. de; FOSCHINI, M.; MAGINI, M.. O efeito termoiônico: uma nova proposta experimental. **Rev. Bras. Ensino Fís.**, [s. l], v. 23, n. 4, p. 391-394, dez. 2001.

LOCARD, Edmond *et al.* **Traité De Criminalistique**. Lyon: J. Desvigne Et Ses Fils, 1931.

LOCICIRO, S. *et al.* Cocaine profiling for strategic intelligence, a cross-border project between France and Switzerland. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 177, n. 2-3, p. 199-206, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.12.008>.

LOWE, A. *et al.* The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low-level DNA from individuals to inert surfaces, *Forensic Science International*, v. 129, p. 25–34, 2012.

LOWE, Alex *et al.* The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individual. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 129, n. 1, p. 25-34, set. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0379-0738\(02\)00207-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0379-0738(02)00207-4).

MALEK, Md *et al.* Multi-Modal Compositional Analysis of Layered Paint Chips of Automobiles by the Combined Application of ATR-FTIR Imaging, Raman Microspectrometry, and SEM/EDX. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 1381, 8 abr. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24071381>.

MARQUES, Beatriz Cristina Mendes da Rocha *et al.* Comparison of three DNA extraction methods for three different types of fired and unfired ammunition. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, [S.L.], v. 8, p. 59-61, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2022.09.022>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875176822000221>. Acesso em: 06 jan. 2024.

MATHIAS, Jennifer. **A Beginner's Guide: How to Interpret Gas Chromatography Mass Spectrometry Results**. 2018. Disponível em:

<https://www.innovatechlabs.com/newsroom/1841/how-to-interpret-gas-chromatography-mass-spectrometry->

[results/#:~:text=Typically%2C%20the%20y%2Daxis%2C,at%20the%20point%20of%20retention.](https://www.innovatechlabs.com/newsroom/1841/how-to-interpret-gas-chromatography-mass-spectrometry-) Acesso em: 10 out. 2024.

MAWLOOD, S.; DENNANY, L.; WATSON, N.P.B. Analysis of DNA from fired cartridge casings. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. v. 9, 2015.

MAWLOOD, Shakhawan *et al.* Analysis of DNA from Fired Cartridge

Casings. **International Journal Of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food And Biotechnological Engineering**, [s. l], v. 9, n. 8, p. 870-877, ago. 2015. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/281372634_Analysis_of_DNA_from_Fired_Cartridge_Casings. Acesso em: 05 jan. 2024.

MAYEEN, Anshida *et al.* Morphological Characterization of Nanomaterials. In: BHAGYARAJ, Sneha Mohan; OLUWAFEMI, Oluwatobi Samuel; KALARIKKAL, Nandakumar; THOMAS, Sabu (ed.). **Characterization of Nanomaterials**. [S. L.]: Woodhead Publishing, 2018. p. 335-364.

MCELHOE, J. *et al.* Impact of storage conditions and time on DNA yield from ammunition cartridges. *International Journal of Legal Medicine*, v. 137, p. 995–1006.

MELKI, João A.D.; MARTIN, Carmen C.s.; ZERBINI, Talita. Scanning electron microscopy as an auxiliary method in the study of exhumed bones. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 206, n. 1-3, p. 67-70, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.09.004>.

MIGLIORINI, Arnaldo Stanislao *et al.* Forensic – Pathological SEM/EDX analysis in prosecution of medical malpractice. **Legal Medicine**, [S.L.], v. 40, p. 43-46, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2019.07.005>.

MILNTHORP, H.; MCKIERNAN, H.; DANIELSON, P. The evaluation and optimization of DNA recovery and amplification from bullet cartridge cases, AAFS Proceedings: 70th Annual Meeting, Seattle, Washington, USA, 2018.

MONTORIOL, Romain *et al.* Gunshot residue detection in stagnant water: sem?edx or icp?ms? a preliminary study. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 66, n. 4, p. 1267-1275, 2 maio 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1556-4029.14720>.

MONTPETIT, S. Obtaining DNA from ammunition: a review, WIREs Forensic Science
MONTPETIT, S.; O'DONNELL, P. An optimized procedure for obtaining DNA from fired and unfired ammunition, *Forensic Science International: Genetics*. v. 17, p. 70–74, 2015.

MONTPETIT, Shawn *et al.* An optimized procedure for obtaining DNA from fired and unfired ammunition. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 17, p. 70-74, jul. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.012>.

MONTPETIT, Shawn *et al.* Obtaining DNA from ammunition: a review. **Wires Forensic Science**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 1-9, 26 jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/wfs2.1352>.

MOREIRA, Silvino I. *et al.* Capítulo 5 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS, Não use números Romanos ou letras, use somente números Arábicos., 2022, Lavras, Mg. **Resumo [...]**. Lavras, Mg: Ufla, 2022. p. 94-108.

MORET, Sébastien *et al.* Microscopic examination of fingermark residues: opportunities for fundamental studies. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 255, p. 28-37, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.05.027>.

MORET, Sébastien; SPINDLER, Xanthe; LENNARD, Chris; ROUX, Claude. Microscopic examination of fingermark residues: opportunities for fundamental studies. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 255, p. 28-37, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.05.027>.

MOUNTFORT, Katrina A. *et al.* Identification of Oxidation Products of Squalene in Solution and in Latent Fingerprints by ESI-MS and LC/APCI-MS. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 79, n. 7, p. 2650-2657, 8 mar. 2007. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ac0623944>.

MOUNTFORT, Katrina A. *et al.* Identification of Oxidation Products of Squalene in Solution and in Latent Fingerprints by ESI-MS and LC/APCI-MS. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 79, n. 7, p. 2650-2657, 8 mar. 2007. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ac0623944>.

MUNDORFF, Amy Z.; BARTELINK, Eric J.; MURAD, Turhon A. Sexual dimorphism in finger ridge breadth measurements: a tool for sex estimation from fingerprints. **Journal of Forensic Sciences**, v. 59, n. 4, p. 891-897, 2014.

MURAMOTO, Shin; SISCO, Edward. Strategies for potential age dating of fingerprints through the diffusion of sebum molecules on a nonporous surface analyzed using time-of-flight secondary ion mass spectrometry. **Anal Chem**, [S. L.], v. 87, n. 16, p. 8035-8038, ago. 2015.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **ASTM E1588-17: ASTM E1588-17. Standard practice for gunshot residue analysis by scanning electron microscopy/energy dispersive x-ray spectrometry**. [S. L.]: Nist, 2017.

NEVES, Luana Peres. **Análise morfométrica de impressões digitais com vistas à determinação do tempo de aposição do vestígio**. 2023. 69 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas: Modalidade Médica, Instituto de Ciências Biomédicas, Rio de Janeiro, 2023.

