

# A elucidação de casos criminais a partir das análises forenses: uma análise das técnicas utilizadas mundialmente em crimes

L.R.M. Costa <sup>a,\*</sup>, I.V. Rodrigues <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Farmácia, Instituto de Ciências da Vida, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares, Governador Valadares (MG), Brasil

\*Endereço de e-mail para correspondência: [ivanildes.rodrigues@uff.br](mailto:ivanildes.rodrigues@uff.br)

Recebido em 13/11/2024; Revisado em 28/02/2025; Aceito em 26/03/2025

---

## Resumo

As análises forenses consistem em um conjunto de processos científicos e tecnológicos destinados a elucidar crimes, fornecendo suporte essencial para as investigações criminais. As evidências dos crimes são investigadas em laboratórios de criminalística a partir da atuação do perito criminal, por meio de técnicas voltadas para áreas como a toxicologia e genética forense. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo realizar uma análise das técnicas mundialmente utilizadas para a elucidação de crimes, bem como analisar os relatos criminais entre 2004 e 2024 da literatura. Para a elaboração da pesquisa, foram realizadas buscas por artigos científicos disponíveis nas bases de dados como Scielo, Science Direct, Google acadêmico, Europe PMC e PubMed, além de sites de órgãos oficiais e livros, entre os anos de 2004 a 2024. Os crimes mais frequentes foram os facilitados por drogas, sendo os benzodiazepínicos a classe farmacológica mais usada nestes crimes. A técnica mais utilizada na grande maioria dos artigos foi a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (CLAE-EM). Em geral, os países desenvolvidos relatam mais crimes e de forma completa, especificando não só como os crimes aconteceram, bem como os métodos analíticos utilizados. Foi possível perceber a falta de detalhamento dos casos e das técnicas forenses utilizadas em crimes ocorridos no Brasil, diferentemente dos relatos de outros países. Por fim, foi possível concluir a importância das análises forenses para a elucidação de crimes por meio da atuação dos peritos criminais e das técnicas analíticas aplicadas à área forense.

*Palavras-Chave:* Análises Forenses; Investigação de crimes; Toxicologia forense; Técnicas analíticas forenses; Crimes facilitados por drogas

---

## Abstract

Forensic analysis is a set of scientific and technological processes used to investigate and resolve crimes and provide an essential support for criminal investigations. Evidence of crime is examined in forensic laboratories through the work of criminalists using techniques in areas as toxicology and forensic genetics. The purpose of this work was to perform a worldwide analysis of crime reports in order to describe these crimes and techniques used to solve them. The research was carried out by searching scientific articles available in databases such as Scielo, Science Direct, Google Scholar, Europe PMC and PubMed, as well as official agency websites and books, between 2004 and 2024. In general, developed countries report a greater number of crimes and do so in a more detailed and comprehensive manner, specifying not only how crimes were committed but also analytical methods used. The most common crimes were those facilitated by drugs, and the most common technique used in overwhelming majority of articles was liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (HPLC-MS). Our study revealed a lack of information about criminal reports and forensic techniques used in Brazilian crimes, in contrast to those reports from other countries. Finally, it was possible to conclude the importance of forensic analysis in solving crimes through the work conducted by criminal experts and analytical techniques applied to forensic area.

*Keywords:* Forensics analysis; Crime investigation; Forensic toxicology; Forensic analytical techniques; Drug-facilitated crimes.

---

## 1. INTRODUÇÃO

As análises forenses são formadas por um conjunto de processos científicos e tecnológicos com a

finalidade de trabalhar na elucidação e resolução de crimes, servindo como suporte às investigações criminais [1]. As ciências forenses abrangem diversos ramos importantes como a balística forense, entomologia

forense, odontologia forense, patologia forense, antropologia forense, psicologia forense. Entre as principais áreas de análise utilizadas nos casos e crimes abordados nesta revisão bibliográfica, destacam-se a toxicologia forense e genética forense [2].

Os indícios de um crime são investigados em laboratórios de criminalística a partir da atuação do perito criminal, profissional que contribui recolhendo evidências e vestígios encontrados nos locais de crimes que serão importantes para as investigações, como materiais biológicos e objetos, realizando o ideal acondicionamento das evidências [1]. Em crimes que ocorreram mortes, o exame é designado como necropsia médico-legal, também conhecido como necropsia forense, que é um exame realizado *post-mortem* em casos de mortes suspeitas e criminais, bem como mortes violentas ou sem respaldo médico [3]. No Código de Processo Penal consta a atuação do perito criminal como o responsável por realizar a interpretação e análise das evidências do crime, auxiliando no entendimento e descrição do fato ocorrido [1].

Há descrições de que as análises químicas foram desenvolvidas na antiga Grécia para desvendar crimes de mortes por envenenamento, principalmente devido às questões políticas da época. Substâncias exógenas como aquelas que contêm arsênio eram utilizadas pelo médico grego Hipócrates, pelo filósofo grego Aristóteles e por Dioscórides. Essa substância apresentava efeitos medicinais, porém em maiores concentrações provocava envenenamentos que levavam a intoxicações, sendo facilmente utilizada em alimentos por possuir sabor adocicado [4]. Em 1773, o químico sueco Carl Wilhelm Scheele desenvolveu um teste químico que detectava a presença de arsênio em cadáver, introduzindo a toxicologia forense [2].

A toxicologia é um ramo das ciências que atua na análise de compostos químicos que podem ser responsáveis por causar danos ao organismo humano, compreendendo melhor os efeitos que essas substâncias podem causar. A toxicologia na área forense possui como principal objetivo identificar, qualificar e quantificar as substâncias químicas possivelmente utilizadas para fins criminais, levando os indivíduos à morte ou provocando prejuízos para as vítimas, sendo um importante aliado da justiça para os esclarecimentos e elucidação de crimes [1].

A Genética Forense também é uma área importante no ramo das ciências forenses, atuando no estudo do DNA e utilizando técnicas de biologia molecular para auxiliar em investigações criminais. Os primeiros relatos de análise de DNA com finalidade forense ocorreram na década de 1980 pelo geneticista

britânico Alec Jeffreys, que desenvolveu a tecnologia de polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição para identificação molecular eficaz na produção de padrões de DNA, moderadamente específicos para cada indivíduo, primeiramente utilizadas para análises de parentesco. Posteriormente, em 1985, a técnica foi usada por Jeffreys na investigação britânica de um caso de estupro e homicídio [5].

Nos dias atuais, a genética forense é muito utilizada em investigações criminais e possui aplicabilidades em outros tipos penais, sendo uma área importante na elucidação de crimes em diversos países, como o Brasil [5].

O presente documento aborda uma revisão bibliográfica de técnicas analíticas com aplicação forense utilizadas para elucidação de crimes descritos em bases de dados de artigos científicos nos últimos 20 anos realizando uma comparação entre eles destacando a influência da regionalização mundial determinada pelo Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de forma a traçar um paralelo entre os relatos em países desenvolvidos e emergentes para demonstrar que as análises forenses e suas técnicas são parte essencial do estudo de casos, a fim de obter resultados seguros, rápidos e eficientes para elucidação de crimes.

## 2. METODOLOGIA

Este trabalho é de cunho bibliográfico e foi produzido utilizando publicações científicas, a fim de contextualizar o trabalho. A pesquisa foi realizada de modo a contemplar o período de 2004 a 2024, e os termos “crimes elucidados por toxicologia forense/*crimes elucidated by forensic toxicology*”, “crimes facilitados por drogas/*drug-facilitated crimes*”, “análises forenses/*forensic analysis*”, “investigação de crimes forenses/*forensic crime investigation*” e “toxicologia forense/*forensic toxicology*” foram utilizados para consulta nas bases de dados Pubmed®, Scielo®, Google acadêmico®, Science Direct® e Europe PMC®, e também em livros de química analítica e toxicologia forense entre os meses de janeiro de 2024 a julho de 2024. Foram incluídos no estudo artigos e publicações que descrevem casos criminais que foram analisados por técnicas de toxicologia forense e genética forense. Foram excluídos artigos que se tratavam de estudos de técnicas forenses que não especificaram os casos forenses estudados, ou estudos de casos forenses que não especificaram as técnicas utilizadas para elucidação dos crimes. Tomando como apoio dezessete artigos científicos publicados em periódicos nacionais e internacionais, que contemplam o objetivo do estudo, foi possível então, descrever e detalhar as técnicas descritas conforme a literatura científica bem como realizar uma

análise comparativa entre os crimes e técnicas abordadas pelos autores.

### 3. ANÁLISES FORENSES E SUAS ESPECIFICIDADES

As análises forenses possuem como principal finalidade auxiliar em investigações judiciais, principalmente na área criminal. Dentre as subáreas que atuam nessas análises podem ser destacadas a Toxicologia Forense e a Genética Forense [6]. A análise se inicia pela perícia criminal, órgão processual da persecução penal, e a partir dessa análise monta-se um laudo pericial buscando elucidar dúvidas a respeito de um ato criminoso. As evidências produzidas em investigação policial são divididas em evidências circunstanciais subjetivas e evidências materiais, produzidas por meio de evidências consistentes encontradas pelos peritos oficiais [7]. A perícia é chamada no local onde aconteceu, ou poderia ter acontecido um crime [6] e o ambiente do local de crime deve estar bem preservado para que não ocorram alterações que possam dificultar as investigações, sendo o perito criminal o responsável pela produção de elementos de evidência, atuando desde o serviço em campo na coleta de vestígios, ao trabalho em laboratório. Ele também é responsável por executar a montagem do laudo pericial amparado por conhecimentos científicos e técnicos [8], que será analisado pelo magistrado a fim de formar sua opinião sobre o caso [7].

A necropsia forense, é realizada a fim de coletar evidências que serão analisadas posteriormente para a investigação e elucidação do caso. O responsável legal da necropsia pode ser o médico legal ou outro profissional designado e este exame é uma das principais partes de um processo de investigação policial para averiguação de mortes suspeitas, sendo essencial para o sistema da medicina legal, visto que colhe informações cruciais para o entendimento do caso na busca por um possível responsável [3].

O exame perinecropsópico, realizado pelos peritos criminais na própria cena do crime, é uma parte essencial para a necropsia forense, e tem a finalidade de analisar a cena como um todo e colher informações, como posição do cadáver e o estado do corpo, além das amostras biológicas deixadas pelo autor do crime [9].

Além disso, durante o exame, algumas análises são importantes para o melhor entendimento do caso, como a presença de armas e seu posicionamento em relação ao cadáver, a posição do corpo e seu estado geral, se há lesões externas e em quais partes do corpo, e qual o tipo da lesão encontrada. Outro ponto

importante a ser analisado é o exame das mãos, visto que, em casos em que a vítima tenta se defender, as mãos normalmente são utilizadas para se proteger e podem conter vestígios biológicos importantes. Portanto, para que as informações essenciais para o estudo sejam colhidas da forma correta, deve ser feita uma análise geral do ambiente e do corpo da vítima, com a finalidade de colher todas as amostras biológicas encontradas e tudo o que for relevante para o estudo do caso. Após a finalização do exame, o cadáver é levado para uma análise mais detalhada que é realizada pelos médicos legais, o chamado exame necropsópico [9]. Com o desenvolvimento de novas tecnologias para extração de analitos foi possível o uso de uma variedade de amostras biológicas. As matrizes biológicas amplamente utilizadas são sangue, cabelo, urina, fluidos da cavidade oral, suor, humor vítreo e mecônio [10]. Após os exames supracitados, todas as amostras coletadas para a investigação, biológicas ou não, passam por análises forenses que conseguem obter resultados importantes sobre aquelas amostras. Por isso, primeiramente elas são preparadas, para posteriormente serem analisadas pelos métodos utilizados pela área forense, que serão descritos a seguir.

### 4. TÉCNICAS PARA PREPARO DE AMOSTRAS

As técnicas de preparo de amostras são utilizadas para extrair/separar os compostos a serem analisados, designados como analitos de interesse, da matriz que contém compostos que não são de interesse presentes na amostra. O preparo de amostra deve ser realizado a fim de minimizar as interferências no processo analítico que pode ser causado por fatores endógenos ou exógenos. As amostras para uso em análises genéticas devem ser coletadas do ambiente e passar por um pré-tratamento que retira a contaminação exógena antes que sejam realizadas posteriores análises [11].

As técnicas analíticas possuem boa seletividade e sensibilidade, porém podem apresentar limitações, que são reduzidas com um bom preparo de amostras. Desta maneira o preparo de amostras permite que a substância a ser analisada esteja mais concentrada e com menos contaminantes, o que facilita a detecção e quantificação da substância de interesse [10], isolando-a da matriz biológica [12].

Nos crimes citados nos artigos avaliados, para preparo de amostras foram utilizadas as técnicas de extração sortiva em fase de tecido (ESFT), extração líquido-líquido (ELL), extração em fase sólida (EFS) e extração por *headspace*.

A ESFT é uma técnica que realiza a microextração de compostos de um material, por meio do uso de solventes, podendo ser feita de forma simples, rápida, eficaz e sem

custos muito elevados [13]. Ela é capaz de extrair compostos de diversos tipos de materiais como materiais biológicos, alimentares e ambientais [14], usando um menor volume de solventes e amostras, trabalhando com matrizes complexas sem a necessidade de fazer etapas de pré-tratamento. Esse método de extração utiliza de material sólido para adsorver compostos específicos e analíticos da amostra a ser analisada, e combina os mecanismos exaustivos da Extração por Fase Sólida (EFS) e Microextração em Fase Sólida (MEFS) no mesmo dispositivo, com uso de sorvente flexível e estável [12,13].

Na ELL, os compostos presentes em amostras líquidas são transferidos de forma seletiva para outra fase líquida, chamada de fase aceptora, por apresentarem solubilidades diferentes na fase aceptora, com isso há uma separação das possíveis substâncias interferentes nas análises [12,13].

Além da ELL, a EFS também é utilizada para análises forenses como uma técnica eficiente que ocorre pela adsorção dos compostos de interesse à fase sólida, que posteriormente irá eluir com o uso de um solvente apropriado. A EFS pode ser realizada com vários tipos de fase sólida que permitem uma ampla extração dos compostos [12,13].

