



CSI: a importância da recolha do material biológico



Crime Scene Investigation
(Crime sob Investigação)



Medicina Legal e Ciências Forenses

Professora Doutora Helena Geada



Alexandre Nogueira, Helder Coelho, João Vinagre, Lara Diogo



CSI:

CRIME SCENE INVESTIGATION

Criminalística

- É a ciência que estuda os **indícios** deixados no local do crime que pode estabelecer a identidade do criminoso e as circunstâncias do delito.
- Podem ser vestígios anatómicos, biológicos ou humorais.
- A Criminalística Biológica tem como objectivo identificar o autor do crime baseando-se na comparação de perfis genéticos das amostras biológicas.
- Fundamenta-se na possibilidade de ocorrer transferência de fluidos orgânicos.

“Four-way linkage Theory”



Local do Crime

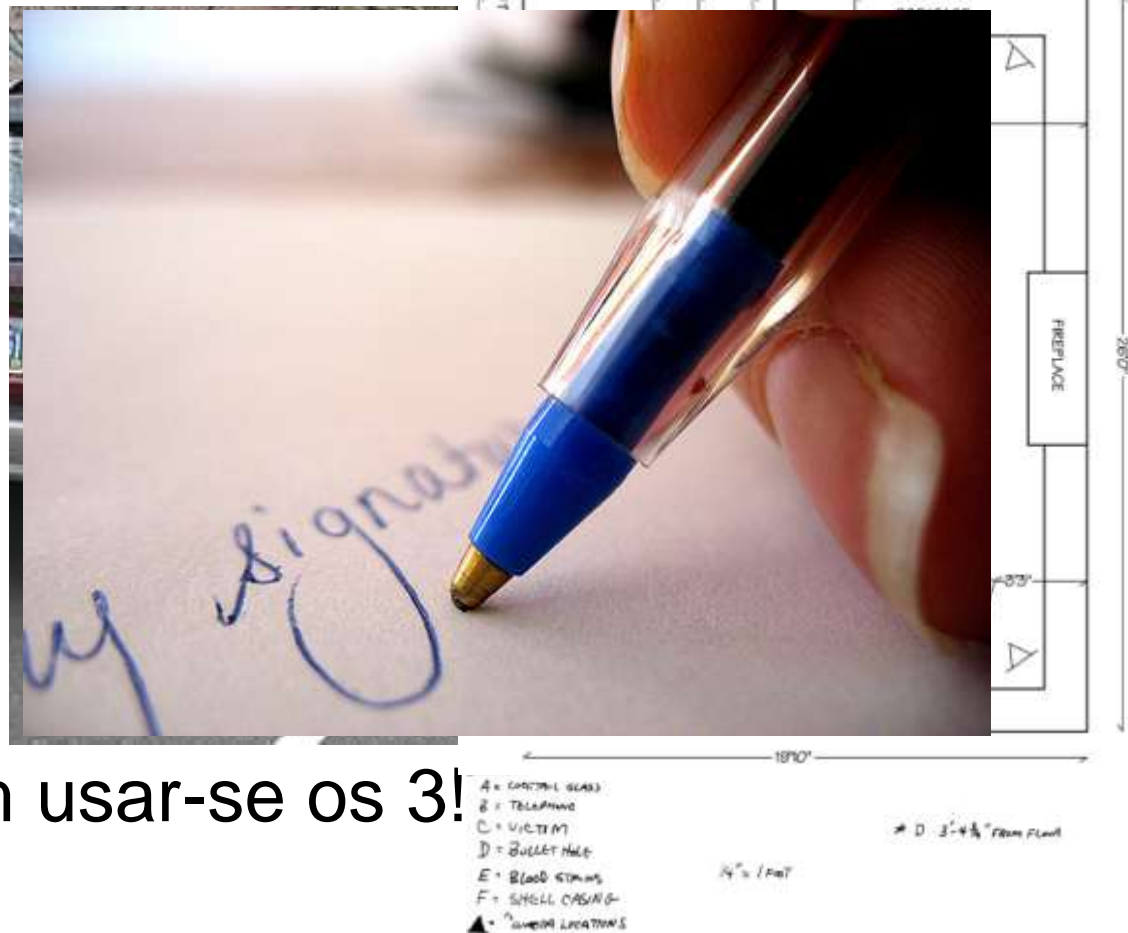
- Garantir a Segurança & Isolamento
- Assegurar assistência médica às vítimas e deter os suspeitos.
- Delimitar a área e restringir o acesso apenas a pessoas autorizadas.
- Qualquer pessoa pode destruir potencialmente provas.
- Nada deve ser alterado no local do crime.



Local do Crime

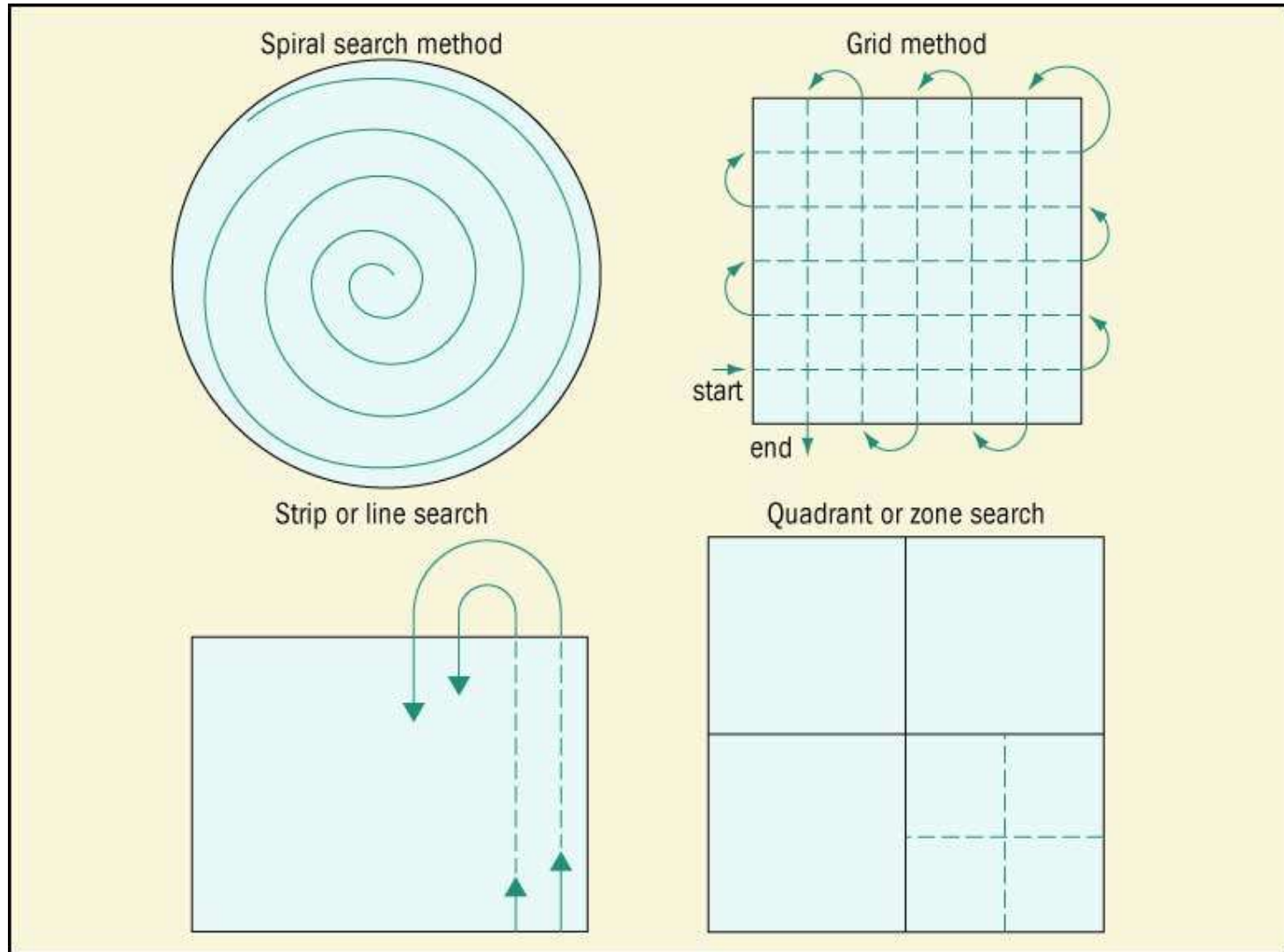
- Existem 3 métodos para documentar o local do crime:

- Fotografias
- Esboços/Croquis
- Notas

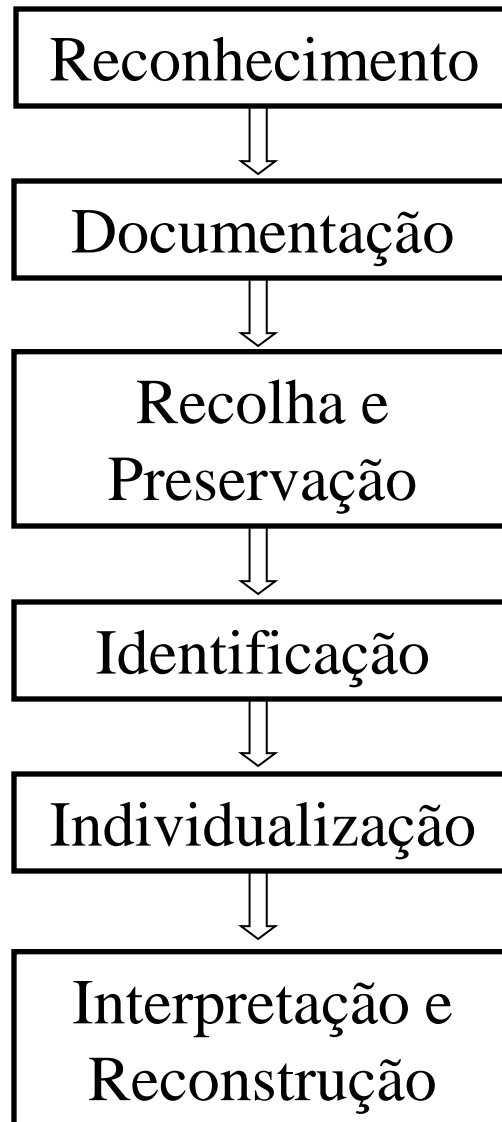


- Idealmente devem usar-se os 3!

Local do Crime – Análise Sistemática



Processamento dos Indícios



Cadeia de Custódia

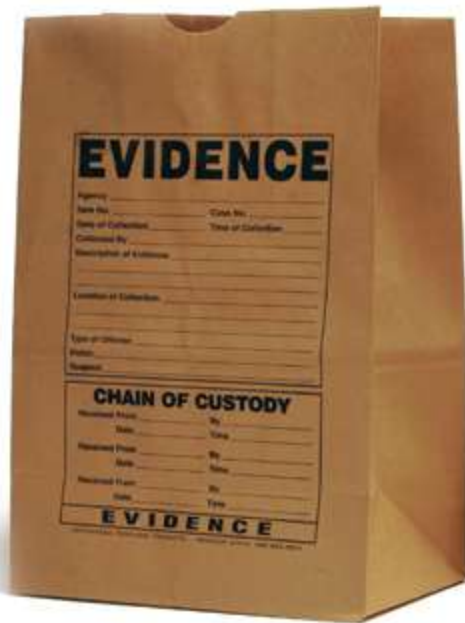
- Lista de pessoas que estiveram em contacto com a prova desde o local do crime até ao tribunal.
- Permite saber onde esteve a prova, quem é que a detinha e o que lhe foi feito em cada momento.
- Garante que a prova apresentada em tribunal é a mesma que foi recolhida no local do crime, assegurando que não foi substancialmente alterada.



Cadeia de Custódia

- Documentação cronológica física ou electrónica demonstrando o percurso da prova desde o local onde é recolhida até ao tribunal.
 - Etiquetagem
 - Registo das circunstâncias da recolha
 - Custódia inicial
 - Mudanças de custódia.





Case # _____ Item# _____ Initials _____ Date _____

SEVLED EVIDENCE DO NOT TOUCH

FOLD LIP OVER OPENING TO SEAL

WARNING THIS IS A TAMPER EVIDENT SECURITY PACKAGE. ONCE SEALED, ANY ATTEMPT TO OPEN WILL RESULT IN OBVIOUS SIGNS OF TAMPERING.

EVIDENCE

Agency _____
Item No. _____ Case No. _____
Date of Collection _____ Time of Collection _____
Collected By _____
Description of Evidence _____
Location of Collection _____
Type of Offense _____
Victim _____
Suspect _____