NICKLAS, J.A.; BUEL, E. Development of an Alu-based, real-time PCR method for quantification of human DNA in forensic samples. *Journal of Forensic Science*, 48(5):1-9, 2003

NOGUEIRA, T.L.S. *Apostila Avançada de Genética Forense*. Instituto For.Sci: Rio de Janeiro, 2020.

OLIVEIRA, T.P. *et al.* Evaluation of collection and extraction methodologies of latent fingerprints for military application. *Forensic Science International. Genetics Supplement Series*. v. 5, p. 474-475. 2015.

OONK, Stijn *et al.* Proteomics as a new tool to study fingermark ageing in forensics. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-11, 6 nov. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-34791-z>.

ORGANIZATION OF SCIENTIFIC AREA COMMITTEES (OSAC) FOR FORENSIC SCIENCE. **S-0019**: Standard Guide for Forensic Examination of Fibers. [S. L.]: Osac, 2022.

ORGANIZATION OF SCIENTIFIC AREA COMMITTEES (OSAC) FOR FORENSIC SCIENCE. **WK70036**: Standard Practice for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-Ray Spectrometry. [S. L.]: Osac, 2020.

OSTOJIC, L. *et al.* Qualitative and quantitative assessment of single fingerprints in forensic DNA analysis. *Electrophoresis*. v. 35, p. 3165-3172, 2014.

PAINE, M. *et al.* The effect of relative humidity on the effectiveness of the cyanoacrylate fuming process for fingermark development and on the microstructure of the developed marks. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 212, n. 1-3, p. 130-142, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.06.003>.

PASSOS, Elisangela de Andrade. **Métodos Instrumentais de Análise**. São Cristóvão/Se: Cesad, 2011.

PATTEN, Daphne R. *et al.* Predicting Fingerprint Age Based on Ozonolysis Kinetics of Unsaturated Triacylglycerol Degradation. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 95, n. 32, p. 12047-12053, 2 ago. 2023. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.3c01918>.

PITERA, M. *et al.* Fingermark visualisation on metal surfaces: an initial investigation of the influence of surface condition on process effectiveness. **Science & Justice**, [S.L.], v. 58, n. 5, p. 372-383, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2018.05.005>.

PLEIK, S. *et al.* Fatty Acid Structure and Degradation Analysis in Fingerprint Residues. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*. v. 27, p. 1565-1574, 2016.

POPA, Gheorghe *et al.* Method for fingerprints age determination. **Romanian Journal Of Legal Medicine**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 149-154, 2010. Romanian Society of Legal Medicine. <http://dx.doi.org/10.4323/rjlm.2010.149>.

POPOV, K.T. *et al.* Migration of latent fingerprints on non-porous surfaces: observation technique and nanoscale variations. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 275, p. 44-56, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.02.015>.

PRASAD, Elisha *et al.* Touch DNA recovery from unfired and fired cartridges: comparison of swabbing, tape lifting and soaking. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 330, p. 111101, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111101>.

PUCCI, Flavia Regina. **DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR EDS DA FASE SIGMA EM AÇOS INOXIDÁVEIS DÚPLEX ENVELHECIDOS**. 2017. 76 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Centro Universitário Fe, São Bernardo do Campo, 2017.

RADOJICIC, V. *et al.* Examination of factors that affect the recovery and analysis of DNA from spent cartridge casings, AAFS Proceedings: 67th Annual Meeting, Orlando, Florida, USA, 2015.

RAMOTOWSKI, R. Composition of latent print residue. In: Lee HC, Gaensslen RE (eds) *Advances in fingerprint technology*, 2nd edn. CRC, Boca Raton, FL, p 87–91, 2001.

ROBERTSON, J.; ROUX, C.. Transfer, Persistence and Recovery of Fibers. In: ROBERTSON, J.; ROUX, C.; WIGGINS, K. G.. **Forensic Examination of Fibres**. 3. ed. [S. L.]: Boca Raton: Crc Press, 2018. p. 109-462.

ROMAN, John K. *et al.* The DNA field experiment: a randomized trial of the cost-effectiveness of using DNA to solve property crimes. **Journal Of Experimental Criminology**, [s. l], v. 5, n. 1, p. 345-369, set. 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11292-009-9086-4>. Acesso em: 12 nov. 2023.

SAFERSTEIN, Richard *et al.* Evaluation of a Reflected Ultraviolet Imaging System for Fingerprint Detection. **Journal Of Forensic Identification**, United States Of America, v. 51, n. 4, p. 385-393, ago. 2001.

SANKHLA, M.S.; KUMAR, R. Identification of Criminal by using Touch DNA: A new Tool for Investigation in Forensic Science. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*. 2017.
SCHULZ, M. M. *et al.* Ninhydrin-dyed latent fingerprints as a DNA source in a murder case. *Journal of Clinical Forensic Medicine*, v. 11, n. 4, p. 202–204, 2004.

SEFSTROM, Carolina. **ELABORAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO PARA O ENSINO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL**. 2011. 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Curso de Bacharelado e Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

SGUAZZI, Giulia *et al.* Microbial DNA in human nucleic acid extracts: recoverability of the microbiome in dna extracts stored frozen long-term and its potential and ethical implications for forensic investigation. **Forensic Science International: Genetics**, [S.L.], v. 59, p. 102686, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2022.102686>.

SHARMA, Manish; SINGH, Devinder. Use of Scanning Electron Microscopy (SEM) In Forensic Entomology. **International Journal For Science And Advance Research In Technology**, [S. L.], v. 3, n. 1, p. 63-66, jan. 2017. Disponível em: <https://ijsart.com/Content/PDFDocuments/IJSARTV3I18207.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2024.

SINGH, Ashok K.. Experimental Methodologies for the Characterization of Nanoparticles. In: SINGH, Ashok K.. **Engineered Nanoparticles**: structure, properties and mechanisms of toxicity. [S. L.]: Academic Press, 2016. p. 125-170.

SONG, Wei *et al.* Detection of protein deposition within latent fingerprints by surface-enhanced Raman spectroscopy imaging. **Nanoscale**, [S.L.], v. 4, n. 7, p. 2333, 2012. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c2nr12030e>.

SU, Bin *et al.* Recent progress on fingerprint visualization and analysis by imaging ridge residue components. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, [S.L.], v. 408, n. 11, p. 2781-2791, 18 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00216-015-9216-y>.

SUTTON, R.; GRENCI, C.; HRUBE?OVÁ, Lucie. A Comparison on the Longevity of Submerged Marks in Field and Laboratory Conditions. **Journal Of Forensic Identification**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 143-156, jan. 2014.

SZABÓOVÁ, Žofia *et al.* GC–MS/MS method for age determination of fingerprints. **Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly**, [S.L.], v. 148, n. 9, p. 1673-1678, 5 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00706-017-1984-y>.

TAHTOUH, Mark *et al.* The detection and enhancement of latent fingermarks using infrared chemical imaging. **Journal Of Forensic Sciences**, [S. L.], v. 50, n. 1, p. 64-72, jan. 2005.