Já a extração por *headspace* é uma técnica bastante utilizada em análises de substâncias alcoólicas e outros compostos voláteis, que se baseia no princípio de que as substâncias voláteis presentes em uma amostra em recipiente hermeticamente fechado e em temperatura constante, determinam um ponto de equilíbrio entre a amostra e a fase gasosa, que estará acima da amostra (denominado *headspace*) [12]. Portanto, os compostos voláteis serão vaporizados e separados do restante da amostra (compostos não voláteis) e serão analisados pelo processo da cromatografia gasosa para a separação das substâncias [15].

Embora existam outras técnicas de extração que podem ser utilizadas no preparo de amostras como microextração em fase sólida (MEFS), microextração em fase líquida (MEFL), precipitação de proteínas e extração por fluido supercrítico (FS) dentre outras [12], elas não serão detalhadas, uma vez que não foram citadas pelos artigos avaliados e suas particularidades foram recentemente discutidas por Lomba e colaboradores [21].

## 5. TÉCNICAS DE ANÁLISE DE AMOSTRAS

Após o preparo das amostras coletadas, elas serão posteriormente analisadas com finalidade de identificar as substâncias químicas possivelmente

utilizadas em fins criminais, e em determinados casos, passam por análises genéticas. Nos artigos selecionados foram utilizadas técnicas cromatográficas e de genética forense para elucidar os crimes relatados e todas as técnicas citadas serão descritas a seguir.

### 5.1. Métodos de separação e identificação de amostras - Cromatografia para separação de analitos em amostras forenses

A cromatografia é um método de separação de substâncias químicas de uma amostra que acontece em uma coluna cromatográfica ou em placa por meio da interação de analitos com uma fase estacionária (líquida ou sólida) e com uma fase móvel (líquida, gasosa ou de fluido supercrítico) [16].

A técnica é classificada como cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida (CL) de acordo com o eluente (fase móvel) utilizado para o processo, ou seja, as fases móveis dessas cromatografias são respectivamente um gás inerte ou um líquido [16].

As substâncias são injetadas na coluna ou placa cromatográfica e serão eluídas pela ação da fase móvel, passando por um processo de separação pela afinidade determinada pelas interações intermoleculares, em sua grande maioria, entre o analito e a fase estacionária e/ou fase móvel, até que cheguem ao detector. O tempo que essas substâncias demoram para chegar ao detector é designado como tempo de retenção ( $t_r$ ), e ele pode ser influenciado pela afinidade delas pela fase estacionária principalmente por meio de interações intermoleculares, do tipo ligações de hidrogênio, dipolo e/ou dispersões de London. Portanto, quanto maior a afinidade pela fase estacionária, maior é o  $t_r$  pela coluna cromatográfica, e quanto menor a afinidade, menor o  $t_r$ . Com isso, compostos diferentes terão  $t_r$ 's distintos. Quando os compostos atingem o detector, é exibido um sinal indicativo da quantidade proporcional à substância presente [12]. Os detectores que podem ser utilizados nas análises forenses podem estar acoplados ou não ao processo de separação e podem operar por técnicas de espectrometria de massas, ionização por chama e de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier que serão detalhados posteriormente na Seção 5.1.1. De acordo com sua forma física, as cromatografias podem ser classificadas como planar ou em coluna, sendo a planar dividida em cromatografia em papel, em camada delgada e centrífuga, e a cromatografia em coluna dividida em cromatografia líquida, gasosa e de fluido supercrítico [17].

As técnicas cromatográficas descritas nos artigos selecionados foram as de cromatografias em camada delgada, líquida de alta eficiência e gasosa, e estão portanto, detalhadas abaixo.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica utilizada para separação de substâncias e amostras complexas [18], de forma rápida, simples e barata, que pode ser usada com a finalidade de separar compostos específicos [19], por meio da adsorção líquido-sólido [17]. Além disso, é um método de separação adequado para análises de alto rendimento, porém sua eficiência de separação é normalmente baixa [20], não sendo uma técnica muito utilizada atualmente pela pouca especificidade e seletividade que fornece [21].

As fases estacionárias da CCD são normalmente camadas finas orgânicas ou inorgânicas, como a celulose ou a sílica, e as fases móveis são soluções orgânicas com ampla gama de polaridade. No processo de separação, a placa de CCD é colocada em contato com a fase móvel pela borda, e por força capilar, ocorre a eluição ascendente. As interações intermoleculares (ligações de hidrogênio, dispersões de London e/ou dipolo) entre as moléculas do analito, a fase móvel e a fase estacionária fazem com que os analitos se movam em taxas diferentes na placa CCD, ocorrendo a separação dos compostos químicos, que são identificados por meio do valor do fator de retenção -  $R_f$  (do inglês, *retention factor*) que é calculado pela razão da distância de migração do analito e a distância de migração da fase móvel [20].

Em alguns casos, os analitos podem estar invisíveis na placa e são detectados através de iluminação óptica, como luz ultravioleta (UV), ou por meio de coloração com reagente químico ou biológico. Caso a revelação não tenha sido com reveladores com potencial destrutivo, os analitos de interesse podem ser coletados para extração com solvente, a fim de recuperar os componentes adsorvidos. Após a realização da filtração e concentração, o espectrômetro de massas pode ser utilizado para caracterizar os analitos extraídos [20] e este processo será detalhado posteriormente na Seção 5.1.1.

Já na cromatografia em coluna, a fase móvel utilizada para arrastar os compostos pela coluna pode estar na forma líquida ou gasosa, de forma que o processo analítico pode determinar os analitos presentes. O emprego das amostras na forma solúvel é necessário para que as substâncias possam interagir com a fase estacionária, mesmo após a solubilização delas na fase móvel [16].

Nessa técnica, uma amostra percorre uma coluna cromatográfica contendo uma fase estacionária (sólido finamente dividido, ou líquido ligado a um suporte sólido), e seus componentes são arrastados pela coluna por uma fase móvel constituída de um eluente, ou por um gás inerte. Pela ação da interação, os componentes

da amostra se separam, devido à afinidade com a fase estacionária da coluna, ou com a fase móvel, ou até mesmo com a temperatura da coluna, como no caso da cromatografia gasosa. O grau dessas interações, regidas majoritariamente por interações intermoleculares já citadas, gera três diferentes para cada analito na coluna, ocorrendo a separação das substâncias de interesse [16].

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) é a técnica mais atualizada e eficiente de cromatografia em coluna para separação de amostras. Além de ser altamente sensível [22] possui aplicabilidade em áreas forenses e é uma das técnicas mais utilizadas para esse fim. É vantajosa na utilização de compostos não voláteis, termicamente sensíveis ou de alto peso molecular, visto que normalmente são analisadas em condições de temperatura suaves e sem derivatização, diferentemente de outras técnicas, embora algumas colunas suportem temperaturas levemente aumentadas [16].

Para análises de CLAE são utilizadas colunas recheadas com partículas entre 3 e 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro e finos filmes de fase estacionária, que permitem que a separação seja mais eficiente comparada à cromatografia em coluna clássica. Para isso, é utilizada uma bomba de alta pressão para que ocorra a eluição da fase móvel. Desta maneira, o sistema da CLAE possui um ou mais reservatórios para a fase móvel, contendo uma ou mais bombas que direcionam o deslocamento da fase móvel e amostra, através do injetor, e da coluna de separação. O equipamento também possui um forno para controlar a temperatura da coluna e proporcionar uma melhor separação, um ou mais detectores, e por fim o computador para coleta e interpretação dos dados [16].

O fundamento da separação e identificação de compostos na CLAE é o mesmo que da cromatografia em coluna clássica, como já mencionado seguindo processos de retenção analítica, como partição ou adsorção regidos pelas interações intermoleculares entre analito, a fase móvel e a fase estacionária. A determinação da presença de analitos específicos é feita a partir do resultado das diferentes velocidades de migração de cada analito no sistema cromatográfico e pode ser comparada com padrões já conhecidos [16].

Outras técnicas de cromatografias em colunas podem ser utilizadas na área forense como a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE ou UPLC do inglês *Ultra Performance Liquid Chromatography*) ou cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (CLUAE ou UHPLC do inglês *Ultra High Performance Liquid Chromatography*), que possuem os mesmos princípios da CLAE. A principal diferença entre as três técnicas é a utilização de colunas cada vez menores e partículas de fase estacionária cada vez mais finas, aumentando sua

resolução, detectabilidade e rapidez do método de análise. Além disso, é utilizado um menor volume de solvente, conferindo menores gastos [23]. Entretanto, a instrumentação específica para estas análises necessita de uma taxa de aquisição elevada e possui custo superior ao equipamento de CLAE convencional [24].

A utilização de CLUE trouxe um avanço para a separação de compostos químicos em solução, proporcionando análises mais eficientes e rápidas [23]. A diferença que o tamanho dessas partículas trás está relacionada com a eluição dos analitos em bandas mais concentradas e estreitas, o que resulta em uma maior resolução e sinais cromatográficos mais intensos, reduzindo o tempo necessário para a análise e trazendo mais eficiência [25].

O acoplamento dessas técnicas com a espectrometria de massas é uma estratégia comumente utilizada para confirmação da identidade química da substância analisada, configurando assim uma ferramenta analítica mais potente e versátil [26] e será detalhado na Seção 5.1.1.

A cromatografia gasosa (CG) é uma das técnicas mais utilizadas para separação de substâncias químicas e pode ser utilizada para determinar analitos variados em matrizes complexas, mantendo uma boa resolução, além de ser um método de separação sensível e muito eficiente. Os analitos podem estar na sua forma líquida, gasosa ou sólida, porém devem ser voláteis ou compostos que podem ser volatilizados e que sejam termicamente estáveis [27].

Embora o tr possa fornecer informações importantes para a identificação das substâncias encontradas, é necessário confirmação com detectores mais específicos, uma vez que analitos diferentes podem apresentar mesmos tr's, além da possibilidade de o resultado possuir interferências térmicas, por exemplo. Outra forma de auxiliar o resultado, caso outro tipo de detector não possa ser utilizado, é analisar a amostra em fase estacionária com polaridade diferente [28].

Muitas vezes, análises de CG não são suficientes para identificar todos os compostos da amostra, uma vez que não consegue identificar amostras líquidas não voláteis ou termolábeis, desta maneira a CLAE deve ser utilizada como importante ferramenta forense para complementar as análises de CG [16].

O processo de injeção inicia o uso da técnica, e deve ser capaz de introduzir a amostra na fase móvel sem que ocorra dispersão, evitando sinais cromatográficos alargados ou divididos. No injetor, a amostra sólida ou líquida precisa ser convertida para fase gasosa instantaneamente sem decomposição térmica e, por isso, a temperatura no injetor precisa ser

controlada, para que na sequência, seja transportada para a coluna, que deve ser colocada em um forno já aquecido [15].

Existem diferentes modos de injeção de amostras, porém os mais utilizados são as injeções *Split/Splitless*, que são próprias para colunas capilares. O modo *Splitless* é mais adequado para amostras em nível traço e para amostras semi-voláteis. Nesse modo a amostra integralmente é retida na cabeça da coluna. Já no modo *Split* um volume maior de amostra pode ser injetado, pois depois da vaporização da amostra apenas uma parte dela vai para a coluna, o restante é descartado como resíduo pela válvula *split* que permanece aberta o que faz com que seja dividida entre a coluna e o *split vent* [15].

Após injetada, a amostra vai para a coluna cromatográfica para que ocorra a separação dos componentes da amostra. A maioria das separações é altamente dependente de temperatura e seu controle melhora a precisão da medida do sinal cromatográfico. Por essa razão, na cromatografia gasosa é fundamental que a coluna esteja instalada em um forno de temperatura bem controlada [15].

As substâncias ou analitos da amostra irão fluir pela coluna cromatográfica por meio de interações intermoleculares entre analito e fase estacionária e à medida que se transformam em gases, são arrastados pela fase móvel (gás inerte) e dirigidos ao detector ligado à parte final da coluna, que deve ser escolhido conforme o tipo de amostra a ser analisada, considerando a resolução dos sinais cromatográficos e a eficiência da coluna para os analitos de interesse [15].

Em alguns casos a injeção pode acontecer por *headspace*. Durante o uso da técnica, parâmetros como agitação e temperatura devem ser controlados devido à influência direta no equilíbrio térmico entre as fases líquida e gasosa. A injeção por *headspace*, como mencionamos na seção 4, não exige um pré-tratamento da amostra tornando-a mais eficiente, além de conservar a coluna cromatográfica e evitar a contaminação do injetor [15].

Após a separação cromatográfica, o fluxo de gás que vem da coluna, contendo os compostos separados, passa através de um detector, que cria um sinal elétrico proporcional à quantidade do material eluído em forma de sinais cromatográficos com área proporcional à sua massa, podendo ser feita a identificação qualitativa e quantitativa dos compostos de interesse [15] de forma parecida ao que ocorre na cromatografia líquida.

#### 5.1.1. Métodos de detecção após separação de amostras

A detecção mais comumente utilizada nos artigos utilizados nesta pesquisa, tanto em CL quanto em CG, ocorreram principalmente por um detector de

espectrometria de massas acoplado ao cromatógrafo. Além da espectrometria de massas, nas análises forenses utilizadas para elucidação dos crimes reportados nos 17 artigos também foram utilizados os detectores de ionização por chama e de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.

A Espectrometria de Massas é uma técnica que atua bem em conjunto com as cromatografias, por isso normalmente elas são utilizadas acopladas uma à outra. O espectrômetro atua na determinação das massas de átomos e moléculas, sendo essas informações úteis na determinação da identidade de espécies de interesse a serem analisadas [26].

O espectrômetro de massas (EM) é um equipamento que pode ser configurado para identificar apenas as massas de interesse, que serão selecionadas na máquina [12] e é utilizado principalmente em conjunto com outras técnicas, como cromatografia, mas pode ser utilizado separadamente para a identificação de compostos, porém com uma dificuldade maior em obter resultados sem interferências [29].