CHAIN OF CUSTODY

Received From	By
Date	Time
Received From	By
Date	Time
Received From	By
Date	Time

Reorder No. A-1183
Arrowhead Forensic Products 1(800) 955-3274

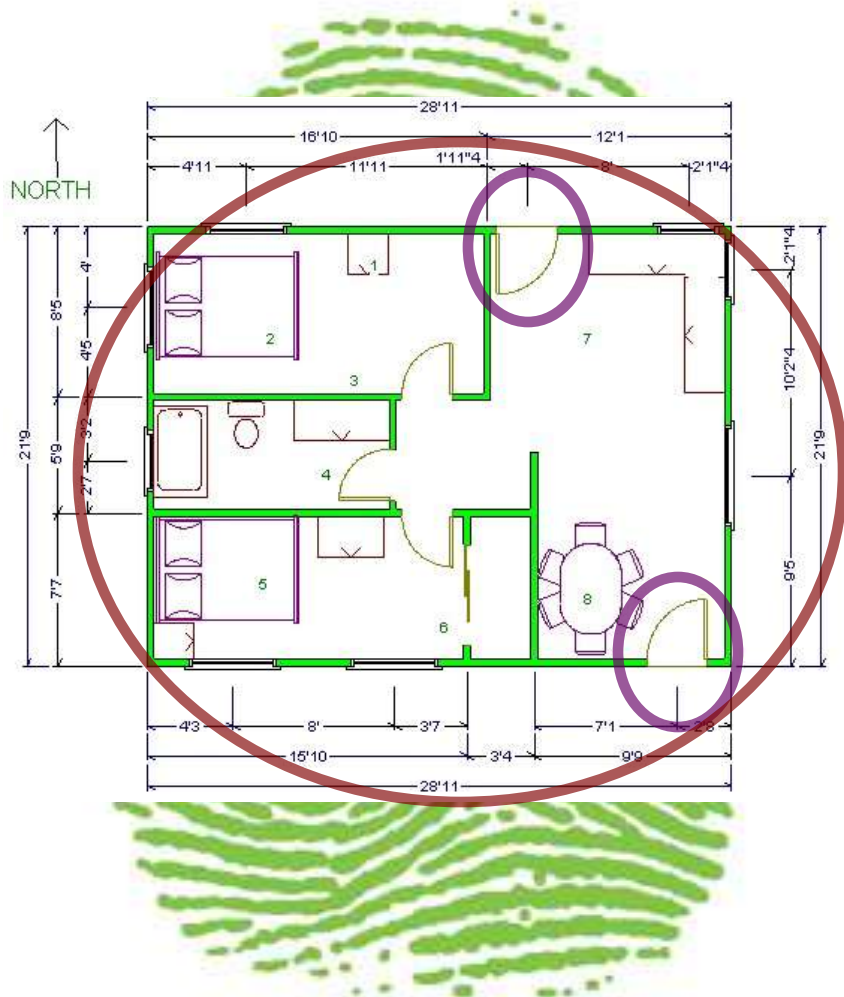


Pesquisa de provas

- Exaustiva e Sistemática
- Normalmente não é necessária a presença de um **investigador forense** na cena do crime
- Deve haver um responsável da **supervisão e da coordenação** de todo o processo



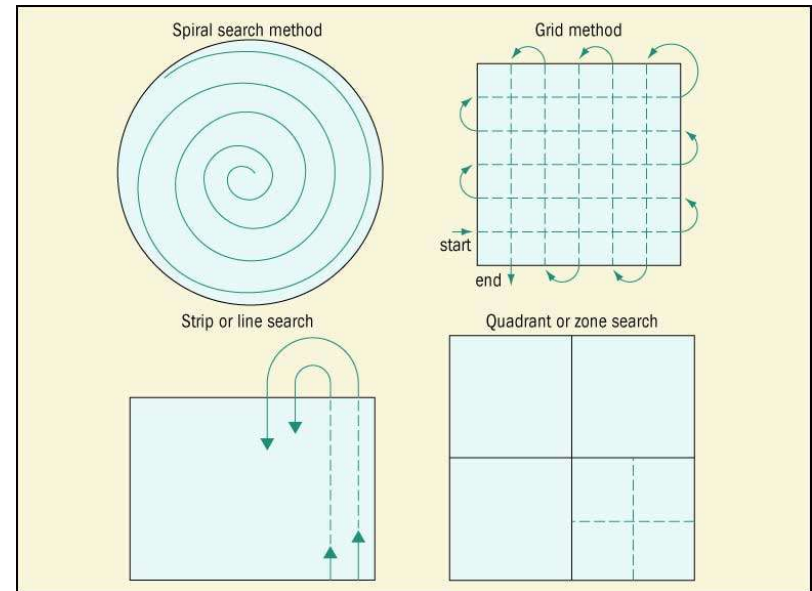
Pesquisa de provas



- Incluir pontos prováveis de **entrada e saída**
- O objecto da pesquisa será determinado pelas **circunstâncias particulares do crime**
- Na maioria dos casos é necessária a pesquisa de **impressões digitais latentes**

Padrões de pesquisa sistemática

- Localização e tamanho da cena do crime
- Acções do(s) suspeito(s) e vítima(s)
- Número de pessoas que efectuarão a pesquisa