TAHTOUH, Mark *et al.* The detection and enhancement of latent fingermarks using infrared chemical imaging. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.I.], v. 50, n. 1, p. 64-72, jan. 2005.

TAHTOUH, Mark. **Reagents for infrared chemical imaging of fingerprints on difficult surfaces**. 2008. 256 f. Tese (Doutorado) - Curso de Science, University Of Technology Sydney, Sydney, Australia, 2008. Disponível em:
<https://opus.lib.uts.edu.au/bitstream/2100/1200/2/02Whole.pdf>. Acesso em: 15 out. 2023.

TAKAKU, Yasuharu; TAKEHARA, Sayuri; SUZUKI, Chiaki; SUZUKI, Hiroshi; SHIMOMURA, Masatsugu; HARIYAMA, Takahiko. In situ elemental analyses of living biological specimens using ‘NanoSuit’ and EDS methods in FE-SEM. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-10, 3 set. 2020. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-71523-8>.

TAMBUZZI, Stefano *et al.* How to Perform SEM/EDX Analysis on Bone? Procedural Aspects and Main Anthropological Applications. **Anthropology And Ethnology Open Access Journal**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 1-5, 2022. Medwin Publishers.
<http://dx.doi.org/10.23880/aeoj-16000178>.

TOZZO, Pamela *et al.* Touch DNA Sampling Methods: efficacy evaluation and systematic review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 24, p. 15541, 8 dez. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232415541>

VAN OORSCHOT, R.A.H. *et al.* Are you collecting all the available DNA from touched objects? *Int Congr Ser*, v:1239, p.803–807, 2003.

VERMELHO, L. *Caracterização Física e Química*, 2012.

WANG, Meng *et al.* NIR-induced highly sensitive detection of latent fingermarks by NaYF₄: yb,er upconversion nanoparticles in a dry powder state. **Nano Research**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 1800-1810, 28 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12274-014-0686-6>.

WEI, Qianhui *et al.* Recent advances in the chemical imaging of human fingermarks (a review). **The Analyst**, [S.L.], v. 141, n. 22, p. 6172-6189, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c6an01121g>.

WEYERMANN, Céline *et al.* Drug intelligence based on MDMA tablets data. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 177, n. 1, p. 11-16, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.10.001>.

WEYERMANN, Céline *et al.* Initial results on the composition of fingerprints and its evolution as a function of time by GC/MS analysis. **Journal Of Forensic Sciences**, [S. L.], v. 56, n. 1, p. 102-108, ago. 2010.

WICKENHEISER, R. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. *Journal of Forensic Sciences*, v. 47, p. 442-450, 2002.

WILLIAMS, Diane K. *et al.* Analysis of Latent Fingerprint Deposits by Infrared Microspectroscopy. **Applied Spectroscopy**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 313-316, mar. 2004. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1366/000370204322886663>.

WILLIAMS, G; MCMURRAY, H N; A WORSLEY, D. Latent fingerprint detection using a scanning Kelvin microprobe. **Journal Of Forensic Sciences**, [S. L.], v. 46, n. 5, p. 1085-1092, set. 2001.

WILLIAMS, Geraint; MCMURRAY, Neil. Latent fingermark visualisation using a scanning Kelvin probe. **Forensic Science International**, [S.L.], v. 167, n. 2-3, p. 102-109, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.08.018>.

WORLEY, Christopher G. *et al.* Detection of Visible and Latent Fingerprints Using Micro-X-ray Fluorescence Elemental Imaging*. **Journal Of Forensic Sciences**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 57-63, 22 dez. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2005.00006.x>.

XIN, Y. [Research Progress on Touch DNA on Cartridge Cases in Forensic Field. *Fa yi xue za zhi*, v. 37, p. 555-560, 2021.

XU, Y. *et al.* Design and manufacture of surface textures on gun cartridge cases to trap DNA material, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B:Journal of Engineering Manufacture*, in press.

YANG, Jun-Ho; YOH, Jack J.. Reconstruction of chemical fingerprints from an individual's time-delayed, overlapped fingerprints via laser-induced breakdown spectrometry (LIBS) and Raman spectroscopy. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 139, p. 386-393, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.027>.

YRKM, Sai *et al.* Advancing forensic science: Addressing challenges and embracing emerging technologies. **Forensic Science Today**, India, v. 8, n. 1, p. 001-005, dez. 2022.

ZADORA, G.; BROŹEK-MUCHA, Z.. SEM–EDX—a useful tool for forensic examinations. **Materials Chemistry And Physics**, [S.L.], v. 81, n. 2-3, p. 345-348, ago. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0254-0584\(03\)00018-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0254-0584(03)00018-x).

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Biologia Roberto de Alcântara Gomes



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto de pesquisa: **“Análises morfológicas, químicas e genéticas de impressões papilares aplicadas à prática forense.”**

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa acadêmica – nível Doutorado – que irá avaliar a recuperação de material genético (DNA) de impressões digitais latentes (não visíveis) depositadas em superfícies de estojos de munição deflagrados de diversos calibres (9mm, 7,62mm, .40, calibre 12 e .38). As pesquisadoras responsáveis, Dr^a Dayse Aparecida da Silva, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e a estudante Mestre Ludmila Alem, pretendem realizar um estudo com as seguintes características:

Objetivo do estudo: Avaliar a interação química e molecular de impressões digitais latentes depositadas em superfícies metálicas de interesse para a prática forense em função do tempo, para fins de identificação morfológica e molecular.

Benefícios aos participantes e para a sociedade: o indivíduo poderá não se beneficiar por participar deste estudo, mas ajudará os pesquisadores a obter informação para o desenvolvimento prático das perícias genéticas e papiloscópicas em locais de crime envolvendo armas de fogo.

Descrição dos procedimentos para coleta de dados: você será solicitado o manuseio de algumas munições dos calibres mencionados anteriormente durante alguns segundos e como na rotina, o municionamento do armamento que irá efetuar o tiro. Também será coletado um *swab* bucal (amostra de referência: amostra sabidamente conhecida deste voluntário) que consistirá em coleta de esfregaço da mucosa interna das bochechas com cotonete de algodão estéril. O processo é indolor.

Garantia de liberdade: Sua participação é totalmente **voluntária**. Você pode escolher não participar ou desistir a qualquer momento. Além disso, nenhum membro da pesquisa ou mesmo superior

hierárquico o constrangerá ou ordenará a participar do estudo, estando a participação subordinada à sua escolha individual.

Direito de confidencialidade e acessibilidade: Cada participante poderá ter acesso, a qualquer momento, ao seu próprio resultado. As informações relacionadas ao estudo são tratadas como confidenciais e servirão para a elaboração de literatura científica. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob a forma codificada, sem aparecer nenhum nome, para que o sigilo seja mantido.