Esse método se destaca por sua alta especificidade e sensibilidade química [30] e é baseado na ionização molecular e posterior fragmentação em íons de diferentes valores de razão massa-carga ( $m/z$ ) [31] que são identificados e quantificados na amostra investigada.

Em EMs menos atualizados, o pré-tratamento da amostra deve ser feito para que aumente a sensibilidade e resolução. Mesmo em EMs mais atuais, as amostras precisam passar por pré-tratamentos já descritos na seção 4, sendo usualmente realizada uma etapa de separação para que nem todas as moléculas entrem simultaneamente na fonte de ionização, melhorando a sensibilidade do método, visto que o sinal fica menos sujeito aos efeitos de matriz. Porém, com os novos EMs de alta resolução, há a necessidade do tratamento prévio mínimo ou nulo da amostra, visto que massas interferentes são separadas com mais facilidade pelo maior poder de resolução de analisadores de massa [29].

Além disso, com o passar do tempo, o EM foi sendo modificado a fim de melhorar sua sensibilidade e especificidade, podendo ser utilizado não só para a identificação de compostos, como também para a quantificação deles [29].

Com o aprimoramento das técnicas, foi possível aumentar a seletividade de métodos analíticos, utilizando dois ou mais sistemas de EM combinados, chamando-se EM sequencial ou *tandem MS*. O aumento da sensibilidade acontece devido à seleção de um íon precursor específico do composto no primeiro EM, posterior fragmentação desse íon em uma célula

de colisão, e em sequência é realizada a seleção de um fragmento específico no segundo EM [32].

Quando acoplada às CG ou CL, os componentes da amostra analisada são inicialmente introduzidos no cromatógrafo que realiza a separação desses componentes, e em seguida, eles serão introduzidos na fonte de ionização do EM de forma individual, a fim de gerar os íons para que no analisador eles sejam selecionados. Após a seleção, eles serão encaminhados para detecção e quantificação. As formas de ionização mais utilizadas no momento do acoplamento CLAE-EM, são Ionização por Eletrospray (ESI, do inglês “*Electrospray Ionization*”), Ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI, do inglês “*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*”) e Ionização por Fótons à Pressão Atmosférica (APPI, do inglês “*Atmospheric Pressure Photon Ionization*”), sendo a ESI a mais utilizada no acoplamento CLAE-EM [26], principalmente por poder analisar uma variedade de moléculas pequenas e grandes, devido a sua capacidade de formar cargas múltiplas [32].

A ESI forma íons na pressão atmosférica, e não por vácuo. Assim, a amostra é pressurizada em tubo capilar de aço inox exposto a uma diferença de potencial (aplicase voltagens entre 3.000 e 5.000 volts) fazendo com que o líquido venha a emergir do tubo à pressão atmosférica em forma de vapor. As gotículas formadas passam pelo processo de dessolvatação e os íons gerados fluem para o EM induzidos pelos efeitos da força de interação eletrostática e pelo vácuo. Após a ionização do efluente da coluna cromatográfica, ele será direcionado para um analisador de massas [26].

Os analisadores de massas atuam na separação dos íons por meio da relação da razão massa carga ( $m/z$ ) destes íons. Os analisadores de massas podem ser baseados em setores elétricos e magnéticos, porém os mais utilizados são os analisadores quadrupolo, *ion-trap* também chamado armadura de íons e tempo de voo (TOF, do inglês “*time of flight*”) [26]. Dentre os tipos de analisadores descritos os utilizados nas análises forenses encontradas nos artigos foram o quadrupolo e o TOF.

O analisador tipo quadrupolo é simples, fácil de manusear, de menor custo e apresenta uma boa linearidade em análises quantitativas. Ao chegar ao detector, os íons são direcionados ao analisador do tipo quadrupolo e os íons de peso molecular íntegros e massa definida ou não, chegam ao quadrupolo e são enviados ao detector. É muito comum encontrar analisadores conhecidos como Triplo Quadrupolo (QqQ) onde três analisadores quadrupolo são acoplados em sequência. Nestes analisadores, os íons que chegam ao primeiro quadrupolo (Q1) são designados como íons precursores, e podem ser selecionados em Q1 e levados para a célula de colisão, denominada como segundo quadrupolo (Q2), onde são colididos com gás inerte de alta energia cinética

e, em seguida, fragmentados. Esses fragmentos passam para o terceiro quadrupolo (Q3) para serem enviados seletivamente para o detector. O sinal obtido no detector do íon produto selecionado em Q3, gerado a partir de um íon precursor específico selecionado em Q1, é denominado transição de massa. Os EMs mais atuais conseguem escanear e detectar várias transições de massa em uma mesma análise, portanto se detecta muitos analitos em uma mesma amostra [32].

Em um sistema do tipo TOF, a operação se baseia na mensuração do “tempo de voo” de um íon no EM. Na fonte de ionização, os íons são extraídos e acelerados rapidamente por um campo elétrico em um tubo longo (*drift tube*), até atingirem o detector. A velocidade do íon acelerado é medida e seu resultado é proporcional à raiz quadrada de sua  $m/z$ , e inversamente proporcional à massa. Devido ao conhecimento das proporções do tubo e a energia cinética dos íons, o cálculo da  $m/z$  pode ser realizado [26]. Quando o TOF é utilizado, ocorre uma emboscada para os íons até que eles sejam retidos em regiões determinadas e definidas por campos magnéticos e eletrostáticos, por exemplo. Em seguida, esses íons serão encaminhados para o detector, onde haverá o acesso a informações específicas sobre a substância encontrada, como sua estrutura, para que seja feita uma comparação de espectros com estruturas já conhecidas e guardadas em bibliotecas padrão. A análise também pode ser feita com a determinação do tempo de viagem pelos tubos de voo, visto que moléculas menores passam por ele mais rápido do que moléculas maiores, sendo então mais uma informação importante sobre os íons analisados, gerando alta precisão de massa por analisadores TOF [32].

Os analisadores ortogonais de introdução dos íons (o-TOF) possibilitam uma melhor resolução devido ao aperfeiçoamento no controle do espalhamento inicial de energia e distribuição dos íons, corrigindo as variações na energia cinética ou na posição do íon que podem acontecer na etapa de aceleração. O uso da geometria ortogonal (o-TOF) também auxilia na melhora da resolução, pois os íons são produzidos continuamente na fonte de ionização, sofrem aceleração e são focalizados com lentes apropriadas. Em seguida, uma aceleração pulsada ortogonal (perpendicular) é aplicada ao movimento dos íons, que adquirem velocidades independentes das velocidades adquiridas pela aceleração na fonte [26].

A detecção desses analitos produz um cromatograma com sinais cromatográficos específicos para cada analito encontrado, portanto a quantidade de sinais formados se refere à quantidade de substâncias encontradas, representando a transição de massa específica detectada pelo EM. Contudo, a área sob a

curva formada para cada analito identificado estabelece qual a concentração daquela substância na amostra, visto que são proporcionais [32].

Após a obtenção dos sinais cromatográficos, há uma forma específica de quantificar cada um deles, que pode ser feita pela comparação com espectros de padrões internos. Os padrões internos são amostras-padrão já analisadas anteriormente e de forma precisa, que são utilizadas para obter concentrações conhecidas dos analitos. Ou seja, cada analito possui sua amostra-padrão com essas concentrações pré-definidas. Portanto a análise de determinada amostra é feita a partir da comparação do PAR (razão entre a área do analito e a área do padrão interno) da amostra com uma curva de calibração, produzida a partir dos PAR das amostras-padrão e das suas concentrações conhecidas [32].

O acoplamento de técnicas mais utilizado para análises forenses na detecção/quantificação de compostos é a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *tandem* (CLAE-EM/EM). É uma técnica que necessita de mais atenção e por isso requer indivíduos treinados para que seja feita da forma devida, além de ter altos custos de aquisição, operação e manutenção [33].

Ela possui boa seletividade e precisão, porém para que a técnica seja eficiente é necessário averiguar a boa calibração dos equipamentos e realizar a separação cromatográfica de compostos isobáricos, por exemplo, visto que o EM não consegue distingui-los [32].

Técnicas de cromatografia líquida de ultra-eficiência também podem ser acopladas à espectrometria de massas por quadrupolo com tempo de voo (CLUE-EM-qTOF) e possui vantagens como altas resolução, sensibilidade e precisão e uma ampla faixa de varredura. Além disso, pode ser utilizada para identificar isômeros, evitar falsos positivos por meio da massa precisa, distribuição isotópica e espectro de massa característico de EM/EM [34]. Outras vantagens são os volumes reduzidos de solventes necessários para a execução da técnica e diminuição do tempo de análise resultando em redução de gastos com materiais e resultados mais rápidos. Além disso, há a possibilidade de analisar mais de um composto durante o mesmo ensaio a fim de identificar analitos diversos em cada amostra analisada [35].

Também a CCD pode estar acoplada ao EM, entretanto há uma dificuldade de aplicação, visto que as moléculas do analito permanecem adsorvidas no leito de gel de CCD após a separação, ou seja, não ocorre a eluição dos analitos na placa por fluxo de gás ou líquido. Desta maneira, as moléculas do analito devem ser primeiramente separadas para que o acoplamento dessas técnicas seja eficiente [20].

O detector mais utilizado em cromatografia gasosa é o detector de ionização por chama (FID, do inglês “*Flame Ionization Detector*”) [36] que além de ser muito sensível,



gera menos ruídos e uma ampla faixa de linearidade [32]. Ele é um detector universal que responde a praticamente todos os compostos orgânicos, e a intensidade da resposta depende do número de átomos de carbono oxidáveis presentes na molécula. Ao passarem pelo detector, misturados com o gás transportador, os analitos são queimados em uma chama formada pela reação do hidrogênio com o oxigênio do ar [37], esses analitos perdem um elétron e se tornam ionizados [38]. Um eletrodo mede a corrente elétrica criada pelos elétrons, que é amplificada e direcionada a um computador de exibição [37]. A magnitude da corrente é diretamente proporcional à quantidade de substância presente na amostra [38], tendo sensibilidade limitada à faixa de micrograma por mililitro [37].

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês “*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*”) também pode ser utilizada para análise e detecção de biomoléculas como proteínas e lipídeos em amostras de soro, permitindo a coleta de mais de um espectro em uma mesma amostra, integrando inúmeros biomarcadores potenciais em uma única assinatura espectral, trazendo mais sensibilidade e especificidade para o método. É um método de fácil execução, rápido e confiável [39]. É uma técnica utilizada para que o espectro infravermelho das amostras, sejam elas em forma sólida, líquida ou gasosa, possa ser obtido em forma de absorvância ou transmitância. Este método auxilia na identificação de materiais orgânicos ou inorgânicos, dentre outros materiais, usando a luz na região de absorção do infravermelho e formando bandas de absorção, que de acordo com as regiões de picos, podem caracterizar e diferenciar resultados específicos da substância correspondente a aquela característica estrutural obtida [40].

O espectro FTIR de uma amostra biológica é como uma impressão digital biométrica, visto que fornece um espectro único da amostra [39], e são caracterizados por sinais em que a amplitude e a posição de cada um representam informações como intensidade e substância correspondente, respectivamente [41].

## 5.2. Genética Forense

O ácido desoxirribonucléico (DNA, do inglês “*Deoxyribonucleic acid*”) é a molécula que possui o conteúdo genético dos seres humanos em toda sua formação. As informações presentes no DNA de indivíduos de mesma natureza possuem pequenas variações que os diferem, chamadas de polimorfismos [42]. A genotipagem é o processo que diferencia os

polimorfismos, capazes de diferenciar um animal de outro [43].

Na genética forense, as investigações das amostras biológicas e de vestígios podem ser feitas tanto com o DNA nuclear, quanto com o mtDNA (DNA mitocondrial). O mtDNA é separado e distinto do genoma nuclear e é principalmente utilizado quando o DNA nuclear das amostras não é suficiente para a tipagem, como em amostras que estão mais sujeitas a decomposição. Ao contrário do DNA nuclear, o mtDNA possui um maior número de cópias por célula, por isso possui mais chances de manter sua integridade em situações de degradação de amostras [44].

A identificação de espécies humanas e não humanas por meio da análise de DNA é fundamental na ciência forense e nas investigações criminais [45]. Os fluidos biológicos contêm DNA e são importantes para as investigações forenses pois revelam perfis biológicos de indivíduos e podem auxiliar na identificação de possíveis culpados em casos criminais. As amostras biológicas podem ser utilizadas em quantidade mais escassa e podem ser preservadas para casos de necessidade de uso posterior [46].

O genótipo compreende a constituição genética de um organismo, com todos os genes localizados nos cromossomos, além dos fatores de herança citoplasmática, enquanto o fenótipo compreende as características observáveis do genótipo e do ambiente em que o indivíduo está inserido [48].

Os genes do DNA carregam as informações necessárias para que ocorra a síntese de moléculas de RNA (ácido ribonucleico) mensageiro e, conseqüentemente, a síntese de proteínas. Eles atuam na expressão das características de um organismo e as versões diversas de um gene, chamadas de alelos. Os alelos determinam as características observáveis nos genes, e cada organismo possui dois alelos para cada gene, um em cada cromossomo (sequências de DNA que carregam informação genética). Cada cromossomo possui uma molécula de DNA associada às proteínas, que mantém a estrutura do cromossomo e auxiliam no controle de atividades dos genes presentes no DNA [48].

A fenotipagem do DNA forense é um método que prediz as características específicas de indivíduos obtidas por meio da extração do DNA em amostras biológicas humanas, que são coletadas por peritos criminais em cenas de crime. Este mecanismo prediz a possível aparência física de indivíduos desconhecidos em cenas de investigação criminal por meio de uma amostra de DNA [47] a partir de um paralelo genótipo-fenótico, uma vez que a expressão fenotípica das características de um indivíduo depende do genótipo, de condições ambientais e da interação do genótipo com o ambiente [48].

### 5.2.1. Marcadores genéticos e métodos de detecção

Os SNP's (*Single Nucleotide Polymorphism*) em português, polimorfismo de nucleotídeo único, são variações de base única em uma sequência de DNA [49], entre indivíduos de mesma natureza [50], que são usados em análises forenses para testes de ancestralidade [49], e outras análises genéticas [51]. Os SNP's são formados por mutação e herdados por herança mendeliana, estando ou não relacionados a formação de diferenças fenotípicas [50].