Padrão de pesquisa em espiral

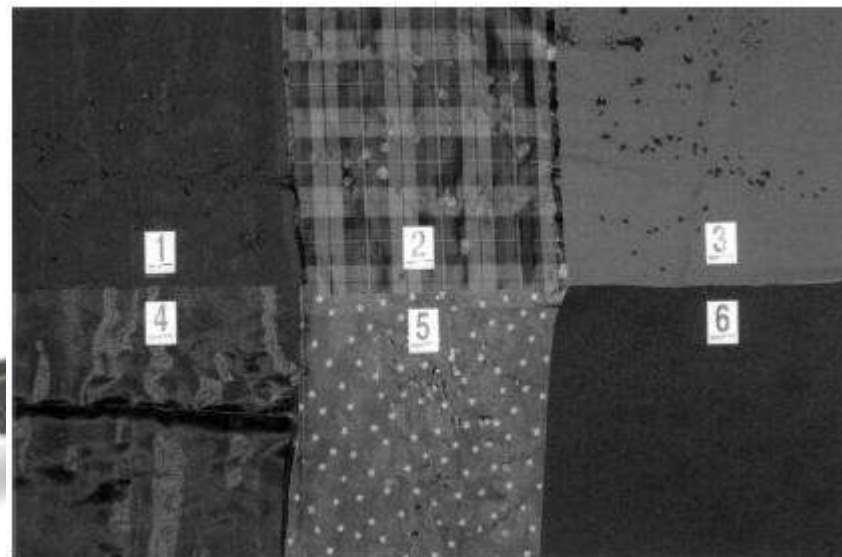
Padrão de grelha

Padrão em banda ou linha

Padrão de quadrante ou zona

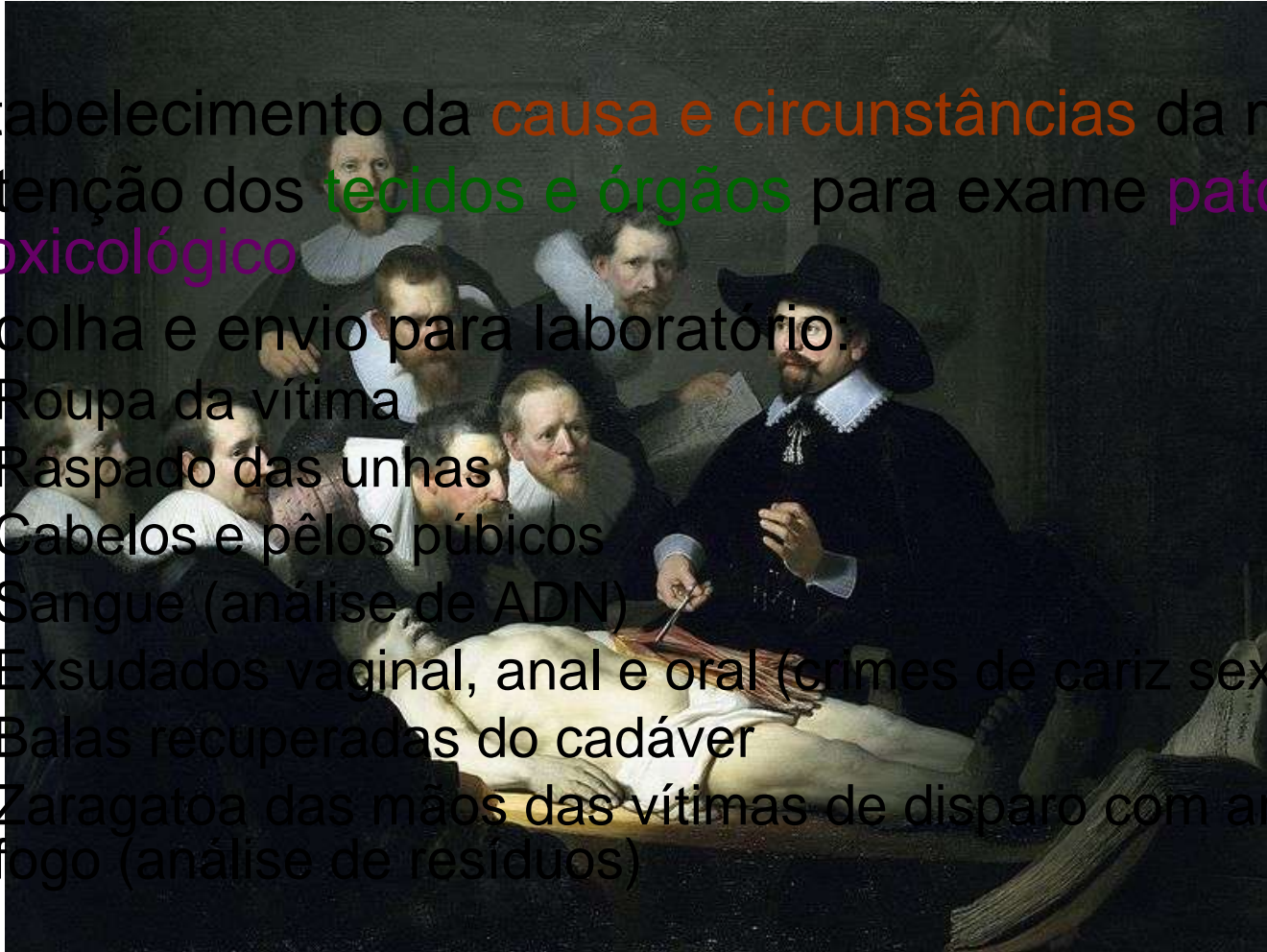
Recolha e acondicionamento de provas

- Preservação de provas para análise
- Os envolvidos devem ser identificados
- Pode-se usar portadores de prova
- Aspiration
- Raspagem



Recolha de provas na autópsia

- Estabelecimento da **causa e circunstâncias** da morte
- Retenção dos **tecidos e órgãos** para exame **patológico e toxicológico**
- Recolha e envio para laboratório:
 - Roupa da vítima
 - Raspado das unhas
 - Cabelos e pêlos púbicos
 - Sangue (análise de ADN)
 - Exsudados vaginal, anal e oral (crimes de cariz sexual)
 - Balas recuperadas do cadáver
 - Zaragatoa das mãos das vítimas de disparo com arma de fogo (análise de resíduos)



Anatomische les van Dr. Nicolaes Tulp (1632), Rembrandt

Recolha e acondicionamento de provas

- C
- S
-
- Ir
- S
- d
-



ens

es

Amostras-padrão ou de referência

- Indícios físicos cuja origem é conhecida, como sangue ou pêlos de um suspeito, que pode ser comparado com indícios da cena do crime
- Obtidos a partir da **vítima**, de um **suspeito** ou **outras fontes conhecidas**
- Provas manchadas com **sangue** devem ser acompanhadas de uma amostra-padrão de todos os intervenientes relevantes da cena

Embalagem

- Frascos de plástico inquebrável
 - Pêlos, vidro, fibras e outros tipos de indícios vestigiais
- Papel de embrulho, envelopes sem fendas, sacos de papel
 - Materiais manchados de sangue
- Restos carbonizados
 - Latas de tinta ou frascos estanques
- Secagem ao ar de todas as peças de roupa e colocação em sacos de papel individuais



Encaminhamento de provas para o laboratório forense

- As provas devem ir acompanhadas de um formulário de envio de provas
 - Permite uma análise inteligente e completa
 - Fornece uma descrição resumida da história do caso; permite uma análise segundo uma sequência lógica
 - Deve discriminar cada uma das análises pretendidas para cada tipo de indício
 - Deve incluir uma lista de todos os itens enviados



Evidência ou Indício Físico

- **O Material Biológico é um tipo de indicio**

Documentos

Medicamentos

Tóxicos

Explosivos

Fibras

Impressões

Digitais

Labiais

Auriculares

Armas de fogo e munições

Vidro

Solo e minerais

Marcas de ferramentas

Pêlos

Sangue

Sémen

Saliva

Urina

Órgãos

Tinta

Produtos petrolíferos

Sacos de plástico

Plástico, borracha ou outros polímeros

Resíduos de pólvora

Luzes ou marcas de pneus de carros

Pegadas

Madeira ou vegetação

Importância da recolha de Material Biológico

- A **Genética** e a **Biologia forense** procuram através de amostras biológicas identificar a autoria do crime
- Isto é possível se existir **coincidência entre o perfil genético** das amostras com o do suspeito
- Os vestígios biológicos mais encontrados são:
 - Manchas de **sangue** (homícidio, suicídio ou agressões)
 - Manchas de **sémen** (agressões sexuais)

Material Biológico

no local do crime:

- **Pêlos e cabelos**
- **Sémen**
- **Sangue**
- **Saliva**
- Unhas
- Urina
- Fezes
- Restos cadavéricos
- Material Fetal
- Pedacos de tecido humano
 - Osso
 - Músculo
 - Dente
- Impressões digitais com células epiteliais

na vítima:

- **Sangue**
- Amostras vaginais, anais e bucais (zaragatoas)
- **Saliva** (zaragatoa bucal)
- Tecido muscular
- Ósseas
- Unhas
- Dentes