Despesas e compensações: A sua participação no estudo não terá custo algum. As despesas porventura existentes serão de responsabilidade dos pesquisadores. Pela sua participação no estudo, você também não receberá nenhum valor ou compensação financeira.

Garantia de acesso aos pesquisadores: em qualquer fase do estudo você terá pleno acesso aos pesquisadores responsáveis: Ludmila Alem pelos telefones (21) 99543-9981 Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ. Av. São Francisco Xavier, 524 – Prédio Haroldo Lisboa da Cunha – Térreo – Laboratório de Diagnósticos por DNA. Tel: 21-2334-2183, ou através do e-mail: ludmila.alem@msn.com

Professora Dayse Aparecida da Silva, D.Sc. Professora Adjunta, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ. Av. São Francisco Xavier, 524 – Prédio Haroldo Lisboa da Cunha – Térreo – Laboratório de Diagnósticos por DNA. Tel: 21-2334-2183, email: dayse.a.silva@gmail.com.br.

Havendo necessidade, será possível, ainda, entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital Pedro Ernesto (HUPE), Boulevard 28 de setembro, 77, térreo - Vila Isabel Cep 20.551-030 - Rio de Janeiro - RJ, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, ou pelo telefone 2868-8253, de segunda-feira a sexta-feira das 09:00-12:00h e 13:00-17:00h, ou através do e-mail: cep-hupe@uerj.br.

CONSENTIMENTO

Rio de Janeiro, ____/____/____. Eu, _____ li o texto acima e compreendi a natureza e o objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão, e sei que qualquer problema relacionado será livre de custos para mim. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo e receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa.

Assinatura do voluntário _____ Idade _____

Assinatura do pesquisador _____

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido

	Nome do Processo:	Código:	Versão:	Página:
	Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia	---	1	1 de 6

	Universidade do Estado do Rio de Janeiro Procedimento Operacional Padrão (POP)			
Nome do Processo:				
Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia				
Objetivo Estratégico:				
Determinar parâmetros para a aferição da espessura de cristas dactiloscópicas				
Código:	Unidade Responsável:	Subunidade Responsável:	Versão :	Página
-----	IBRAG	Laboratório de Ciência e Tecnologia Forense	1	1 de 6

Sumário

I. PALAVRAS-CHAVE:	2
II. DICIONÁRIO DE TERMOS E SIGLAS:	2
III. OBJETIVOS:	2
IV. PROCEDIMENTOS:.....	3
V. CONTROLE DAS ALTERAÇÕES:	5
VI. CONTROLE DE APROVAÇÕES PARA USO:.....	5

Elaborado por:	Aprovado por:	Data da Aprovação:
Ludmila Alem	<i>Em análise</i>	29.02.2024 (previsão)

	Nome do Processo:	Código:	Versão:	Página:
	Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia	---	1	2 de 6

I. PALAVRAS-CHAVE:

- 1) Papiloscopia, impressão digital, morfometria, datação

II. DICIONÁRIO DE TERMOS E SIGLAS:

Termo/Sigla	Significado
Crista(s)	Refere-se às cristas datiloscópicas, linhas negras, relevos dérmicos que constituem as minúcias de uma impressão digital
Minúcias	Interrupções na continuidade de uma crista, ponto de mudança no formato da crista, gerando bifurcações ou outras conformações
Morfometria	É a descrição quantitativa dos achados geométricos de estruturas de qualquer dimensão. Neste protocolo, refere-se ao processo de medição (aferição) da espessura das cristas
Datação	Atribuir uma data, estabelecer com clareza quando foi produzido ou aconteceu determinado evento. Neste protocolo, refere-se a determinação do intervalo de tempo transcorrido entre a aposição da impressão digital na superfície e o presente momento no qual se realiza a análise

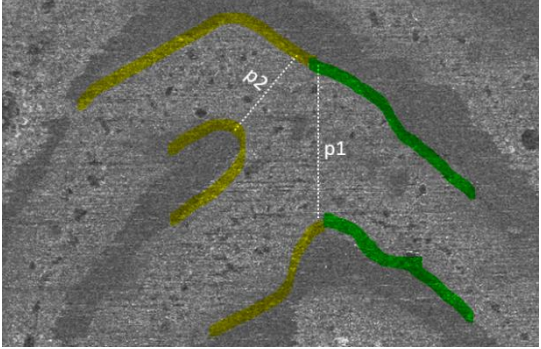
III. OBJETIVOS:

- Determinar parâmetros claros para a utilização da morfometria como metodologia para a estimativa de datação de impressões digitais
- Apresentar técnica para aferir a espessura das cristas datiloscópicas que gere resultados consistentes (reprodutíveis)
- Orientar a aplicação da abordagem morfométrica em Papiloscopia

Elaborado por:	Aprovado por:	Data da Aprovação:
Ludmila Alem	<i>Em análise</i>	29.02.2024 (previsão)

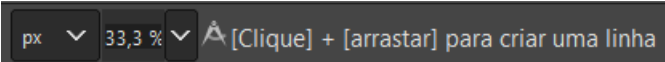
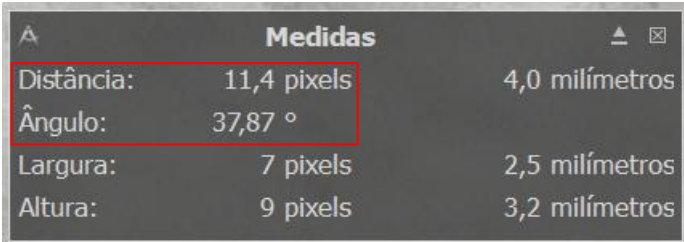
	Nome do Processo: Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia	Código: ---	Versão: 1	Página: 3 de 6
---	---	-----------------------	---------------------	--------------------------

IV.PROCEDIMENTOS:

Etapa	Descrição
01	Determine uma região específica da impressão digital para ser analisada. Pode ser adotada uma das três regiões constitutivas da morfologia da impressão digital (base, núcleo ou margem) ou ainda, uma região estratégica a critério do especialista.
02	Verifique na região selecionada a existência de minúcias que possam ser tomadas como referência para a aferição. O quantitativo de minúcias pode variar conforme a região selecionada e as próprias particularidades de cada impressão digital. Recomenda-se que sejam selecionadas minúcias que tenham sua estrutura bem definida, com os limites de suas bordas bem determinados. Caso na região selecionada não existam minúcias, mas apenas cristas contínuas, determine quais cristas serão utilizadas para a aferição.
03	Tendo determinado as minúcias que serão utilizadas como referência, elenque áreas estratégicas que serão aferidas. Recomenda-se que estas áreas estratégicas sejam áreas facilmente reconhecidas por qualquer especialista. Por exemplo, em uma minúcia do tipo “bifurcação”: Área estratégica 1 (p1) para a aferição é o ramo da crista que dá origem à bifurcação, que é uma área clara de mudança de morfologia na crista datiloscópica (área destacada na cor verde para a área destacada na cor amarela). Área estratégica 2 (p2) é um dos ramos da bifurcação, superior ou inferior, tomando como referência a região medial que marca a separação dos ramos da bifurcação. 
04	Abra a fotografia da impressão digital conforme determinado na etapa 02 no software GIMP GNU Image Manipulation Program.