Há métodos que são utilizados para a detecção de SNP's, sendo mais comumente utilizada a Reação de Polimerase em Cadeia (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) [52] e a genotipagem por eletroforese capilar. A técnica de PCR pode ser utilizada para detectar, por amplificação, qualquer fragmento de DNA (ou indiretamente RNA), que seja conhecido [53]. O fragmento que contém o SNP a ser analisado será, por meio dessa técnica, amplificado com iniciadores específicos, purificado e tratado com enzimas de restrição que reconheçam somente um dos alelos. Em seguida, os fragmentos serão separados por eletroforese, e os alelos serão diferenciados por tamanho [54]. Embora a RFPL (*Fragment Length Polymorphism Restriction*) já tenha sido usada para análises de SNP's atualmente não tem sido aplicada devido a sua baixa precisão. Tecnologias mais recentes para genotipagem de SNP são baseadas em sequenciadores automáticos (termocicladores). A separação dos fragmentos realizada por eletroforese é facilitada devido aos produtos de PCR serem marcados por corantes fluorescentes. Desta maneira, o fragmento a ser analisado será amplificado e separado dos fragmentos de DNA em função do seu peso molecular que podem ser observados em cores distintas devido a marcação dos fluorocromos [54].

Os STR (*Short Tandem Repeats*), que pode ser traduzido de maneira genérica para o português como repetições de sequências curtas, contém entre 2 e 10 bases e também são marcadores genéticos se apresentando altamente polimórficos e multi-alelicos. Devido a isso, os STRs são muito utilizados em testes de paternidade em múltiplos loco STR, sendo que o cálculo de pareamento para um possível resultado pode ser realizado a partir da distribuição de frequências alélicas nas amostras analisadas [55].

A análise de STR possui características importantes como a fácil execução, rapidez do processo [56], além de ter baixo custo e ser considerada padrão-ouro para a identificação de linhagens celulares humanas [57]. A pesquisa desses marcadores ocorre por meio da pesquisa em bancos de

dados com perfis de DNA já realizados ou por métodos de isolamento para biologia molecular [58].

Existem dois bancos de dados para a criação de perfil STR basal: o banco de células de trabalho e o banco de células mestre. Para a criação dos bancos de células já citados anteriormente, há a possibilidade de utilizar as células restantes do material doado e multiplicá-las. Portanto, os perfis de DNA STR realizados posteriormente por esses bancos de células vão ser utilizados para comparação com os perfis STR basais de materiais doados pela primeira vez. A fim de conferir segurança para o procedimento, deve ser realizada uma análise confirmatória do perfil de DNA STR de cada banco de células, após sua expansão. Se a conferência da primeira e da segunda análise resultar em mais de 80% de equivalência entre os perfis DNA STR dos bancos (*Master e Working*), com o perfil principal do material do doador original, pode-se considerar a veracidade das células [57].

Outras técnicas que trabalham com a genética forense podem ser utilizadas a fim de investigar os casos forenses e analisar os vestígios encontrados. Algumas dessas técnicas são utilizadas para determinar o perfil forense do indivíduo investigado, e uma delas é o sequenciamento massivamente paralelo, método de alto rendimento, que atua na determinação de uma parte da sequência de nucleotídeos do genoma pesquisado, por meio do sequenciamento de DNA de maneira rápida de marcadores já citados, como STRs e SNPs, em uma mesma reação [59].

Portanto, essa técnica utiliza de ferramentas específicas para realizar uma predição estatística dos fenótipos das amostras a serem analisadas, a fim de obter dados genéticos para centenas de loco em um mesmo ensaio [60]. Para que o sequenciamento seja feito, há tecnologias e sistemas específicos para isso, como analisadores de DNA e o sistema Ion Torrent™, muito utilizado para análise de SNP, assim como o MiSeq System illumina, muito utilizado para análise de STR e SNP [49].

O método de sequenciamento possui limitações como o tempo e os custos para realização, devido ao custo elevado das máquinas e dos materiais usados. A análise de dados, gestão do banco de dados para comparação de resultados, extração e isolamento de DNA, entre outros, são processos que precisam de tempo, principalmente quando se utiliza mais de um sistema para que seja feita toda a análise [49].

Em relação às suas vantagens, o método possui boa sensibilidade, principalmente por conseguir trabalhar com amostras reduzidas de DNA, e amostras que passaram por alguma degradação. Além disso, há uma automatização dos processos e disponibilidade de plataformas

computacionais que auxiliam o processo de execução da análise [61].

### 5.2.2. Outras técnicas utilizadas para análise de DNA

Em crimes em que o DNA humano não pode ser obtido, são utilizadas evidências de DNA não humano para restringir o escopo da investigação e fornecer pistas para o caso. A identificação de amostras por espécies desempenha um papel fundamental em muitos campos, como entomologia forense e identificação forense de animais selvagens [45].

Durante estudos de casos forenses, as amostras coletadas para a investigação e identificação humana (HID) podem estar contaminadas por células de animais por meio do frequente contato dos humanos com animais ou produtos que possuem origem animal, podendo conter tanto o DNA humano quanto de animais. Por isso, se torna importante para a análise forense a identificação humana e a identificação de espécies animais que podem ser fonte de contaminação da amostra analisada, visto que essa contaminação pode gerar sinais inespecíficos em locos gênicos diversos, havendo necessidade de determinar se o sinal inespecífico se deve ou não ao DNA de algum animal, já que se trata de uma HID. Além disso, evidências que apontam o envolvimento humano podem não ser obtidas devido a processos de degradação ou por ser uma mistura complexa, assim se torna necessário que sejam colhidas mais informações sobre as amostras trabalhadas, sendo benéfico para investigações criminais em alguns cenários de casos forenses [62].

Os métodos que trabalham com a HID, utilizam oligonucleotídeos espécie-específicos (SSOs, do inglês *species-specific oligonucleotides*) e RFLP para a identificação de espécies animais em amostras biológicas de crimes forenses. Normalmente, a identificação de espécies animais pode ser feita utilizando citocromo B (Cytb) ou citocromo C oxidase subunidade I (COI) no DNA mitocondrial. São métodos que identificam espécies animais que estejam associadas a um HID em uma amostra, podendo ser utilizadas amostras de DNA em pequena quantidade. A identificação humana é uma prioridade de investigação, por isso, em casos que o DNA humano e o DNA animal estejam misturados e não possam ser analisados por análises sequenciais, visto que há uma amplificação de ambos os DNAs, há uma possibilidade de que a análise não seja realizada [62].

Além dos métodos já citados, a metilação de DNA também pode ser usada para fornecer informações a respeito do fluido biológico analisado, podendo servir de pistas para o melhor entendimento das

circunstâncias que envolveram o caso, como por exemplo, a identificação de tecidos e características fenotípicas. A metilação do DNA é um tipo de marcação epigenética específica de uma macromolécula estável e, desta maneira, analisar um gene com essa característica como biomarcador pode ser atraente na área forense uma vez que podem ser realizadas identificações de material biológico com base na metilação de DNA [46].

A metilação do DNA está relacionada com processos de manutenção cromossômica, estabilidade genômica, *imprinting* genômico, entre outros processos envolvidos no desenvolvimento humano. A análise da metilação de DNA é altamente sensível e específica, de perda mínima de material. A execução da técnica pode ser feita utilizando-se protocolos padrão de análise de DNA, com resultado seguro e eficiente, podendo ser analisados mais de um tecido em um mesmo ensaio. Assim, a identificação de material genético presente em cenas de crimes com base na metilação mostra-se vantajosa uma vez que é crucial a identificação desses materiais nas cenas de crime [46].

Por fim, a análise do RNA mensageiro (mRNA) também auxilia na identificação de fluidos biológicos a fim de investigar e estudar casos forenses. Para essa análise, a técnica de amplificação por PCR pode ser utilizada, gerando alta sensibilidade e fornecendo informações sobre a expressão genética de forma múltipla [63].

Uma vez que a expressão de mRNAs específicos se modifica entre as espécies de células, o ensaio pode ser utilizado para detectar a presença de fluidos biológicos específicos em uma amostra, podendo revelar a natureza de vestígios presentes nos esfregaços, como por exemplo, esfregaços de unha do suspeito em que podem ser observados marcadores cutâneos, marcadores de mucosa vaginal, pele e sangue. Essa análise pode identificar a origem de manchas de fluido corporal encontradas, que podem ser um achado importante para esclarecimentos durante investigações de agressão sexual, por exemplo [63].

## 6. UMA ANÁLISE DO PANORAMA MUNDIAL DE CRIMES E TÉCNICAS

Ao realizar buscas entre o período de 2004 a 2024, foram encontrados apenas dezessete artigos científicos abordando elucidação de casos criminais onde eram descritas as técnicas utilizadas para a elucidação de tais crimes (Tab. 1).

Dentre os artigos encontrados foi possível observar que a maior parte dos relatos ocorreram em países desenvolvidos (Tab. 2), segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), considerando-se o *ranking* do Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) [111].

O surgimento da Criminalística ocorreu pelo trabalho desenvolvido por Hans Gross a fim de sistematizar o uso da ciência para solucionar crimes, porém não há na literatura a data da primeira edição desse trabalho, podendo ter ocorrido por volta de 1870, 1883 ou após 1890. Após o surgimento da

criminalística, essa área estava mais voltada para atividade de polícia, estando mais distante do meio acadêmico e passando por uma fase decadente [80].

**Tabela 1.** Artigos científicos selecionados para a análise.

País	Tipo de crime	Referências
Brasil	Sumiço de uma criança	(Portal G1, 2022)
	Intoxicação por uso de drogas e álcool, levando a morte.	(Campelo, Caldas, 2010)
	Investigação de morte natural ou crime	(Bomfim et al, 2023)
Dinamarca	Crimes facilitados por drogas (sexual)	(Johansen, 2017)
	Crimes facilitados por drogas	(Wanget al, 2018)
EUA	Intoxicação por xilometazolina - acidente vascular cerebral hemorrágico.	(Banás et al, 2023)
	Agressão sexual	(Tozzo et al, 2020)
	Morte violenta, estupros, agressão sexual, assassinatos, roubo, ameaças, incêndios culposos, crime obsceno	(Choung et al, 2021)
França	Crimes facilitados por drogas	(Pepin, 2010)
	Crimes facilitados por drogas	(Chèze; Villain; Pepin, 2004)
	Crimes facilitados por drogas	(Chèze et al, 2005)
Holanda	Crime de agressão, levando a morte.	(Ralf, Kayser, 2021)
Índia	Crimes facilitados por drogas (sexual)	(Jain, et al, 2024)
Itália	Crimes facilitados por drogas (roubo e agressão sexual)	(Volonnino et al, 2023)
	Uso de álcool e/ou drogas no trânsito	(Carfora et al, 2018)
	Agressão sexual	(Cortellini et al, 2020)
Tailândia	Crimes facilitados por drogas	(Krongvorakul, 2017)

**Tabela 2.** IDH dos países das publicações selecionadas e a quantidade de artigos por país \* Ranking de IDH(ONU) (REF ONU).

Países desenvolvidos	Ranking *	Total	Países emergentes	Ranking *	Total
Estados Unidos da América (EUA)	20	3	Brasil	89	3
França	28	3	Tailândia	66	1
Holanda	10	1	India	134	1
Itália	30	3			
Dinamarca	5	2			
Total parcial		12	Total parcial		5
Total = 17					

Os países emergentes enfrentam maiores dificuldades em investimentos e atuação forense, podendo prejudicar diretamente na produção de relatos completos de crimes ocorridos nesses países.

A Medicina Legal no Brasil nasceu com grande influência da escola francesa, com primeira publicação nacional em 1814, e as ciências forenses emergiram de investigações individuais feitas em centros acadêmicos e universidades, por médicos legistas [80].

O Regime Militar no Brasil influenciou negativamente no desenvolvimento das atividades forenses do país, e investiu mais em métodos de repressão à população do que em tecnologias científicas e de investigação. Além disso, o Golpe Militar que ocorreu em 1964 causou danos nas condições de trabalho e salário dos profissionais forenses no Brasil, levando ao enfraquecimento de evidências objetivas e periciais [80].

O Brasil atualmente possui acesso a tecnologias na área das ciências forenses, e o avanço tecnológico é visto principalmente na polícia federal. Quando comparada a países desenvolvidos, é notório um atraso [81], visto que na maior parte dos estados brasileiros a perícia criminal continua ligada à polícia, e em determinadas situações é dirigida por autoridades policiais, trazendo danos para as atividades periciais [7]. Alguns problemas relacionados à análise de crimes no Brasil se dão pelo arquivamento de inquéritos de crimes devido à falta de evidências [81]. Uma pesquisa de Montovani (2018) mostrou que enquanto nos Estados Unidos, entre 1965 e 2016, a média de casos esclarecidos era de 66%, no Brasil foi de apenas 34% [82].

No Brasil, os bancos de DNA passaram a funcionar de forma consistente quando a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG) foi regulamentada em 2013,

embora as iniciativas de desenvolvimento da área tivessem acontecido anteriormente com a Rede Nacional de Genética Forense e com a oferta do FBI (*Federal Bureau Investigation*) para nosso país integrar-se ao banco de dados do CODIS (*Combined DNA Index System*) [5]. O Ministério da Justiça de São Paulo investiu em insumos, treinamentos para capacitação e tecnologias para novos Laboratórios de Genética Forense em estados brasileiros que não possuíam essa estrutura, como Piauí, Roraima, Tocantins e Sergipe [83] e atualmente todas as unidades federativas contam com esses laboratórios e 22 deles compartilham perfis entre si por meio do BNPG (Banco Nacional de Perfis Genéticos) [5].

Comunidades Forenses Internacionais afirmam que a criação de um Órgão Central para as Ciências Forenses é uma medida imprescindível para o fortalecimento das atividades forenses, porém no Brasil não há indícios de propostas para a concepção desses órgãos. Também existem falhas na realização de pesquisas de certificação, acreditação de laboratórios por controle de qualidade e tecnologia dos Órgãos Periciais dos Entes Federados do Brasil, sendo que deveriam ser realizadas por serem parte importante da análise das Comunidades Forenses [80]. Além disso, no país, não há uniformidade organizacional e administrativa dos órgãos periciais [7].