SANGUE



Sangue

- **É a amostra mais frequentemente analisada** na investigação (Pinheiro, 2008)
- Vestígios hemáticos **encontrados** em :
 - Armas e objectos cortantes
 - Peças de vestuário
 - Lenços e toalhetes
 - Superfícies duras
 - Vestígios na vítima provavelmente hemático
- **É IMPORTANTE recolher vestígios** de diversos locais, dos suspeitos, vítimas e intervenientes na cena do crime



Sangue

- Pode revelar **conflito físico** entre a vítima e o agressor
- A sua recolha poderá possibilitar a identificação do DNA



- Mancha
 - Modificação de cor, sujidade ou adição de um material extra, visível ou não, determinado por um depósito de um material líquido, mole ou sólido, que permite estabelecer relações da intervenção ou participação de uma pessoa num delito. (*López Gómez y Gisbert*)

Sangue

- Estudo das **manchas** poderá incidir em:
 - **Caracterização Analíticas**
 - Testes de detecção de sangue
 - Análise de DNA
 - **Caracterização Morfológica**
 - Forma
 - Tamanho
 - Direcção e distribuição
 - Textura da superfície ou Local
 - **Mecanismo de produção**



Estes dados são importantes para interpretar e reconstruir os eventos que levaram à hemorragia

Sangue

1. Técnicas Analíticas

Passos:

Evidenciar o que é:

A) Teste de Kastle-Meyer



Um resultado positivo é um indicador de sangue

A hemoglobina cataliza como uma peroxidase a reacção de oxidação da fenolftalina a fenolftaleína (cor rosa claro)

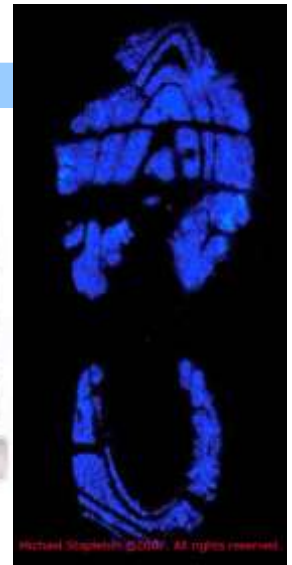
B) Teste de Verde Leucomalaquina



Sangue

1. Técnicas Analíticas

Evidenciar o que é:



C) Teste do Luminol (3 amino-ftalhidracina passa a 3-APA)



OS

Sangue

1. Técnicas Analíticas

Evidenciar o que é:

D) Testes Microcristalinos

São + para sangue se formarem cristais

Takayama: formam-se cristais de hemocromogenio de piridina

Teichmann: formam-se cristais de hemina

Estes testes podem ser auxiliados pela utilização de:

luz de flash com incidência oblíqua

luz roxa

luz verde

pouca luz

Sangue

1. Técnicas Analíticas

Recolher e acondicionar correctamente a mancha:

- **Líquida:** pipeta ou conta-gotas para um tubo com anticoagulante (5-10 ml) e refrigerar
- Sobre uma superfície não absorvente: soro salino 0,9% e refrigerar
- Usar uma **zaragatoa** humedecida e refrigerar
- Evitar arrumar provas molhadas ou húmidas; secá-las com papel e enviar também para o laboratório
- Evitar sacos de plástico

Enviar para o laboratório

- Embalar e identificar com informação detalhada
- Caso seja necessário refrigeradas (não congelar !)
- O mais rápido possível

Sangue

1. Técnicas Analíticas

Outros materiais biológicos recolhidos poderão ajudar

No laboratório:

Análise do DNA do sangue

1. **Extrair o DNA do núcleo dos leucócitos e separá-lo de materiais proteicos.** Existem alguns métodos:

– **Extração orgânica:**

- **Fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (1982)**, DNA obtido de conservação superior que o do Chelex, mas prejudicial por conter fenol, mais usado para amostras de sangue+sémen e em condições difíceis,
- **Chelex (1991)**, que desactiva as nucleases ao quelar o Mg
- **BioRotot EZ1 (2004)**, método automático baseado na ligação magnética

– **Extracção não orgânica:** salting out ou solução alcalina concentrada (menor retenção do DNA)

2. **Realização de PCR** para amplificar o DNA.

Sangue

1. Técnicas Analíticas

Conclusões:

Armazenamento das amostras:

Hemácias refrigeradas podem durar até 42 dias

Leucócitos refrigerados podem duram 365 dias

Antes da análise do DNA as amostras eram relacionadas através:

tipagem A-B-O

caracterização das enzimas e proteínas polimórficas do sangue

A tecnologia do DNA actualmente é superior em fiabilidade.

Sangue

2. Aspecto: Forma da mancha

- **Poças de sangue (“pools”)**
 - permitem obter este material no estado líquido

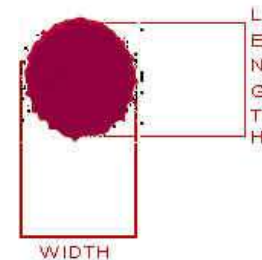


- **Gotas de sangue**

permitem concluir a altura e o ângulo de onde o sangue caiu

- **Circulares e com bordos ondulados**

- a queda foi perpendicular / vertical
- a altura foi pouca (1-2 metros)



90 Deg Stain
No Direction noted

- **Padrão em lágrima ou onda**

- queda oblíqua
- contornos mais pronunciados e angulosos



Direction of travel



Sangue

2. Aspecto: Direcção da mancha

- A direcção de uma mancha indica a direcção da força que a criou
- A força teve origem na parte maior da gota
- Convergência da mancha representa o ponto de onde esta surgiu