Elaborado por: Ludmila Alem	Aprovado por: Em análise	Data da Aprovação: 29.02.2024 (previsão)
---------------------------------------	------------------------------------	--

	Nome do Processo: Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia	Código: ---	Versão: 1	Página: 4 de 6
---	---	-----------------------	---------------------	--------------------------

05	Acesse o menu “Ferramentas”, selecione a opção “Medidas” ou utilize o atalho “Shift + M” para ativar a ferramenta “Medidas”. Na barra inferior do programa, observe duas caixas de seleção que indicam a unidade que a medida será apresentada (caixa à esquerda) e o aumento (zoom) (caixa à direita).  Selecione o aumento desejado, o qual permita uma clara visualização das cristas dactiloscópicas e a unidade de medida desejada.
06	Posicione o cursor entre as extremidades da crista determinadas na etapa 03 (áreas estratégicas). Verifique que será gerada uma caixa de informações à direita da tela constando a medida aferida representada pela distância e um ângulo. O ângulo é representativo da posição que o cursor foi posicionado para realizar a aferição. 
07	Realize a etapa 6 para todas as minúcias selecionadas, registrando em uma tabela à parte a distância inicial (primeira distância obtida) e principalmente o ângulo gerado. O ângulo gerado será o parâmetro para o posicionamento mais acertado do cursor para que possa ser realizada a medida em diferentes impressões tendo como base a mesma posição, evitando erros no resultado em decorrência da variação do posicionamento do cursor.
08	Inicie a etapa de aferição das impressões digitais utilizando como referência a mesma região (etapa 01), as mesmas minúcias e áreas estratégicas (etapas 02 e 03) e o mesmo ângulo para cada área estratégica (etapa 06)

Elaborado por: Ludmila Alem	Aprovado por: Em análise	Data da Aprovação: 29.02.2024 (previsão)
---------------------------------------	------------------------------------	--

	Nome do Processo:	Código:	Versão:	Página:
	Análise Morfométrica aplicada à Papiloscopia	---	1	5 de 6

V. CONTROLE DAS ALTERAÇÕES:

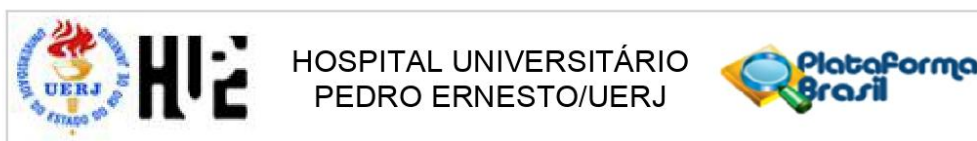
Nº da versão	Data	Tipo de alteração	Itens revisados	Responsável pela revisão

VI. CONTROLE DE APROVAÇÕES PARA USO:

Data da aprovação	Nome do responsável pela aprovação	Unidade/subunidade aprovadora:

Elaborado por:	Aprovado por:	Data da Aprovação:
Ludmila Alem	Em análise	29.02.2024 (previsão)

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética (continua)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e validação de metodologias moleculares para identificação de vestígios biológicos de locais de crime

Pesquisador: DAYSE APARECIDA DA SILVA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 54247521.8.0000.5259

Instituição Proponente: Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.190.076

Apresentação do Projeto:

Transcrição editada do conteúdo registrado do protocolo "Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547000" e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil.

Metodologias baseados em determinação do padrão de expressão de genes através da análise do mRNA se mostraram eficazes ao identificar diferentes tipos de células.

Dentre elas, a High Resolution Melting (HRM) que se baseia em distinguir marcadores moleculares específicos por caracterização de suas temperaturas máximas de fusão. O

objetivo desse projeto é desenvolver e validar método molecular para detecção de vestígios biológicos com base na metodologia HRM-RT-PCR. Para a pesquisa serão necessários voluntários para realizar uma doação de amostras biológicas (sangue, saliva, sêmen) e impressão digital. Para isso, serão coletados 2 mL de sangue, por meio de uma punção venosa periférica, swab oral, coleta de sêmen e impressão digital.

Objetivo da Pesquisa:

Estabelecer métodos baseados na análise molecular (DNA/RNA) para a detecção de vestígios biológicos coletados em locais sensíveis à atividade de perícia em locais de crime.

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

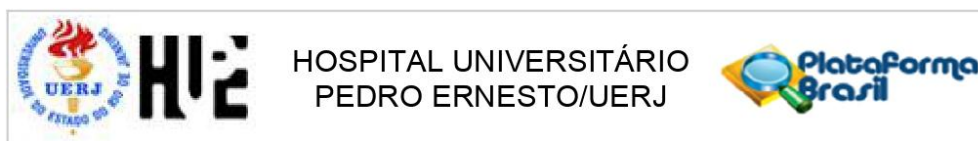
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep@hupe.uerj.br

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética (continua)



Continuação do Parecer: 5.190.076

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco está relacionado à punção venosa em voluntários e a possível constrangimento na coleta de sêmen e impressão digital. As possíveis desconfortos estão descritos nos TCLEs.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem estrutura permitindo a análise ética por parte deste comitê. A pesquisa está bem estruturada e o referencial teórico e metodológico estão explicitados, demonstrando aprofundamento e conhecimento necessários para sua realização. As referências estão adequadas e a pesquisa é exequível. Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos na pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram analisados os seguintes documentos de apresentação obrigatória:

- 1) Folha de Rosto para pesquisa envolvendo seres humanos: Documento devidamente preenchido, datado e assinado
- 2) Projeto de Pesquisa: Adequado
- 3) Orçamento financeiro e fontes de financiamento: adequado/apresentado
- 4) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Os termos de apresentação obrigatória foram adequadamente submetidos. A pesquisadora submeteu 4 TCLE (para coleta de sangue, saliva, sêmen e impressão digital) permitindo que os voluntários possam optar quais amostras irá fornecer.
- 5) Cronograma: Adequado
- 6) Documentos pertinentes à inclusão do HUPE: Adequado
- 7) Currículo do pesquisador principal e demais colaboradores: anexados e conforme as normas.