Na Tailândia há uma escassez de peritos forenses, falta de financiamento para a área forense e estruturação de autoridades da justiça e órgãos de polícia forense [84], porém há um esforço para a padronização internacional das práticas forenses que tem sido realizado continuamente [85].

Na Índia, instalações forenses foram criadas para investigações de casos criminais no campo e nos laboratórios, mas não têm sido proporcionais ao aumento da carga de trabalho dos casos de criminalidade. Há esforços para gerar mais infraestrutura na força de trabalho e máquinas, ciência e tecnologia na área forense da Índia, porém devido ao número de habitantes do país e alta demanda criminal nos laboratórios forenses, existe uma necessidade maior de cientistas capacitados. Além disso, da média de 4500 funcionários de ciências forenses, cerca de 3000 são especialistas e oficiais de relatórios, e os demais são apenas auxiliares. Devido ao baixo número de profissionais, corpo docente especializado e infraestrutura laboratorial, o ensino na Índia também é prejudicado mesmo que algumas universidades ofereçam treinamentos e especializações na área [86].

Para cada 100 mil habitantes na Índia, há 0,33 cientistas forenses, um número muito baixo para o fluxo de casos criminais e preparação de relatórios. Em contrapartida, em países desenvolvidos, há em média de 20 a 50 cientistas para 100 mil habitantes, dependendo da demanda de crimes [86].

Diferentemente dos países emergentes, os países desenvolvidos possuem maior incentivo financeiro para as funções voltadas às ciências forenses. Na Itália, os Institutos de Medicina Legal de departamentos maiores são também os locais onde são realizadas necrópsias legais, feitas por dois órgãos principais - o judicial e o serviço nacional de saúde. No país, independentemente de questões políticas, culturais ou financeiras, a área forense vem se adaptando a um cenário mais europeu com altos padrões de atividade em ciências forenses, buscando uma aplicação homogênea da Medicina Legal no país, que é um componente muito forte no país, tanto nas atividades forenses como nos serviços nacionais de saúde [87].

Os Países Baixos possuem uma tradição voltada para a investigação em criminologia e justiça criminal, com ensino bem-sucedido em investigação [88]. O país possui o Instituto Forense Holandês, que enfrentou desafios por ter uma demanda nacional crescente por investigações forenses não acompanhada pela capacidade de peritos forenses, levando a prazos de entrega muito altos. O instituto buscou melhorias em seus serviços forenses e otimizou os processos para reduzir cargas de trabalho e prazos de entrega. Novos departamentos foram criados para profissionalizar o programa de educação e inovação do Instituto Forense Holandês a fim de expandir sua rede profissional para buscar por novas tecnologias para auxiliar no processo de análise, além de oportunidades de financiamento e colaboração [89].

Na França, as áreas de medicina forense e ciências forenses se iniciaram após a Revolução Francesa em 1789 com a fundação de três Faculdades de Medicina. As atividades forenses passaram a ser realizadas sob o controle do Ministério Público e por autoridades jurídicas, por departamentos de medicina legal e organizações forenses, como o Instituto de Pesquisa Criminal da Gendarmaria Nacional e o Instituto de Ciências Forenses da Polícia Nacional [90].

Nos Estados Unidos da América (EUA), os primeiros laboratórios criminais foram criados em Los Angeles, em 1923 e em Chicago, em 1929. Em seguida, outros laboratórios de criminalística também foram criados com a finalidade de corrigir os problemas de mau manuseio e análise de evidências pelos órgãos de aplicação da lei, polícia e especialistas independentes. Conforme crescia o número de laboratórios com a finalidade de análise de crimes, algumas melhoras no serviço e instrumentação eram realizadas. Com isso a Comunidade Forense dos Estados Unidos da América impõe altos padrões nos serviços forenses e na atuação dos profissionais, a fim de entregar resultados persistentes tanto na identificação quanto na individualização de evidências físicas. Ainda assim, os organismos científicos nacionais e o relatório feito pelo Conselho Nacional de Pesquisa mostram que há

a necessidade de que as ciências forenses dos EUA tenham maior foco nos testes forenses, visto que existem áreas carentes de maiores fundamentos científicos [80].

Em 2005, 389 Laboratórios criminais foram financiados publicamente nos Estados Unidos, sendo 210 Laboratórios Estaduais ou Regionais, Condado Laboratórios, Laboratórios Municipais e 33 Laboratórios Federais, possuindo autonomia científica com a liberdade de realizar testes e relatar resultados sem pressão da atividade, interesse ou influência [91].

Organizações internacionais nos Estados Unidos, França e Reino Unido estabeleceram padrões de exames forenses com práticas e protocolos específicos para exames médicos e exames forenses e padronizaram o trabalho em agências de justiça criminal relevantes. Essas organizações prestam serviços de qualidade e ajudam a facilitar que esses serviços cumpram os padrões estabelecidos, como em casos de necropsias ou investigações de cenas de crime. Além disso, seguem um sistema de gestão da qualidade da ISO 9001:2000, fundamental para a padronização de procedimentos que todas as organizações devem realizar [85].

Na Dinamarca foram implementadas as investigações forenses em 1869, sendo praticadas por policiais designados para tarefas especiais de investigação. Desde então, houve a necessidade de melhoria das técnicas de investigação, obtenção de evidências e interpretação, pois a qualidade e competência do serviço variam muito por depender dos agentes de polícia. O serviço técnico forense dinamarquês passou a ser subdividido em

balística, fotografia, documentos e vestígios de evidências criminais. Em 2007 foi realizada uma reforma da polícia dinamarquesa que centralizou esses serviços a nível nacional, criando o Centro Técnico Forense da Polícia Nacional [92].

Em seguida, as análises toxicológicas forenses passaram a ser realizadas pelos departamentos de Medicina Legal em Copenhague, Aarhus e Odense, sendo englobados serviços como necropsias e análises de drogas e entorpecentes em indivíduos vivos [92]. Atualmente, existem três laboratórios forenses que realizam análises toxicológicas para cada uma das suas áreas geográficas correspondentes: Oeste, Sul e Leste da Dinamarca [93].

Diante do exposto, conseguimos perceber que os países emergentes enfrentam mais dificuldades na área de atuação forense, muitas vezes por estímulo financeiro insuficiente, que influencia diretamente na atuação dos laboratórios forenses e no sistema de educação forense desses países. Além disso, os países emergentes muitas vezes possuem uma demanda criminal maior do que países desenvolvidos, que investem mais em serviços de segurança, sendo assim, o número de laboratórios e especialistas em ciências forenses em países emergentes deveria ser maior para atender às suas necessidades criminais.

Nos 17 artigos com casos forenses analisados é possível observar que a elucidação de crimes muitas vezes é feita pela utilização de técnicas em conjunto para maior assertividade (Tab. 3).

**Tabela 3.** Porcentagem de utilização dos métodos nos casos usados para a pesquisa. \*Alguns artigos variaram técnicas, por isso o número total ultrapassou o de artigos utilizados (17)

Técnicas	Número de vezes que a técnica foi utilizada	%
Genética forense	3	14,29
Necropsia forense	1	4,76
Cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas	10	47,62
Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas	5	23,81
Cromatografia em camada delgada	1	4,76
Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	1	4,76
Total	21	100

Nota-se também que o método de CLAE-EM foi o mais utilizado, sendo o método de escolha pela grande maioria dos casos (Crimes facilitados por drogas, agressão sexual, uso de álcool no trânsito e intoxicação por xilometazina), visto que é considerada a técnica analítica mais popular na área de análises qualitativas, apesar de ter elevados custos de aquisição, operação e manutenção da técnica [33].

Os crimes de maior prevalência foram crimes facilitados por drogas (CFD), seguidos de crimes sexuais (Tab. 4). Por mais que relatos de crimes facilitados por drogas existam há séculos, a frequência desses relatos

vem aumentando, assim como o aumento do número de publicações e estudos científicos a respeito deles [94].

O desenvolvimento de novas substâncias psicoativas bem como os desafios para identificá-las pode se tornar um desafio para as análises forenses, visto que é necessário o aprimoramento dos métodos analíticos para a análise dessas substâncias de forma segura, a fim de servir de apoio a atuação dos peritos criminais na elucidação de crimes. Também é importante a compreensão da evolução do mercado dessas novas substâncias psicotrópicas, visto que são produzidas e frequentemente modificadas quimicamente, por isso acompanhar essas modificações é

complexo e necessita de atualizações nas análises [95]. É possível notar que normalmente são encontrados mais relatos de crimes de agressão sexual em países desenvolvidos do que em países emergentes (Quad. 1). No Brasil, por exemplo, mesmo que haja a notificação e

confirmação de casos de agressão sexual, a subnotificação ainda é muito presente e pode estar relacionada ao receio das vítimas em denunciar, devido a responsabilidade legal ou até mesmo retaliação dos profissionais atuantes [96].

**Tabela 4.** Relação dos casos e crimes forenses e a porcentagem em que aparecem nos artigos..

Crimes/casos	Quant. artigos	%
Agressão sexual	2	11,76
Crimes facilitados por drogas	8	47,06
Crime de agressão, levando a morte	1	5,88
Uso de álcool e/ou drogas no trânsito	1	5,88
Intoxicação por xilometazolina, levando a AVC hemorrágico	1	5,88
Investigação de morte natural ou crime	1	5,88
Intoxicação por uso de drogas e álcool, levando a morte	1	5,88
Sumiço de uma criança	1	5,88
Agressão sexual, estupro, crime obsceno, morte violenta, assassinatos, roubo, ameaças, incêndios culposos.	1	5,88
Total	17	100

**Quadro 1.** Relação dos crimes e os países em que ocorreram.

Crimes/casos	Países
Agressão sexual	EUA e Itália
Crimes facilitados por drogas	Índia, França, Itália, Dinamarca, Tailândia
Crime de agressão, levando a morte	Holanda
Uso de álcool e/ou drogas no trânsito	Itália
Intoxicação por xilometazolina, levando a AVC hemorrágico	EUA
Investigação de morte natural ou crime	Brasil
Intoxicação por uso de drogas e álcool, levando a morte	Brasil
Sumiço de uma criança	Brasil
Agressão sexual, estupro, crime obsceno, morte violenta, assassinatos, roubos, ameaças, incêndios culposos	EUA

**Tabela 5.** Relação das técnicas utilizadas em cada país.

Países	Quantas técnicas foram utilizadas	Quais técnicas foram utilizadas
Brasil	3	Genética Forense, necrópsia forense, CCD
Dinamarca	1	CLUAE – EM/EM
EUA	4	CLAE-EM/EM, Genética Forense e FTIR seguida de CG/EM (detector de massa quádruplo).
França	2	CLAE/EM, CLAE-EM/EM, CG/EM
Itália	2	CG/EM, CLAE-EM, CLAE-EM/EM, CG/HS
Índia	1	CG/EM
Holanda	1	Genética Forense
Tailândia	2	CG/EM, CLAE-EM/EM

Nos países emergentes (Brasil, Tailândia e Índia), a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas foi mais utilizada que a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (Tab. 5), podendo estar relacionado com o menor custo de aquisição, manutenção e operação da técnica em comparação ao CLAE-EM [97]. Dos países emergentes, a Tailândia foi o único país que utilizou a CLAE-EM nos artigos descritos, enquanto o Brasil utilizou a Cromatografia em camada delgada, técnica que não é muito utilizada atualmente pela pouca especificidade e seletividade que fornece [21].

Além disso, é possível observar que os países desenvolvidos, como Itália, França, Estados Unidos e Dinamarca, utilizam de técnicas como CLAE-EM inclusive com detectores de massa em sequência que são mais caras e sensíveis em comparação com países emergentes, que utilizam de técnicas menos dispendiosas.

Na tabela 6 pode-se observar que os continentes que mais diversificaram na quantidade de técnicas para a elucidação dos crimes foram a Europa e América do Norte, corroborando que esses continentes possuem mais

acesso às técnicas principalmente pelo seu maior poder aquisitivo de compra e incentivo à área forense.

Nos quadros 2 e 3, nota-se que os crimes facilitados por drogas foram mais prevalentes no sexo feminino, em contrapartida, os casos de intoxicação e agressões com morte foram mais prevalentes no sexo masculino. A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) mostra que os homens são os indivíduos que normalmente estão mais associados ao abuso de drogas e álcool [98]. Além

disso, são indivíduos mais agressivos do que as mulheres e estão mais envolvidos em crimes violentos [99].

O crime sexual é um problema global em que mais de 90% das vítimas de agressão sexual são mulheres [100]. As mulheres são mais expostas aos crimes de violência pela sua vulnerabilidade que sua natureza feminina e delicada trás, e pela hierarquia social que existe entre os gêneros [101].