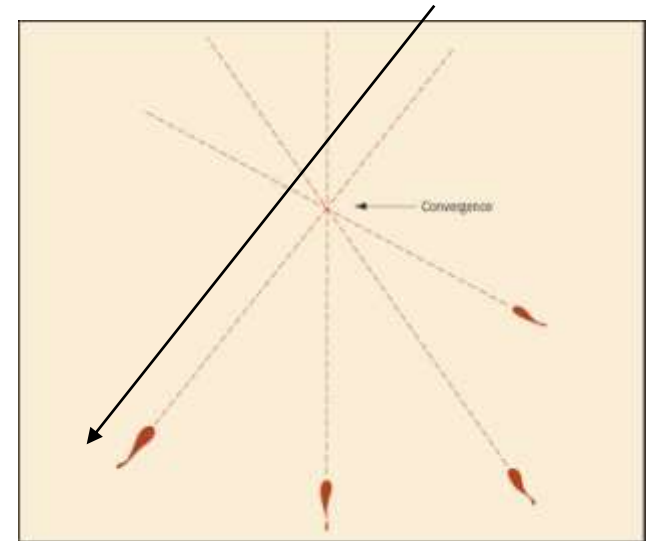


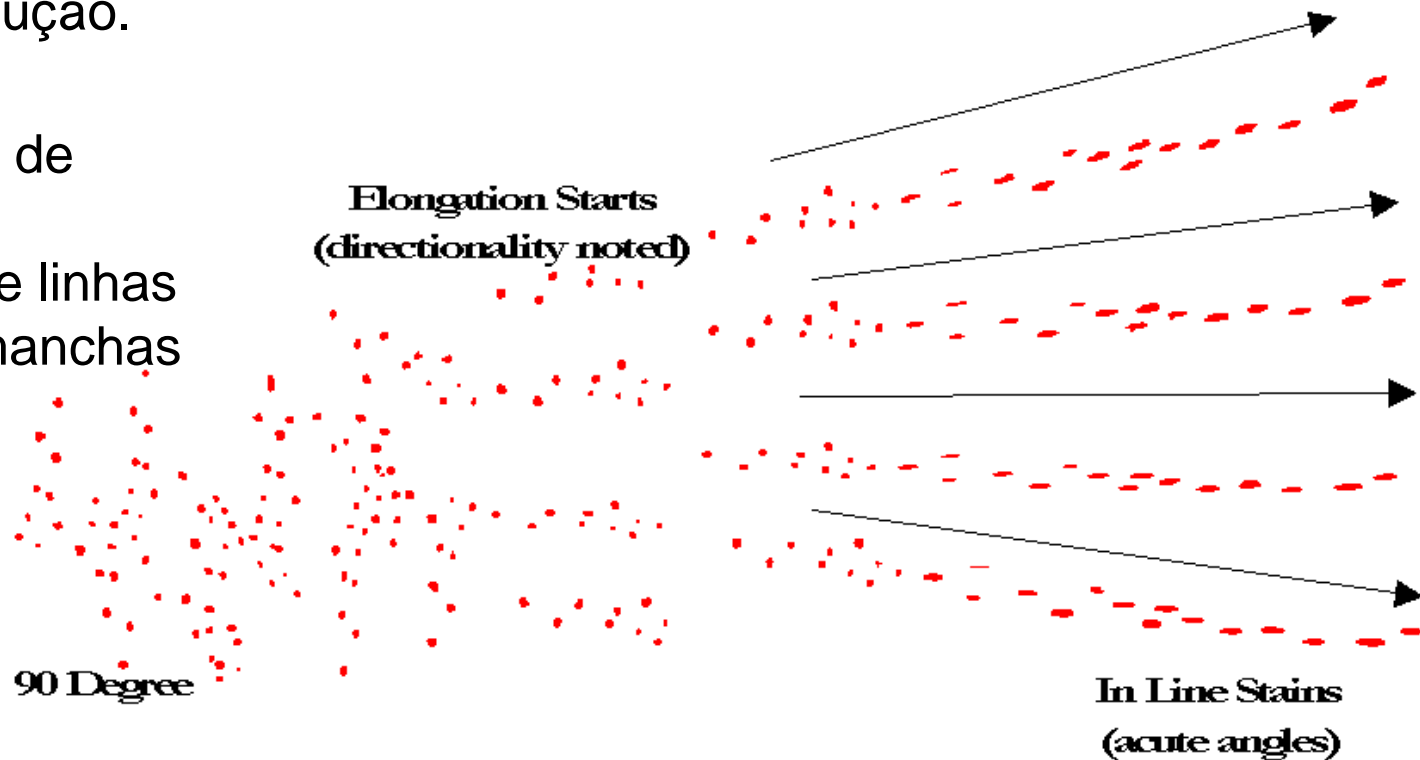
Ilustração da convergência da mancha bidimensional

Sangue

Trajectória da mancha

A forma e direcção das gotas está relacionado com o mecanismo da sua produção.

Origem = ponto de intersecção / convergência de linhas do > eixo das manchas

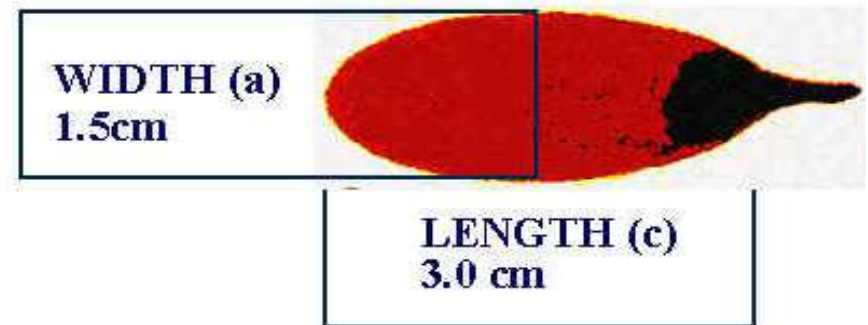


Sangue

2. Aspecto : Direcção da mancha

- A trajectória contra um objecto irá definir uma forma particular
- As dimensões da mancha permitem calcular um ângulo do impacto:

$$\text{SIN} \leq \frac{\text{Width (a)}}{\text{Length (c)}}$$



- O ângulo do impacto pode ser importante para determinar de onde surgiu a mancha

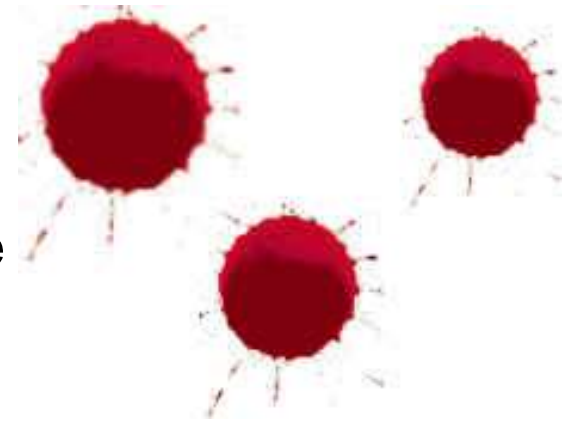
Sangue

3. Mecanismo de Produção

- **Por transferência:** pelo contacto entre uma superfície com sangue liquido e sua superfície, que origina uma imagem reconhecível



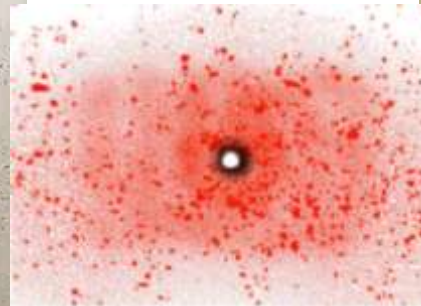
- **Passivamente:** pela acção da força da gravidade



Sangue

3. Mecanismo de Produção

- **Por projecção:**
 - a fonte exposta de sangue é sujeita a uma acção ou força maior que a gravidade, interna ou externa.
 - O tamanho, forma e numero de manchas dependerá da força exercida
 - A trajectória descreve uma parábola