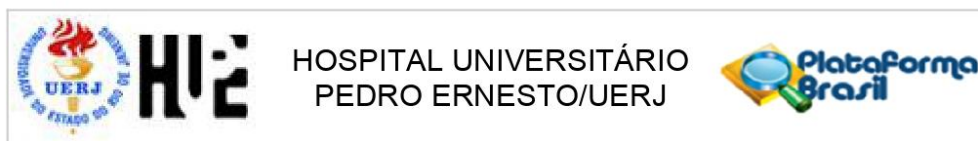
Os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todos dados necessários para apreciação ética e tendo sido avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos na pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética (continua)



Continuação do Parecer: 5.190.076

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547000.pdf	04/12/2021 11:18:06		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v2.pdf	04/12/2021 11:16:05	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Ass.pdf	26/11/2021 16:44:03	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Plataforma_Brasil_projeto_completo.pdf	26/11/2021 16:41:22	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Cronograma	cronograma.xlsx	26/11/2021 16:40:42	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Declaração de concordância	Concordancia_Dayse.pdf	24/11/2021 11:32:28	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Financiamento_PlataformaBrasil.pdf	24/11/2021 11:25:49	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	pesquisadores.pdf	23/11/2021 01:45:07	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_Institucional.pdf	23/11/2021 01:02:07	DAYSE APARECIDA DA SILVA	Aceito

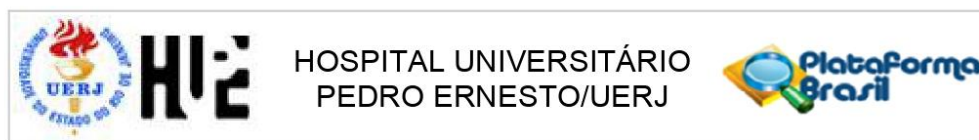
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética (conclusão)

Continuação do Parecer: 5.190.076

RIO DE JANEIRO, 30 de Dezembro de 2021

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Av. 28 de setembro, nº77 - CePeM - Centro de Pesquisa Clínica Multiusuário - 2º andar/sala nº 28 - prédio
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **E-mail:** cep@hupe.uerj.br

ANEXO B – Comprovação de publicação do 1º artigo

Forensic Science International: Genetics Supplement Series 8 (2022) 294–296



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsigss

Genetic profiling from 9 mm fired cartridge cases over 30 days

Ludmila Alem^a, Beatriz Cristina Mendes da Rocha Marques^b, Tatiana Lucia Santos Nogueira^c, Dayse Aparecida da Silva^{a,*}^a Forensic Science and Technology Laboratory, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^b Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^c Forensic Genetic Laboratory, Brazilian Army Institute of Biology, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Cartridge case
9 mm Ammunition
Touch DNA
STR

ABSTRACT

Fired cartridge cases are common materials found at crime scenes and, for the most part, are used for Forensic Ballistics analysis. We aimed to evaluate the feasibility of recovering DNA profiles from 9 mm cartridge cases over 30 days. Therefore, 27 fired cartridge cases were manipulated by three volunteers in total and analyzed after three-time intervals: 3, 8, and 30 days. Volunteers were asked to handle the ammunition as they would daily. However, they were not encouraged to hold and manipulate the ammunitions extensively, as this procedure does not represent a real-life situation. DNA samples were obtained with an E21 DNA Investigator kit, qPCR was performed with Investigator Quantiplex Pro RGQ kit, and Powerplex Fusion 6 C was used for STR analysis. Real-time PCR analysis showed that 85% of the 27 samples were degraded and no inhibition was detected. The DNA mean concentration was 0.3 pg/μl for each time interval, and the standard error was 0.1 pg/μl, 0.09 pg/μl, and 0.1 pg/μl for the three-time corresponding intervals. The Kruskal-Wallis test indicated $p = 0.6$, which meant no statistical differences between the samples analyzed. STR analysis resulted in a success rate of 16% for intervals of 8-days and a success rate overall of 7%. No DNA profile was obtained from the 3-and 30-day-old samples. Air relative humidity was 75% on the day of experimentation. Our results could contribute to understanding the factors affecting genetic profiles from fired cartridge cases: 3-day-old samples already showed 77.8% degradation. Once moisture catalyzes the metal oxidation processes, relative humidity and the metallic surface of cartridges may play an important role. We assume that time interval may not be the main factor regarding DNA analysis success, and low success rates are more likely to be obtained for real-life scenarios.

1. Introduction

Obtaining a DNA extract from touched surfaces that has enough quantity and quality to generate usable STR profiles is still a challenge in the forensic genetic field [1]. Among a great variety of surfaces of interest in criminal investigations, metal surfaces from fired cartridge cases (FCC) are particularly challenging since the surface itself may be a source of DNA degradation [2]. In the process of DNA transfer to a surface by direct contact, there are several factors to be considered: the individual's ability to shed cells [4], the type of surface, time of handling [5], pressure applied to the surface, the event situation itself [6], etc. In the case of FCC, the firing process has been previously investigated to provide some clarification regarding which variables may interfere with DNA typing success [7]. Besides that, every step - from the FCC collection at a crime scene sight to obtaining a DNA extract - represents a percentage of DNA loss. Numerous studies have been conducted in the

past regarding the feasibility of DNA profiling from FCC as shown by Montpetit [3] and suggesting improved methods for DNA collection and extraction. In this study, we aimed to evaluate the time effect on touch DNA samples recovered from FCC after 3, 8, and 30 days.

2. Materials and methods

2.1. Sample preparation

Three volunteers (two males and one female), military-trained personnel, participated in this study. Before participating, all volunteers were asked to fill an informed consent to authorize the use of biological samples in this study and were explained the purpose of this research. The volunteers were asked to load the ammunition into the firearm's magazine as they would in a normal routine. Each volunteer handled nine 9mm brass ammunition (CBC manufacturer). The time

* Corresponding author.