**Tabela 6.** Relação dos continentes e das técnicas utilizadas.

Continentes	Técnicas utilizadas	Quantidade de técnicas
Ásia	CG/EM, CLAE-EM	2
América do Sul	Genética forense, Necrópsia forense, CCD	3
América do Norte	CLAE-EM, Genética forense, FTIR, CG/EM (detector de massa quádruplo).	4
Europa	CLAE/EM, CG/EM, CLUAE-EM/EM e Genética forense	4

**Quadro 2.** Relação dos casos e crimes com o sexo das vítimas. M (Masculino) e F (Feminino); CFD (Crimes facilitados por drogas); AS (Agressão sexual); AM (Agressão seguido de morte); IX (intoxicação por xilometazina); IM (Investigação de morte); SC (sumiço de criança); (\*) – não foram especificados número de casos por sexo

País	Crimes/casos forenses	Sexo	Referências
Índia	CFD	50% M e 50% F	Jain et al, 2024
Holanda	AM	100% M	Ralf; Kayser, 2021
Tailândia	CFD	33,33% M e 66,66% F	Volonnino et al, 2023
França	CFD	50% M e 50% F	Johansen, S. S., 2017
	CFD	100% M	Pepin, 2010
	CFD	M (26,1%) e F (73,9%)	Krongvorakul, J. et al, 2017
Dinamarca	CFD	M (24%) e F (76%)	Chèze;Villain; Pepin, 2004
	CFD	100% F	Chèze et al, 2005
Italia	Uso de álcool e/ou drogas no trânsito	100% M	Wang et al, 2018
	AS	100% F	Carfora et al, 2018
	CFD	M e F (*)	Cortellini et al, 2020
Brasil	SC	100% M	Portal G1, 2022
	Intoxicação por uso de drogas e álcool, levando a morte.	M (>90%) e F (<10%)	Campelo; Caldas; 2010
	IM	100% M	Bomfim et al, 2023
EUA	IX	100% F	Banás et al, 2023
	Morte violenta, estupro, AS, assassinatos, roubo, ameaças, incêndios culposos, crime obsceno	M e F (*)	Tozzo et al, 2020
	AS	100% F	Choung et al, 2021

No quadro 3, as vítimas dos dois crimes relatados de agressão sexual eram do sexo feminino, e por mais que os 5 artigos descritivos de crimes facilitados por drogas mostrem que esses crimes ocorreram tanto com indivíduos do sexo masculino como feminino, as

substâncias facilitadoras de crimes normalmente são usadas principalmente em vítimas mulheres. A Organização Mundial de Saúde considera a violência contra a mulher um crime grave e um problema de saúde pública [101].

**Quadro 3.** Relação dos crimes de acordo com o sexo das vítimas, em artigos que descreveram os casos forenses. M (Masculino); F (Feminino); CFD (Crimes facilitados por drogas); AS (Agressão sexual); AM (Agressão seguido de morte); IX (intoxicação por xilometazina); IM (Investigação de morte); SC (sumiço de criança)

Tipo de artigo	Crimes/casos forenses	Sexo	Referências
Descritivo	CFD	1 M e 1 F	Jain et al, 2024
Descritivo	CFD	3 M	Pepin, 2010
Descritivo	AM	1 M	Ralf; Kayser, 2021



Descritivo	CFD	F	Johansen, 2017
Descritivo	CFD	1 M e 2 F	Krongvorakul et al, 2017
Descritivo	CFD	1 M e 1 F	Chèze; Villain; Pepin, 2004
Descritivo	AS	1 criança F	Cortellini et al, 2020
Descritivo	SC	1 criança M	Portal G1, 2022
Descritivo	IM	1 M	Bomfim et al, 2023
Descritivo	IX	1 F	Banás et al, 2023
Descritivo	AS	1 F	Tozzo et al, 2020

No **quadro 4**, podemos observar quais os agentes mais utilizados em crimes facilitados por drogas ou investigações que o uso de drogas ou álcool foram detectados, bem como quais as técnicas mais utilizadas para analisar a presença dessas substâncias nos materiais biológicos investigados.

Os crimes facilitados por drogas mais prevalentes foram os que envolviam agressão sexual e roubos (**Quad. 5**). Nesses casos, os suspeitos normalmente adicionam drogas a bebidas e alimentos que são misturados e fornecidos para as vítimas, a fim de cometer esses crimes [105].

**Quadro 4.** Relação das técnicas e dos medicamentos encontrados nos artigos, especificando os países referentes.

País	Medicamentos e classe farmacológica	Técnicas	Referências
Brasil	Anfetaminas, cocaína, opióides benzodiazepínicos, barbitúricos, tetra-hidrocanabinol.	CCD	Campelo; Caldas, 2010
Dinamarca	Quetiapina	CLUAE – EM/EM	Johansen, 2017
	Benzodiazepínicos, hipnóticos não-benzodiazepínicos, anti-histamínicos, opioides, antipsicóticos, barbitúricos, anfetaminas e cocaína.	CLUAE-EM/EM	Wang et al, 2018
EUA	Xilometazina	CLAE-EM/EM	Choung et al, 2021
França	Benzodiazepínicos, doxilamina, zolpidem, zopiclona e ciamemazina.	CLAE/EM, CG/EM	Pepin, 2010
	Benzodiazepínicos	CLAE-EM	Chèze; Villain; Pepin, 2004
	Benzodiazepínicos e hipnóticos não-benzodiazepínicos.	CLAE-EM/EM	Chèze et al, 2005
Índia	Benzodiazepínicos (Diazepam)	CG/EM	Jain et al, 2024
Itália	Benzodiazepínicos, mirtazapina, Zolpidem, Zolpiclona	CG/EM, CLAE/EM, CLAE/EM-EM	Volonnino et al, 2023
	Álcool, maconha, anfetaminas, cocaína, benzodiazepínicos e metadona.	CG/EM, CLAE-EM/EM	Carfora et al, 2018
Tailândia	Xilazina	CG/EM, CLAE-EM/EM	Krongvorakul et al, 2017

É possível observar que os benzodiazepínicos foram os medicamentos mais encontrados (72,73%) nos casos em que o uso de drogas foi analisado. Essa classe de medicamentos possui notoriedade entre os profissionais da saúde e população, e atua com ação hipnótica e miorrelaxante, por exemplo em distúrbios de ansiedade. Os principais fatores para o uso e acesso indiscriminado a esses medicamentos são falta de conhecimento sobre os riscos que podem causar à saúde dos pacientes, prescrições errôneas por profissionais não capacitados, dispensação inadequada nas drogarias, ou até mesmo obtenção do medicamento por conhecidos [102].

Em seguida aos benzodiazepínicos, os medicamentos mais utilizados para os crimes facilitados por drogas foram o zolpidem e anfetaminas.

As drogas facilitadoras de crimes são substâncias que facilitam os atos criminais, e o agressor tem intenção de

tornar as vítimas mais vulneráveis e pouco resistentes ao ato [103], visto que alteram o grau e estado de consciência e memória da vítima, levando a submissão química. O acesso a essas substâncias ocorre devido à prática de fácil comercialização delas, sendo relatados crimes facilitados por drogas em vários países. O composto químico utilizado na maioria dos crimes facilitados por drogas é o etanol, principalmente por seu baixo custo e facilidade de acesso devido à legalidade. O etanol é um composto químico que deprime o sistema nervoso central e pode ser misturado a outros medicamentos, levando a potencialização de seus efeitos e uma falsa impressão de embriaguez nas vítimas [104].

Outros tipos de substâncias químicas são encontradas nos fluidos biológicos de vítimas de crimes facilitados por drogas, como os hipnóticos não benzodiazepínicos e o zolpidem, que são medicamentos que provocam sedação e

perda de memória [104]. Qualquer droga que altere os processos de pensamento pode ser usada [103], como os anti-histamínicos. Outras drogas ilícitas depressoras do sistema nervoso central como maconha, opióides e anfetaminas também são encontradas nesses tipos de crimes [104], além de soníferos, como hipnóticos e sedativos [105]. Devido ao efeito que essas substâncias causam nos indivíduos, como a perda de memória e de consciência, muitos casos não são reportados, por isso a prevalência desses crimes não é tão conhecida [104].

A técnica mais empregada para avaliar a presença desses medicamentos em amostras biológicas em investigações forenses foi a CLAE-EM. Enquanto todos os países desenvolvidos utilizaram essa técnica, Brasil e Índia usaram técnicas de custo mais baixo de operação, como a CG/EM e CCD. A CLAE-EM ganhou popularidade por possuir maior seletividade, especificidade, robustez e sensibilidade na quantificação de drogas de abuso em materiais biológicos [106] sendo o método mais vantajoso, visto que existem duas fases cromatográficas onde há uma interação entre as moléculas da amostra de forma seletiva e uma variedade de mecanismos de separação, enquanto o CG possui uma única fase para interações intermoleculares. Assim, CLAE-EM é a técnica mais eficiente aplicada à criminalística [107].

No quadro 5 pode-se observar a efetividade das técnicas forenses utilizadas para a elucidação dos crimes analisados e é possível observar que 88,24% dos casos foram concluídos por meio de técnicas forenses aplicadas de maneira eficiente.

Os fatores que podem prejudicar a análise das amostras de casos forenses podem ser as condições variáveis do meio ambiente, como temperatura, umidade,

**Quadro 5.** Análise da efetividade das técnicas forenses em auxiliar na elucidação de crimes forenses. GF (Genética Forense); CFD (Crimes facilitados por drogas); AS (Agressão sexual); AM (Agressão seguido de morte); IX (intoxicação por xilometazina; IM (Investigação de morte); SC (sumiço de criança); NTS (não totalmente solucionado); NS (Não solucionado)

contaminação microbiológica ou química, degradação do vestígio, entre outras, ocasionando em resultados imprecisos. Por isso, o profissional deve ter os cuidados necessários com as amostras para evitar as interferências [108]. Porém, nos crimes citados como “não concluídos”, não foram esses fatores que prejudicaram sua elucidação completa. No caso que ocorreu na Holanda – crime de agressão que levou a vítima a morte – foi feita uma análise investigativa de DNA de vestígios de cena de crime misto de duas pessoas em um caso de assassinato, sendo o suspeito desconhecido e a vítima conhecida. As previsões pela análise de DNA preditiva de aparência não estavam de acordo com as características do possível grupo de suspeitos designados pela polícia durante as investigações policiais. Portanto, tanto a predição de aparência baseada em DNA e a inferência de ancestralidade biogeográfica a partir do DNA deveriam ser realizadas nesse caso, porém a legislação nacional do país onde o caso ocorreu não permitia a análise de ancestralidade biogeográfica, o que limitou a informação investigativa recuperável do crime [66].

No caso ocorrido no Brasil, em que uma criança com nome Leandro Bossi desapareceu, as investigações iniciais de DNA não foram suficientes para elucidar o crime, com isso o material foi submetido recentemente a um teste de DNA mitocondrial, mais eficiente do que o realizado 1993, que auxiliou nas investigações e concluiu que a ossada investigada era do menino tido como desaparecido, tendo sido posteriormente confirmada sua identidade. Porém, ainda há lacunas sobre o caso que precisam ser investigadas, visto que ainda não se sabe a motivação do crime e quem seria responsável pela morte do menino [74].

País	Técnica	Tipo de crime	Efetividade das técnicas	Referências
Brasil	GF	SC	Efetivo - NTS	Portal G1, 2022
	CCD	Intoxicação por uso de drogas e álcool, levando a morte	Sim	Campelo; Caldas, 2010
	Necrópsia forense	IM	Sim	Bomfim et al, 2023
Dinamarca	CLUAE-EM/EM	CFD	Sim	Johansen, 2017
	CLUAE-EM/EM	CFD	Sim	Wang et al, 2018
EUA	CLAE-EM/EM	IX	Sim	Banás et al, 2023
	GF, FTIR e CG/EM.	AS	Sim	Tozzo et al, 2020)
	GF	Morte violenta, estupro, AS, assassinatos, roubo, ameaças, incêndios culposos, crime obscuro	Sim	Choung et al, 2021
França	CLAE/EM, CG/EM	CFD	Sim	Pepin, 2010

	CLAE-EM/EM	CFD	Sim	Chèze; Villain; Pepin, 2004
	CLAE-EM	CFD	Sim	Chèze et al, 2005
Holanda	GF		NS	Ralf; Kayser, 2021
Índia	CG/EM	CFD	Sim	Jain et al, 2024
Itália	CG/EM, CLAE-EM (CLAE-EM/EM)	CFD	Sim	Volonnino et al, 2023
	CG/EM, CLAE-EM/EM	Uso de álcool e/ou drogas no trânsito	Sim	Carfora et al, 2018
	CLAE-EM	AS	Sim	Cortellini et al, 2020
Tailândia	CG/EM, CLAE-EM/EM	CFD	Sim	Krongvorakul et al, 2017

No entanto, por mais que alguns casos não tenham sido totalmente concluídos, como o crime que ocorreu na Holanda, observa-se no **quadro 5** que as técnicas forenses são extremamente importantes e necessárias para a eficiência das investigações.

Durante as pesquisas dos casos criminais, foi perceptível que os relatos criminais ocorridos pelo Brasil não são descritos como em outros países, principalmente nos países desenvolvidos. Muitos dos relatos são encontrados em publicações de jornais, e não apresentam as informações completas sobre as técnicas utilizadas para as investigações e como foram realizadas as análises por meio dessas técnicas, ao contrário dos materiais encontrados nos outros países abordados na revisão, que possuem muitas vezes relatos criminais encontrados em bases de dados com a descrição completa dos crimes e das investigações.

No Brasil, a perícia criminal ainda requer de maturidade institucional como órgão auxiliar da justiça. Como já foi abordado, a perícia no Brasil passou por dificuldades e atrasos, e ainda há falta de investimentos na área, afetando diretamente a reconstrução aproximada dos fatos nos maioria dos crimes [109]. Segundo a professora Aline Thais Bruni, pesquisadora do Departamento de Química da USP de Ribeirão Preto, a Associação Brasileira de Criminalística de 2011 mostrava um déficit de 30 mil peritos para demandas na área criminal, e ainda dizia ser notória a falta de investimentos em recursos humanos e em boas condições de trabalho para esses profissionais [110].

## 7. CONCLUSÕES

A toxicologia e a genética forense são ramos importantes das ciências forenses utilizados para as investigações de crimes. As técnicas toxicológicas mais utilizadas foram as cromatográficas e espectrométricas, e a técnica voltada para análises genéticas mais utilizada no Brasil foi a PCR, enquanto nos outros países além da PCR também foram utilizados RFLP e Sequenciamento massivamente paralelo. Todas as técnicas são importantes para a elucidação de crimes, porém a técnica mais utilizada para as análises toxicológicas tem sido a CLAE/EM, principalmente devido a sua especificidade e efetividade, entretanto esta técnica não é comumente

utilizada para elucidação de crimes em países emergentes como o Brasil.

Os crimes mais relatados foram os crimes facilitados por drogas, sejam eles de roubo ou agressão sexual. As substâncias mais encontradas nestes casos foram benzodiazepínicos, anfetaminas e zolpidem, e além dessas substâncias, há relatos de que o álcool é umas das substâncias mais utilizadas para esse tipo de crime. A CLAE/EM foi a técnica mais utilizada para a análise dessas substâncias.