SALIVA



Saliva

- Pode permitir a identificação do DNA por transportar **células epiteliais da descamação da mucosa bucal** (como a urina e o epitélio das vias urinárias)
- Pode ser encontrada em:
 - vítima (mordedura)
 - filtros de cigarros fumados
 - copos, garrafas, latas de refrigerantes
 - pastilhas elásticas
 - Selos ou envelopes
 - Recolhida através de zaragatoa bucal do suspeito, controlos e vítima

**As mais frequentes
no local do crime**

Saliva

Protocolo de acção:

Recolha da amostra:

Colher com luvas

Usar zaragatoa ou gaze estéril

Secar ao ar

Embalar em contentor de papel rígido

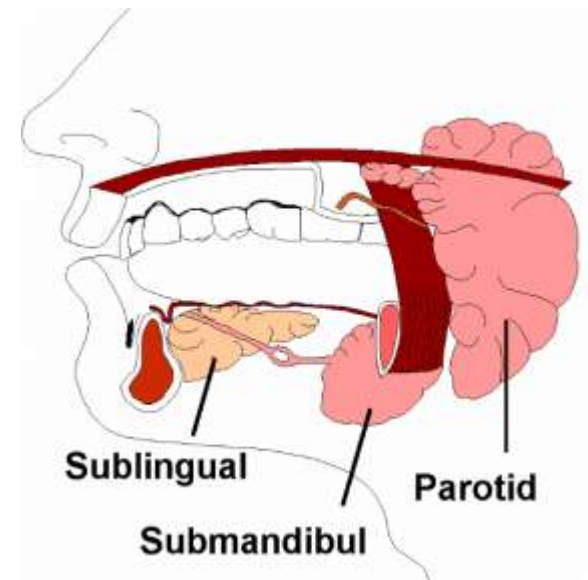
Enviar para o laboratório

Provas de identificação

Teste amido-iodina

Reagente *Phadebas*

Identificar DNA



Saliva

Recolha da amostra:

- Provas de identificação:

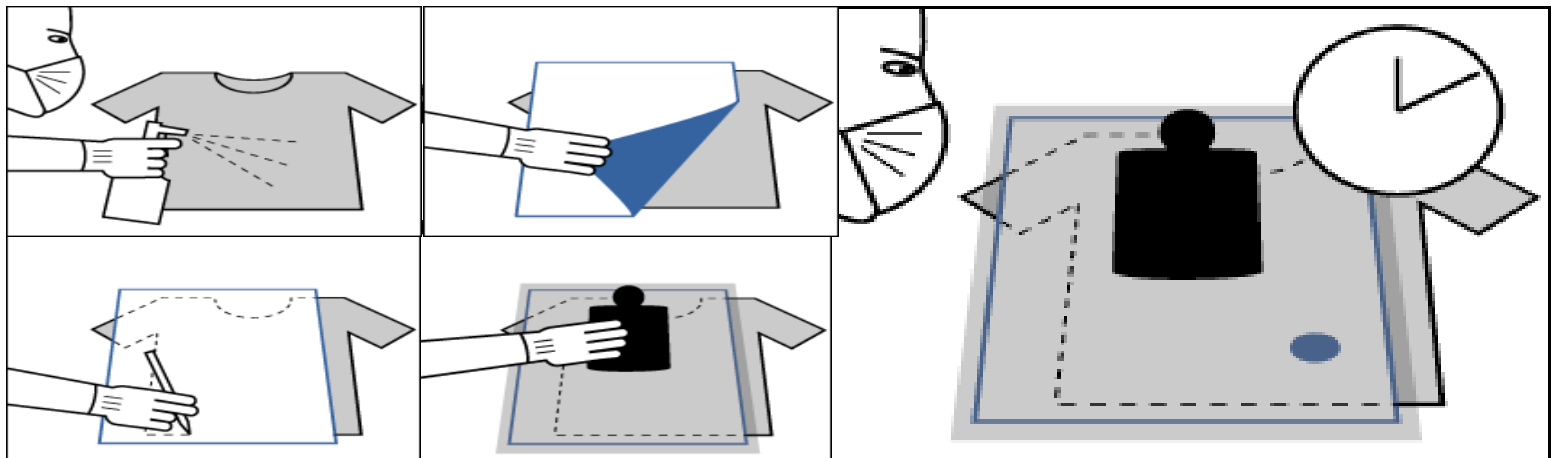
presença da **Amilase**

- **Teste amido-iodina**

- Amostra de cor azul se positivo



- **Reagente Phadebas**



Saliva

Recolha da amostra:

- Provas de identificação:

- Reagente *Phadebas*

- Em tubo

- Amostra com o corante num tubo
- Acrescentar água e o reagente *Phadebas* e aquecer.
- Centrifugar.
- Avaliar a intensidade da cor no topo do líquido por espectrofotometria



Saliva

Conclusão:

As provas de identificação poderão destruir células nucleadas.

Assim, normalmente não são realizadas.

Inferre-se que é saliva pelo local de onde é recolhido o material biológico:

- selos
- envelopes
- marcas de mordedura
-





SÉMEN

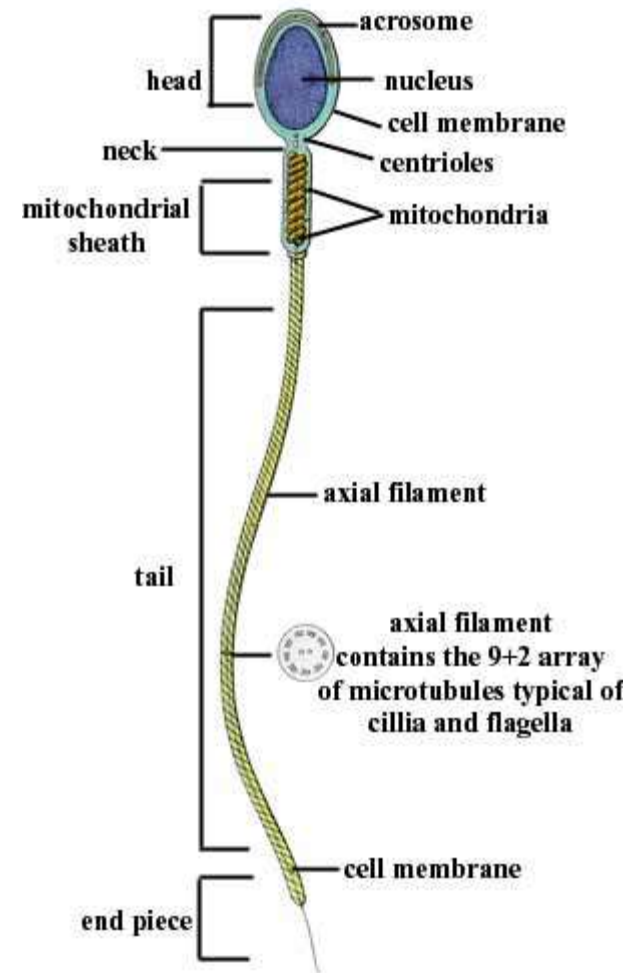


Características do sémen

- Líquido denso, gelatinoso, branco azinzentado e opalino
- Períodos de abstinência sexual tornam o sémen mais amarelado
- Após 10 a 30 minutos fora do organismo, o líquido torna-se extremamente fluido
- pH = 8,1 - 8,4