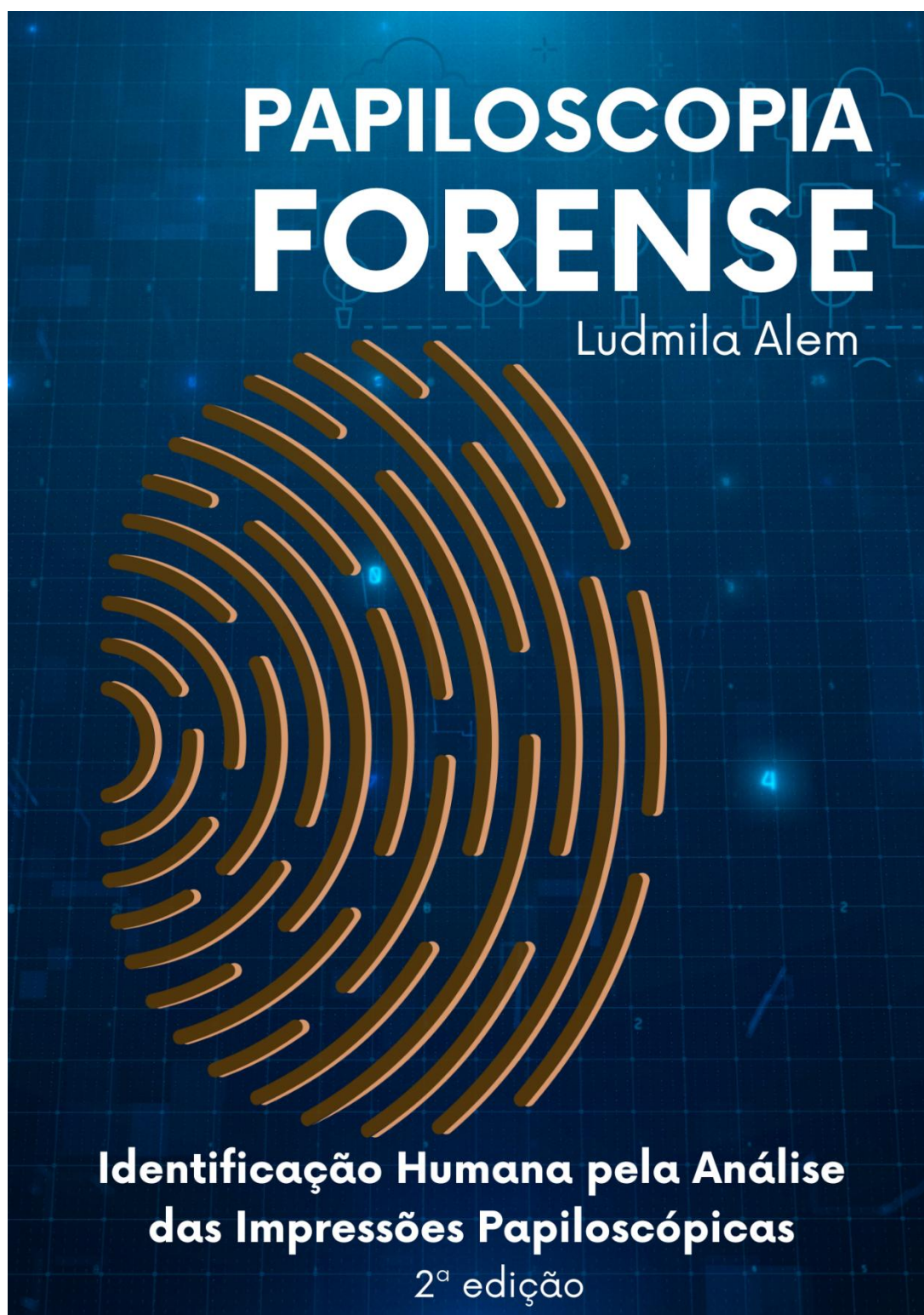
E-mail addresses: ludmila.alem@msn.com (L. Alem), dayse.aparecida.silva@uerj.br (D.A. da Silva).<https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2022.10.067>

Received 18 September 2022; Received in revised form 20 October 2022; Accepted 24 October 2022

Available online 25 October 2022

1875-1768/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

ANEXO C – Comprovação de publicação de 2º artigo – livro (continua)



ANEXO C – Comprovação de publicação de 2º artigo – livro (continua)**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Alem, Ludmila

Papiloscopia forense : identificação humana pela
análise das impressões papiloscópicas / Ludmila Alem.
-- 2. ed. -- Rio de Janeiro : Ed. da Autora, 2024.

Bibliografia.

ISBN 978-65-00-92119-9

1. Papiloscopia 2. Perícia (Exame técnico)

I. Título.

24-190590

CDD-363.258

Índices para catálogo sistemático:

1. Papiloscopia forense 363.258

Eliane de Freitas Leite - Bibliotecária - CRB 8/8415

CAPÍTULO 4

Protocolo Papiloscópico para a Técnica dos Pós

Autores: Brenda Evelyn O. L. Vilas Bôas
 Maiara L. de Carvalho
 Thiago L. W. Pires
 Dayse Aparecida da Silva
 Ludmila Alem

Ao nos remetermos à definição básica de “perícia” à qual define a atividade como **técnico-científica**, ou seja, a execução de um procedimento com base em conhecimentos científicos prévios, compreende-se a importância da aplicação de protocolos padrão em todos os exames periciais.

No levantamento nacional acerca das atividades periciais realizadas nas unidades oficiais de perícia (Diagnóstico da Perícia Criminal no Brasil), fica evidente a necessidade de uma padronização para o processamento de vestígios (Figura 54). À época, 59% das unidades de perícia não possuíam procedimentos padronizados para o processamento de vestígios. Em contraponto, o mesmo manual apontou que o tema mais abordado nas capacitações profissionais foi a perícia papiloscópica em locais de crime, seguidos pelo tema dos sistemas automatizados de identificação (AFIS).



Figura 54 – Percentual de Existência de Padronização de Procedimentos de Processamento de Vestígios nas Unidades Centrais de Criminalística.

Fonte: Adaptado de Secretaria Nacional de Segurança Pública/Ministério da Justiça – Diagnóstico da Perícia Criminal no Brasil (2012). Acessado em: <https://www.mpma.mp.br/arquivos/CAOPCEAP/Diagn%C3%B3stico%20Per%C3%ADcia%20Criminal%20no%20Brasil.pdf>

ANEXO C – Comprovação de publicação de 2º artigo – livro (continua)

Universidade Estadual do Rio de Janeiro
Laboratório de Ciência e Tecnologia Forense

***Protocolo Papiloscópico - Técnica dos Pós (2022)*****Autores:**

Brenda Evelyn O. L. Vilas Bôas

Maiara L. de Carvalho

Thiago L. W. Pires

Dayse Aparecida da Silva

Editado por:

Ludmila Alem

Questões concernentes ao **Protocolo Papiloscópico - Técnica dos Pós** podem ser dirigidas a:

Laboratório de Ciência e Tecnologia Forense - UERJ

Avenida Marechal Rondon, 381 - São Francisco Xavier, Rio de Janeiro

20950-311

(21) 99543-9981

labctforense.uerj@gmail.com

ANEXO C – Comprovação de publicação de 2º artigo – livro (conclusão)

CAPÍTULO 2

Estudo das Impressões Digitais no Campo da Pesquisa Científica

A Papiloscopia Forense é uma das áreas das Ciências Forenses amplamente estudada no contexto internacional e vem apresentando um crescimento no que diz respeito à pesquisa em nível nacional. Um dos fatores que tem permitido o avanço da pesquisa em Papiloscopia Forense são os editais de fomento específicos e/ou que contemplem a área Forense como o PRO-DEFESA (Programa de Apoio ao Ensino e à Pesquisa Científica e Tecnologia em Defesa Nacional), PROCAD DEFESA (Programa de Cooperação Acadêmica em Defesa Nacional), PROCAD Segurança Pública e Ciências Forenses, FAPERJ Forense e alguns editais FINEP com mais de 3 milhões de reais em verbas para o setor de Ciências Forenses, entre outros editais de menor porte que contemplaram em suas linhas temáticas a possibilidade da submissão de projetos nas diversas áreas das Ciências Forenses.