Países desenvolvidos, com mais investimento na área forense, utilizam técnicas que exigem um maior progresso nas tecnologias voltadas para as ciências e possuem recursos humanos para atender às demandas de crime em seus países. Já os países emergentes encontram-se atrasados, uma vez que possuem investimentos menores e índices de criminalidade maior.

Além disso, é possível observar a importância das análises forenses para a justiça, visto que é parte essencial para o entendimento e elucidação dos crimes. Por isso, deve ser feito um apelo aos órgãos governamentais para que sejam realizados mais investimentos na área, tanto para recursos tecnológicos como recursos humanos, para que a investigação desses crimes não seja banalizada e possa ser realizada da forma devida, segura e rápida, a fim de atuar juntamente com os órgãos judiciários. O detalhamento dessas informações fomenta o estudo das técnicas e as dissemina, sendo um importante aliado não só para o conhecimento da população, mas também servindo de auxílio e embasamento para profissionais que trabalham/estudam nesta área, complementando seus conhecimentos e servindo como base em casos específicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] T.A.U. Lopes; V.M.R. Pereira; T.V. Ferreira; A.M.P.V. Carvalho; J.K.O. Ribeiro; L.F. da Silva. Toxicologia forense na perícia criminal. *Revista ft* **115** (26) (2022).
- [2] K. Hemanth; M. Tharmavaram; G. Pandey. History of Forensic Science. In: D. Rawtani, C.M. Hussain (Eds.). *Technology in Forensic Science: Sampling, Analysis, Data and Regulations*, Wiley-VCH,

- GmbH*, Greven, Alemanha (2020).
- [3] R.G. Menezes; F.N. Monteiro. *Forensic Autopsy. StatPearls*, Treasure Island (FL), USA (2024). Retirado em 05/03/2024, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539901/>
- [4] A.V. de Oliveira; S. Koch; D.L. Morgado; F.A de Freitas. O uso da toxicologia forense na elucidação de casos criminais. *Anais do VI CONAPESC*, Campina Grande: Realize Editora (2021).
- [5] R.C. da Silva Junior. Panorama atual da Genética Forense no Brasil: aspectos tecnológicos, legais e estratégicos. *Rev. Bras. Crimin.* **12(2)**: 99–106 (2023).
- [6] A.E. dos Santos. As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. *Rev. Bras. Crimin.* **7(3)**: 12-20 (2018)
- [7] T.F. Silva; F.Q.M. de Oliveira; V.P. Bastos. Perícia Criminal e a Legislação Brasileira. *Rev. Bras. Crimin.* **11(2)**: 14-23 (2022).
- [8] D. Sala. A perícia criminal: evidências, profissional perito, nulidade pericial – uma revisão literária. *Rev. Bras. Crimin.* **7(3)**: 28-31 (2018).
- [9] L.P. Mariano. Importância da perícia criminal para elucidação do aspecto subjetivo do feminicídio: o menosprezo e discriminação à condição de mulher. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Departamento de Direito, Centro Universitário do Rio Grande do Norte (2023).
- [10] D.C.M. Bordin; F.F.S.S. Monedeiro; E.G. Campos; M.N.R. Alves; L.H.P. Bueno; B.S. Martins. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. *Scientia Chromatographica* **7(2)**: 125-143 (2015).
- [11] A.R. Hoelzel (ed.). *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*. Online edn. Oxford Academic, Oxford (2023).
- [12] D.J. Dorta; M. Yonamine; J.L. da Costa.; B.S. de Martinis (orgs); *Toxicologia forense*. Editora Blucher, São Paulo (2018).
- [13] M. Locatelli; S. Covone; E. Rosato; M. Bonelli; F. Savini; K.G. Furton; I. Gazioglu; C. D'Ovidio; A. Kabir; A. Tartaglia. Analysis of seven selected antidepressant drugs in post-mortem samples using fabric phase sorptive extraction followed by high performance liquid chromatography-photodiode array detection. *Forensic Chem.* **31**: 100460 (2022).
- [14] R. Jain; A. Kabir; B.E. Ainousah; M.M. Ghoneim; T. Zughaibi; V. Chauhan; Sheetal. Exploring the potential of fabric phase sorptive extraction in postmortem toxicology: Green analysis of pheniramine in a forensic case of its fatal intoxication. *Microchem. J.* **193**: 109212 (2023).
- [15] N.A. Galli. Validação do método analítico de epícloridrina na matéria prima de carvedilol. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Especialização em Análise Instrumental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (2019).
- [16] S.L.P. Dias; J.C.P. Vaghetti; É.C. Lima; J.L. Brasil; F.A. Pavan. *Química Analítica: teoria e praticas essenciais*, Bookman, Porto Alegre (2016).
- [17] J.N. Bueno. Uso da cromatografia de camada delgada na identificação de entorpecentes no instituto de criminalística de Botucatu. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (2022).
- [18] I. Cabezudo; M.O. Salazar; I.A. Ramallo; R.L.E. Furlan. Effect-directed analysis in food by thin-layer chromatography assays. *Food Chem.* **390**: 132937 (2022).
- [19] C. Han.; Q. Wang; Y. Yao; Q. Zhang; J. Huang; H. Zhang; L. Qu. Thin layer chromatography coupled with surface enhanced Raman scattering for rapid separation and on-site detection of multi-components. *J. Chromatogr. A* **1706**: 464217 (2023).
- [20] S.C. Cheng; M.Z. Huang; J. Shiea. Thin layer chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1218**: 2700-2711 (2011).
- [21] M.R.S. da Lomba; M.M. Pinc; J. Cogo; M.M. Alexandre; F.S. Quemel; O. Alberton; E.L.B. Lourenço; D.C.F. Boleta-Ceranto; A.A. Rodrigues; C.C. Braga; G. Zardeto. O uso de matrizes biológicas e testes analíticos presentes na Toxicologia Forense. *Rev. Bras. Crimin.* **12(4)**: 88–102 (2023).
- [22] T. Aniszewski. (Ed.). *Alkaloid Chemistry. In: Alkaloids – Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*, Elsevier, Amsterdam, Holanda (2007) 61-139.
- [23] L. Maldaner; I.C.S.F. Jardim. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. *Quím. Nova* **32(1)**: 214–222 (2009).
- [24] D. Guillarme; J.L. Veuthey. Theory and Practice of UHPLC and UHPLC–MS. In: *Handbook of Advanced Chromatography/Mass Spectrometry Techniques*, AOCs Press, Urbana, Illinois, USA: (2017) 1-38.
- [25] M. Petrovic; M. Gros; D. Barcelo. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography–quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1124 (1-2)**: 68-81 (2006).
- [26] F.M. Lanças. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente "compatíveis"? *Scientia Chromatographica* **1 (2)**: 35-61 (2009).
- [27] J.C.P. Penteadp; D. Magalhães; J.C. Masini. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. *Quím. Nova* **31 (8)**: 2190–2193 (2008).
- [28] H.R. Bizzo; N.S. Brilhante; Y. Nolvachai; P.J. Marriott. Use and abuse of retention indices in gas

- chromatography. *J. Chromatogr. A* **1708**: 464376 (2023).
- [29] G. Loos; A.V. Schepdael; D. Cabooter. Quantitative mass spectrometry methods for pharmaceutical analysis." *Phil. Trans. R. Soc. A* **374**: 2079 (2016).
- [30] K.V. Djambazova; J.M.V. Ardenne; J.M. Spraggins. Advances in imaging mass spectrometry for biomedical and clinical research. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **169**: 117344 (2023).
- [31] A. Cafaro; S. Barco; F. Pigliasco; C. Russo; M. Mariani; A. Mesini; C. Saffioti; E. Castagnola; G. Cangemi. Therapeutic drug monitoring of glycopeptide antimicrobials: An overview of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *J. Mass Spectrom. Adv. Clin. Lab.* **31**: 33-39 (2024).
- [32] J.G.V.D Gugten. Tandem mass spectrometry in the clinical laboratory: A tutorial overview. *Clin. Mass Spectrom.* **15**: 36-43 (2020).
- [33] A.M. Ares-Fuentes; R.A. Lorenzo; P. Fernández; A.M. Fernández; K.G. Furton; A. Kabir; A.M. Carro. Determination of synthetic opioids in oral fluid samples using fabric phase sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1663**: 462768 (2022).
- [34] J. Ma; S. Fan; L. Yang; L. He; H. Zhai; X. Ren; Q. Li; Y. Zhang. Rapid screening of 420 pesticide residues in fruits and vegetables using ultra high performance liquid chromatography combined with quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Food Sci. Hum. Wellness* **12(4)**: 1064-1070 (2023).
- [35] S. Leston; J. Rosa; A.S.V. Pouca; J. Barbosa; M.A. Pardal; F. Ramos; A. Freitas. Assessing pharmaceuticals in the green seaweed *Ulva lactuca* through a multi-residue UHPLC-ToF-MS strategy. *Mar. Pollut. Bull.* **193**: 115266 (2023).
- [36] R. Nogueira; S.M. Queiroz; G.E.B. Silva; W.F.C. Rocha; G.F. Sarmanho; R.R.R. Almeida; G.F. Moreira. Determination of volatiles in pharmaceutical certified reference materials. *J. Braz. Chem. Soc.* **23(9)**: 1636–1646 (2012).
- [37] J.A. Siegel; P.J. Saukko. Encyclopedia of Forensic Sciences. *Academic Press, Elsevier*, Amsterdam, Holanda (2000).
- [38] M.M. Houck; J.A. Siegel. *Fundamentals of Forensic Science, Elsevier*, Amsterdam, Holanda (2010) 2 ed.
- [39] W. Shuai; X. Wu; C. Chen; E. Zuo; X. Chen; Z. Li; X. Lv; L. Wu; C. Chen. Rapid diagnosis of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis based on Fourier transform infrared spectroscopy and deep learning. *Photodiagn Photodyn. Ther.* **45**: 103885 (2024).
- [40] E.M. Pirot; A.N.F. Edilbi. Geochemical characteristics of bitumen seeps from the Pila Spi and Bekhme formations: insights from Fourier transform infrared spectroscopy and trace metals. *Vib. Spectros.* **129**: 103607 (2023).
- [41] I. Mage; U. Böcker; S.G. Wubshet; D. Lindberg; N.K. Afesth. Fourier-transform infrared (FTIR) fingerprinting for quality assessment of protein hydrolysates. *LWT* **152**: 112339 (2021).
- [42] S.R.R. Torres. Avaliação da estrutura genética da população atual de Santa Catarina com diferentes marcadores moleculares para aplicação na genética forense. *Tese de doutorado*, Centro de Ciências Biológicas Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina (2014).
- [43] E. Germano; H.O. Silva; E.H. dos Santos; M.G. Narciso. Gene+: uma Solução Computacional Distribuída para Gerenciar Ensaios de Genotipagem e Marcadores Moleculares. *Embrapa Informática Agropecuária*, Campinas, São Paulo (2017). Retirado em: 05/05/2024, de <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1080976>.
- [44] L.B. Pinto; I.G.C. Caputo; M.M.I. Pereira. Importância do DNA em Investigações Forenses: Análise de DNA Mitocondrial. *Braz. J. Forensic Sci.* **6(1)**: 84–107 (2016).
- [45] Y. Zheng; G. Liu; Q. Wu; M. Tan; J. Xue; R. Zhang; D. Chen; Y. Xiao; M. Lv; M. Liao; S. Qu; W. Liang. Development of specific and rapid detection of human DNA by recombinase polymerase amplification assay for forensic analysis. *Forensic Sci. Int. Genet.* **66**: 102903 (2023).
- [46] F. Kader; M. Ghai. DNA methylation and application in forensic sciences. *Forensic Sci. Int.* **249**: 255-265, 2015.
- [47] Y.H.A. Montenegro; R.S. Ferreira; E.R.A. Martins; M.K.S. Marcelino; D.Q. Nascimento. Fenotipagem: a relação genótipo-fenótipo-ambiente. *Anais do Congresso Nacional de Biólogos.* 178-185 (2018).
- [48] E.R.M. Mansour; G.L. Trevisan; A.P.A. Dagnino. *Genética., Sagah*, Porto Alegre (2019).
- [49] B. Bruijns; R. Tiggelaar; H. Gardeniers. Massively parallel sequencing techniques for forensics: A review. *Electrophoresis* **39(21)**: 2642-2654 (2018).
- [50] L.P. Schincariol; P.Y. Yamamoto; C.A. Colombo. Detecção de polimorfismo de única base (snps) pelas técnicas de PCR RFLP e ARMS-PCR no café. *VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil* (2011). Retirado em 05/03/2024, de <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/3301>.
- [51] J. Ryu; W.J. Kim; J. Im; S.H. Kim; K. Lee; H. Jo; E. Kim; S. Kang; J. Lee; B. Ha. Genotyping-by-sequencing based single nucleotide