A pesquisa científica contempla de modo simplificado:

- ☛ **Pesquisa Básica:** objetiva a produção de conhecimento sobre determinada área, auxiliando na compreensão de determinados fenômenos e no desenvolvimento futuro de outras pesquisas. Não possui, a princípio, uma aplicação imediata ou prática. **Por exemplo:** compreender as transformações morfológicas que ocorrem com as cristas dos vestígios papiloscópicos quando presentes em uma superfície metálica de interesse pericial – os estojos de munição deflagrados. Esse conhecimento não resolverá de pronto a problemática da recuperação de impressões papiloscópicas nestas superfícies, mas, poderá contribuir para o desenvolvimento de técnicas de revelação adequadas futuramente, fornecendo aos pesquisadores – cientistas forenses – o entendimento sobre as particularidades que ocorrem naquele sistema específico.
- ☛ **Pesquisa aplicada:** objetiva a produção de conhecimento que poderá ser aplicado para a resolução imediata ou a curto e médio prazo de determinados problemas em setores específicos. **Por exemplo:** a produção nacional de um pó revelador para impressões digitais, vislumbrando a redução de custos para o setor da segurança pública e defesa nacional, bem como incentivando à indústria e fomentando a economia nacional. A

172

2. Análise morfológica de impressões papiloscópicas em estojos de munição deflagrados.

- * **Objetivo da pesquisa:** Avaliar a estrutura das cristas e sulcos transferidos para estojos de munição deflagrados antes e depois da realização do tiro, com vistas a compreender quais os efeitos do tiro sobre as impressões papiloscópicas neste cenário. Trata-se de uma pesquisa básica que visa fomentar futuras pesquisas no campo do desenvolvimento de técnicas de revelação para esse tipo de superfície (Figura 60).

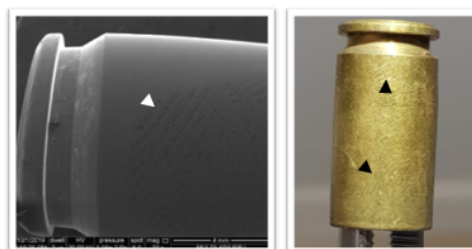


Figura 60 – Análise morfológica de impressões digitais em estojos de munição deflagrados.

À esquerda, imagem obtida a partir de microscopia eletrônica de varredura de estojo de munição antes da realização do tiro. É possível observar as cristas como relevos enegrecidos na imagem. À direita, fotografia direta de estojos de munição deflagrado, recuperado após a realização do tiro. É possível verificar vestígios de cristas nas regiões indicadas. Esse estojo não apresenta nenhum tipo de tratamento, apenas incidência de luz branca comum.

Fonte: Arquivo pessoal (2021).

3. Análise genética de impressões digitais em superfícies metálicas de estojos de munição deflagrados.

- * A pesquisa em questão foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto - CEP HUPE/UERJ – sob o número de parecer 1.790.600 (CAAE 48026615.6.0000.5259 e teve fomento contemplado pelo edital FAPERJ Forense

175

ANEXO D – Comprovação de publicação de 3º artigo

Forensic Science International: Genetics Supplement Series 8 (2022) 59–61



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsigss

Comparison of three DNA extraction methods for three different types of fired and unfired ammunition

Beatriz Cristina Mendes da Rocha Marques^a, Ludmila Alem^b, Larissa Silva de Melo^c, Tatiana Lucia Santos Nogueira^d, Dayse Aparecida da Silva^{b,*}^a Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^b Forensic Science and Technology Laboratory, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^c Federal University of Mato Grosso do Sul, Mato Grosso do Sul, Brazil^d Forensic Genetic Laboratory, Brazilian Army Institute of Biology, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Cartridge case
Fired ammunition
Touch DNA
DNA extraction
STR

ABSTRACT

When handling ammunition for gun loading, epithelial cells from the hands can become adhered to the metal surface, and this trace is a potential source of DNA. This work aimed to compare the efficiency of three DNA extraction methods from fired cartridge cases from three different types of firearms: a 12-gauge shotgun, a point 40 S&W pistol, and a 7.62 mm rifle. Nine volunteers were involved in this study handling 42 pieces of ammunition overall. The unfired ammunition was handled by a known good donor, and we used this data for comparison. DNA profiling was carried out with EZ1 DNA Investigator Kit for EZ1 Advanced XL automated DNA extraction, QIAmp DNA Investigator kit for a non-automated silica-based membrane column method, and direct lysis protocol for a non-automated in-house one. Samples were collected with 0.5 × 0.5 cm pieces of FTA filter paper moistened with distilled water. Quantiplex Pro RGQ kit and Fusion Powerplex 6C were used for genotyping samples. QIAmp DNA Investigator method resulted in the best number of alleles recovered for both conditions tested, both unfired and fired ammunitions: 77 % vs. 19.3 %, followed by the automated extraction (28.6 % vs. 4.3 %) and lysis protocol (0 % vs. 3.9 %). Degradation data from fired cartridge cases were 27 % for column method, 50 % for lysis protocol, and 87 % for EZ1 kit. Kruskal-Wallis test for mean DNA concentration from these samples returned $p < 0.05$, and Dunn's multiple comparison test indicated a significant difference between calibers 0.40 S&W and 12-gauge shotgun from lysis protocol method. We did not detect any other significant differences on the test. The 12-gauge shotgun cartridge cases resulted in a high number of alleles overall (56.8 %). The numerous steps for DNA extraction and purification in the column method may explain its better performance. Although the results obtained indicate that all methods be used for DNA extraction from this type of evidence, the silica-based membrane column method appears to be more efficient.

1. Introduction

In the last decade, the average number of offenses involving firearms was around 43,000 per year in our country. According to the latest national survey on violence (2019), over 30,000 homicides by firearms were registered only in that year. Fired cartridge cases are common materials recovered for forensic analysis. Even though cartridge cases may sustain fingerprints and genetic material that are transferred during handling time before the firing event, the most common analyzes in our country are still regarding forensic ballistics that does not provide necessarily a direct identification of a person of interest in that crime. In

2010, the national DNA database was implemented and since then over 100,000 genetic profiles from objects recovered at crime scenes, missing persons' relatives, human remains, and prisoners imprisoned for heinous crimes were included in the database. Understanding the efficiency of DNA recovery methods across different types of ammunition is a great addition to crime-solving approaches.

* Corresponding author.

E-mail addresses: ludmila.alem@msn.com (L. Alem), dayse.aparecida.silva@uerj.br (D.A. da Silva).<https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2022.09.022>

Received 19 September 2022; Accepted 27 September 2022

Available online 28 September 2022

1875-1768/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.