- polymorphisms enabled Kompetitive Allele Specific PCR marker development in mutant *Rubus* genotypes. *Electron. J. Biotechnol.* **35**: 57-62 (2018).
- [52] D.A. Thai; N.Y. Lee. A point-of-care platform for hair loss-related single nucleotide polymorphism genotyping. *Anal. Chim. Acta* **1283**: 341973 (2023).
- [53] M.S.L. Meneses; M.B.P. Toralles; C.M.C. Mendes. Evolução da técnica de PCR: sua contribuição no diagnóstico da infecção por HPV. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.* **18(3)**: 361-366 (2019).
- [54] A.R. Caetano. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *R. Bras. Zootec.* **38**: 64-71 (2009).
- [55] M.A. Sabbah; M.M. Al-Zubaidi; T.Y. Al-Janabi; D.S. Namaa; H.K. Al-Rubai; H.K. Ibrahim. Short tandem repeat (STR) variation from 6 cities in Iraq based on 15 loci. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* **21(1)**: 2-9 (2023).
- [56] D. João; S. Cardoso; P. Monteiro; C. Leal; C. Bartosh. Short tandem repeat analysis: a practical tool to identify specimen mix-ups in the pathology laboratory. *Virchows Arch.* **483(4)**: 549-554 (2023).
- [57] B. Subramani; A.S.B.A. Yazid; M.E. Selvan. Standardized practice of stem cell production. In: S.K. Subbiah; A. Higuchi; P.L. Mok. *Stem Cell Laboratory Techniques – A Guide for Researchers and Students*, Academic Press 201-218 (2023).
- [58] J.M. Butler. Short Tandem Repeat (STR) Loci and Kits. In: J.M. Butler. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*, Academic Press, Amsterdam, Holanda (2012) 99-139.
- [59] L. Davenport; L. Devesse; D.S. Court; D. Ballard. Forensic identity SNPs: Characterisation of flanking region variation using massively parallel sequencing. *Forensic Sci. Int. Genet.* **64**: 102847 (2023).
- [60] C. Turchi. Development of a forensic DNA phenotyping panel using massive parallel sequencing. *Forensic Sci. Int. Genet. Supplement Series* **7(1)**: 177-179 (2019).
- [61] E.F.A. Silva. Aplicações da tecnologia de sequenciamento massivo paralelo em exames genéticos de interesse forense: alternativas analíticas para a casuística brasileira. *Tese de Doutorado*, Escola de Ciências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (2019).
- [62] S. Inokuchi; N. Mizuno; H. Nakanishi; K. Saito; T. Kitayama; K. Fujii; H. Nakahara; K. Sekiguchi. Non-specific peaks generated by animal DNA during human STR analysis: Peak characteristics and a novel analysis method for mixed human/animal samples. *Forensic Sci. Int. Genet.* **37**: 73-80 (2018).
- [63] V. Cortellini; G. Brescia; N. Cerri; A. Verzeletti. Simultaneous DNA and RNA profiling in a case of sexual assault in a 3-year-old child: Forensic genetics solves the crime. *Leg. Med.* **47**: 101727 (2020).
- [64] B. Jain; R. Jain; A. Kabir; T. Zughaibi; A. Bajaj; S. Sharma. Exploiting the potential of fabric phase sorptive extraction for forensic food safety: Analysis of food samples in cases of drug facilitated crimes. *Food Chem.* **432**: 137191 (2024).
- [65] G. Pépin. Aspects analytique, toxicologique, judiciaire de la soumission chimique: dix ans d'expérience. *Ann. Pharm. Fr.* **68(2)**: 61-75 (2010).
- [66] A. Ralf; M. Kayser. Investigative DNA analysis of two-person mixed crime scene trace in a murder case. *Forensic Sci. Int. Genet.* **54**: 102557 (2021).
- [67] G. Volonnino; R. La Russa; N. Di Fazio; M. Ottaviani; M.V. Zamponi; F. Spadazzi; F. Umani-Ronchi. Z-Drugs and their use in drug-facilitated crimes: a review of the literature. *La Clinica Terapeutica* **174 (5)**: 451-468 (2023).
- [68] S.S. Johansen. Detection of the antipsychotic drug quetiapine in the blood, urine and hair samples of the victim of a drug-facilitated sexual assault. *Forensic Sci. Int.* **270**: e12-e15 (2017).
- [69] J. Krongvorakul; S. Auparakkitanon; S. Trakulsrichai; P. Sanguanwit; J. Sueajai; N. Noumjad; W. Wanankul. Use of Xylazine in Drug-Facilitated Crimes. *J. Forensic Sci.* **63**: 1325-1330 (2017).
- [70] M. Chèze; M. Villain; G. Pépin. Determination of bromazepam, clonazepam and metabolites after a single intake in urine and hair by LC-MS/MS: Application to forensic cases of drug facilitated crimes. *Forensic Sci. Int.* **145(2-3)**: 123-130 (2004).
- [71] M. Chèze; G. Duffort; M. Deveaux; G. Pépin. Hair analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in toxicological investigation of drug-facilitated crimes: Report of 128 cases over the period June 2003-May 2004 in metropolitan Paris. *Forensic Sci. Int.* **153(1)**: 3-10 (2005).
- [72] X. Wang; S.S. Johansen; M.K.K. Nielsen; K. Linnet. Hair analysis in toxicological investigation of drug-facilitated crimes in Denmark over a 8-year period. *Forensic Sci. Int.* **285**: e1-e12 (2018).
- [73] A. Carfora; C.P. Campobasso; P. Cassandro; R. Petrella; R. Borriello. Alcohol and drugs use among drivers injured in road accidents in Campania (Italy): A 8- years retrospective analysis. *Forensic Sci. Int.* **288**: 291-296 (2018).
- [74] M. Colombo. Caso Leandro Bossi: veja linha do tempo, o que se sabe e o que falta esclarecer (2022). Retirado em 21/05/2024, de <https://g1.globo.com/pr/parana/noticia/2022/06/13/caso-leandro-bossi-veja-linha-do-tempo-o-que-se-sabe-e-o-que-falta-esclarecer.ghtml>
- [75] E.L.C. Campelo; E.D. Caldas. Postmortem data related to drug and toxic substance use in the Federal

- District, Brazil, from 2006 to 2008. *Forensic Sci. Int.* **200(1-3)**: 136-140 (2010).
- [76] S.O. Bomfim; G.S. Sacramento; C.L. Sousa; A.L.V. de Almeida; J.B. de Almeida. Cut-contusion injury with severe hemorrhagic diathesis: Potential crime scene or hemophilia? A forensic investigation. *Forensic Sci. Int. Rep.* **8**: 100338 (2023).
- [77] B.P. Banas; K. Brzezniakiewicz-Janus; S. Majdanik; M. Parafiniuk; S. Luzny; A. Stachwicz; T. Janus. Hemorrhagic stroke caused by xylometazoline poisoning. *J. Forensic Sci.* **69(1)**: 359-364 (2023).
- [78] P. Tozzo; A. Gabbin; C. Politi; M.D. Pian; L. Caenazzo; V. Causin. Combined Statistical Analyses of Forensic Evidence in Sexual Assault: A Case Report and Brief Review of the Literature. *J. Forensic Sci.* **65(5)**: 1767-1773 (2020).
- [79] C.M. Choung; J.W. Lee; J.H. Park; C.H. Kim; H.C. Park; S.K. Lim. A forensic case study for body fluid identification using DNA methylation analysis. *Leg. Med.* **51**: 101872 (2021).
- [80] F.B. Carvalho. Fortalecimento das ciências forenses no Brasil: Um modelo a ser seguido. *Dissertação de Mestrado*: Departamento de Economia. Universidade de Brasília (2023).
- [81] G. Cavalli. Ciência Forense: evento traz peritos dos EUA. *Agência CEUB* (2016). Retirado em 15/05/2024, de <https://agenciadenoticias.uniceub.br/destaque/crimes-brasil-e-eua-trocam-experiencias-sobre-ciencia-forense/>
- [82] R. Mantovani. A atividade da perícia criminal: uma abordagem por gestão de operações. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Gestão Pública, Universidade Federal do Pampa (2018).
- [83] Brasil. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Investimento em tecnologia e inovação para auxiliar no combate à criminalidade (2019). Retirado em 05/05/2024, de <https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/noticias/investimento-em-tecnologia-e-inovacao-para-auxiliar-no-combate-a-criminalidade>.
- [84] R. Tangon. DNA evidence collecting in criminal investigation: Portuguese and Thai legal approaches. *Tese de doutorado*, Departamento de Ciências Sociais, Universidade do Minho (2016).
- [85] A. Phonrasuek; S. Suebongsiri; C. Chairangsinant. The Cooperation for Development of Forensic Science: A Cause Study of Quality Development According to the International Standard. *Internacional Journal of Crime, Law and Social Issues* **5(1)** (2018).
- [86] P. Kathane; A. Singh; J.R. Gaur; K. Krishan. The development, status and future of forensics in India. *Forensic Sci. Int. Rep.* **3**: 100215 (2021).
- [87] B. Madea. History of Forensic Medicine. In: B. Madea (Ed.) *Handbook of Forensic Medicine* (2017), Wiley, Alemanha (2020) 198-210.
- [88] M. Tonry; C. Bijleveld. Crime, Criminal Justice, and Criminology in the Netherlands. *Crime and Justice* **35(1)**: 1-30 (2007).
- [89] A.C. Van Asten. On the added value of forensic science and grand innovation Challenger for the forensic community. *Sci. Justice* **54(2)**: 170-179 (2014).
- [90] B. Ludes. Forensic Medicine in France. In: D.H. Ubelaker. *The Global Practice of Forensic Science*, Wiley-Blackwell, Nova Jersey, Estados Unidos da América.
- [91] P.C. Giannelli. Independent Crime Laboratories: The Problem of Motivational and Cognitive Bias. *Faculty Publication* 603 (2010). Retirado em: 05/05/2024, de [https://scholarlycommons.law.case.edu/faculty\\_publications/603](https://scholarlycommons.law.case.edu/faculty_publications/603)
- [92] N. Lynnerup; S.H. Hansen. Forensic Science in Denmark. In: D.H. Ubelaker (Ed.). *The Global Practice of Forensic Science*, Wiley-Blackwell, Nova Jersey, Estados Unidos da América (2015) 67-72.
- [93] K. Skov; S.S. Johansen; K. Linnet; M.K.K. Nielsen. Uncovering forensic evidence of drug-facilitated sexual assault: Toxicological findings from Eastern Denmark from 2015–2022. *Legal Med.* **65**: 102325 (2023).
- [94] M.K. Shbair; M. Lhermitte. Drug-facilitated crimes: definitions, prevalence, difficulties and recommendations. A review. *Ann. Pharm. Fr.* **68(3)**: 136–147 (2010).
- [95] E.S. Cordovil; P.A. Francez. Desafios analíticos na identificação de drogas sintéticas NBOME e NBOH no contexto forense: uma revisão bibliográfica. *Rev. Bras. Crimin.* **13(1)**: 168–175 (2024).
- [96] C.L. Ribeiro; I.C.V.L. Maia; J.F. Souza; V.F. Santos; J.S. Santos; L.J.E.S. Vieira. Atuação do enfermeiro na preservação de vestígios na violência sexual contra a mulher: revisão integrativa. *Esc. Anna Nery* **25(5)** e20210133 (2021).
- [97] C.A. Valdez. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Synthetic Opioids Belonging to the Fentanyl Class: A Review. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **52(8)**: 1938–1968 (2022).
- [98] G. Maraccini. Uso de álcool e drogas mata mais de 3 milhões de pessoas por ano, diz OMS (2024). Retirado em 20/06/2024, de <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/uso-de-alcool-e-drogas-mata-mais-de-3-milhoes-de-pessoas-por-ano-diz-oms/>.
- [99] A.M. Valença; I. Nascimento; K. Mecler; R. Freire; M.A. Mezzasalma; V. Leão; A.E. Nardi. Comportamento violento, gênero e psicopatologia. *Rev. Latinoam. de Psicopatol. Fundam.* **13(2)**: 238–252 (2010).

- [100] J. Xiaomin; M. Zhewei; Z. Ziwan; L. Zhe; W. Yushi; S. Shiyu. Spatio-temporal characteristics of sexual crime and influencing factors of commercial service facilities: A case study of Haining City, China. *International Journal of Law, Crime and Justice* **76**: 100647 (2024).
- [101] D.S. Marcolino. Drogas facilitadoras de crime: uma revisão bibliográfica. *Trabalho de conclusão de curso*, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema (2023).
- [102] A.E. Lima; L.C. Moura; Y.J.B. Gomides; J.F. Paes; R.Q. Lima. Role of the pharmacist in fighting the indiscriminate use of benzodiazepines: a literature review. *Res. Soc. Dev.* **10(15)**: e304101522886 (2021).
- [103] K.S. Scott. Drug Facilitated Crimes. In: J.A. Siegel; P.J. Saukko. *Encyclopedia of Forensic Sciences*, Elsevier, Amsterdam, Holanda (2023) 156-163.
- [104] L.C.L. Paixão; S.G. Pereira; H.C.S. Melo. Técnicas de preparo de amostras biológicas para a identificação de drogas facilitadoras de crime. *ALTUS CIÊNCIA* **17(17)** (2023).
- [105] K. Kuwayama; M. Nariai; H. Miyaguchi; Y.T. Iwata; T. Kanamori; K. Tsujikawa; T. Yamamuro; H. Segawa; H. Abe; H. Iwase; H. Inoue. Micro-segmental hair analysis for proving drug-facilitated crimes: Evidence that a victim ingested a sleeping aid, diphenhydramine, on a specific day. *Forensic Sci Int.* **288**: 23-28 (2018).
- [106] K. McHale; K. Hassel; C. Martins; D. Bhattacharyya. A quantificação do futuro com LC-MS/MS: triagem e quantificação rápidas de drogas de abuso em urina para toxicologia forense. *Nota Técnica 65182 Thermo Fisher Scientific* (2018). Retirado em 02/03/2024, de <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-90719-tomorrow-quantitation-lc-ms-an90719-pt-br.pdf>
- [107] M.S. Gomes. Contributo da Química Forense na Detecção de Drogas de Abuso. *Dissertação de mestrado*, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa (2013).
- [108] L.P. Basoli; C.B.M. Basoli; M.M. Candeloro; P.B.M. Frohlich; M.T. Kimura; M.O. Medeiros. A relevância de técnicas genotípicas e fenotípicas como prova no sistema legal visando a elucidação de casos de crimes contra a dignidade sexual. *Rev. Biodiversidade* **20(2)**: (2021).
- [109] A.M. de Aguiar. Provas periciais criminais inconclusivas à luz do caso Isabella Nardoni. *Trabalho de Conclusão de Graduação*, Faculdade de Direito, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (2022).
- [110] P. Penedo. Ciência Forense: para que serve e como é feita no Brasil? Entrevista. *Oxigênio Podcast* Rádio Unicamp (2016). Retirado em 26/06/2024, de <https://www.oxigenio.comciencia.br/ciencia-forense-para-que-serve-e-como-e-feita-no-brasil/>
- [111] U.N.D.P. United Nations Development Programme. Human Development Insights. Acces and explore human development data for 193 countries and territories worldwide. *Human Development Reports 2023-2024*. Retirado em 28/02/2025, de <https://hdr.undp.org/data-center/country-insights#/ranks>.