Características do sémen

- Volume de ejaculação = 2 - 6 mL
- Espermatozóides
 - Produzidos nos tubos seminíferos dos testículos
 - c.100 milhões espermatozóides/mL
 - Cabeça contém DNA
 - Cauda confere mobilidade
- Plasma seminal
 - Produzido pelas vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais
 - Componentes orgânicos e inorgânicos
 - Meio nutritivo e protector para os espermatozóides



Importância forense do sémen

- Permite ajudar a provar que foi cometido um crime contra a liberdade sexual (agressão ou abuso sexual)
- Permite identificar o suspeito

Apresentação do sémen

- Mancha, impregnando um tecido/roupa ou sobre uma superfície
- Fluido , misturado com outros fluidos corporais (ex. secreções vaginais) da vítima
- Sémen, colhido directamente do sujeito

Identificação e recolha

- **Inspeção visual da mancha nos tecidos**
 - Em forma de “carta geográfica”:
morfologia irregular com contornos bem delimitados
 - Cor branco-amarelada
 - Tecidos com consistência rígida,
aspecto “engomado”
 - Difusão não homogénea nos tecidos – elementos celulares permanecem no centro da mancha



Identificação e recolha

- **Observação das manchas com luz ultravioleta de Wood**
 - Fluorescência branco-amarelada (+)
 - Fluorescência não é específica de sémen (urina provoca fluorescência celeste)
 - Fluorescência pode estar ausente se mancha foi tratada com detergente

Identificação e recolha

- Material recolhido tem 3 destinos:
 1. Investigação de componentes bioquímicos
 2. Investigação microscópica de espermatozóides
 3. Investigação de DNA (PCR) – material não manipulado

Investigação analítica

– Testes para identificação provável

- Fosfatase ácida seminal (prostática)
- Espermina
- Colina
- Zinco

Investigação analítica

– Testes para identificação provável

- Pesquisa de **fosfatase ácida seminal (prostática)**
 - Enzima produzida pela próstata mas também por outros órgãos, não sendo específica apenas do sémen
 - Concentração 400x superior no sémen

Investigação analítica

– Testes para identificação provável

• Pesquisa

Fast L

– Zar

sob

– Rea

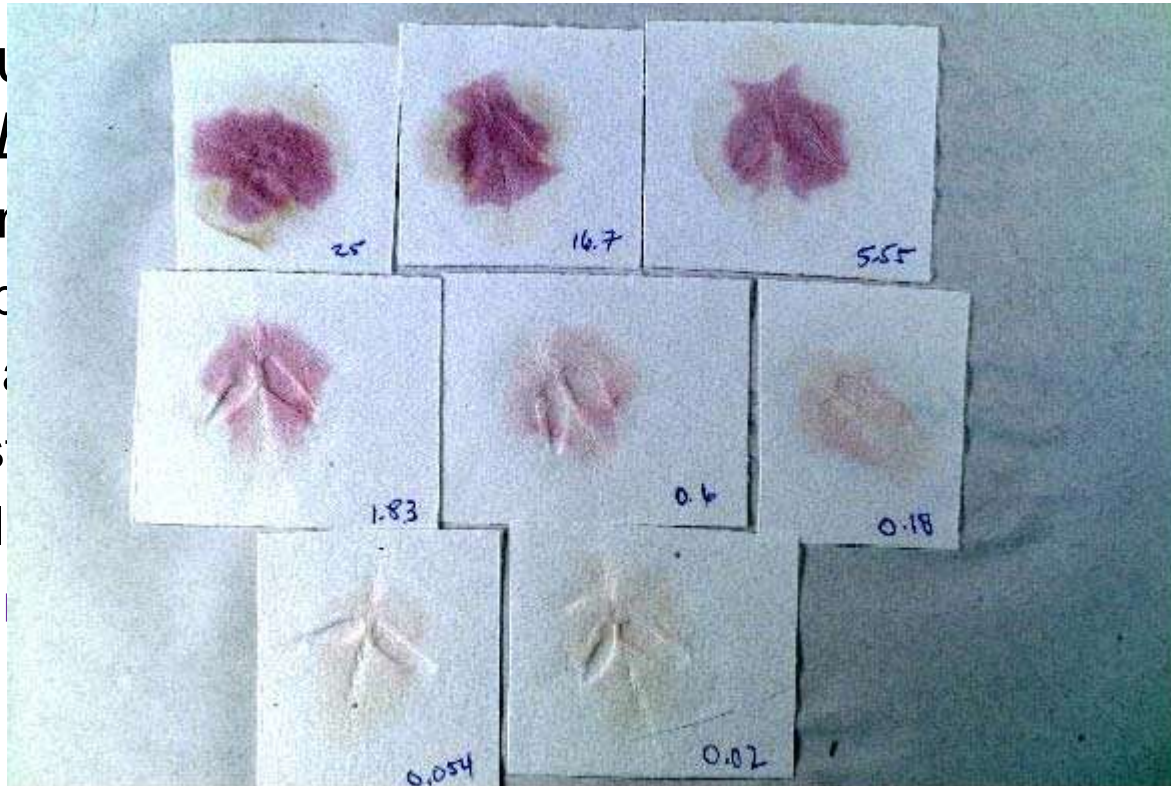
fos

apl

– Co

•

- Outros materiais (urina, secreções vaginais, suor, sumos de fruta ou vegetais) podem produzir reacções ligeiras



ica) -



Investigação analítica

– Testes para identificação definitiva

- Pesquisa de espermatozóides no microscópio
- Pesquisa do Antígeno Específico da Próstata (p30)

Investigação analítica

– Testes para identificação definitiva

- **Pesquisa de espermatozóides no microscópio**

- Microscópio óptico

- Corante “*christmas tree*” – cabeça dos espermatozóides coram de vermelho, cauda cora de verde

- Microscópio electrónico de varrimento

Investigação analítica

– Testes para identificação definitiva

- **Pesquisa de Antígeno Específico da Próstata (p30)**
 - Proteína produzida pela próstata
 - Confirma a presença de sémen em amostras fosfatase ácida (+) mas que não contêm espermatozóides visíveis por microscopia
 - Método imunológico: reacção Ag-Ac

Identificação individual

Se identificação de sémen (+)



Pesquisa de DNA (PCR) para identificação do suspeito

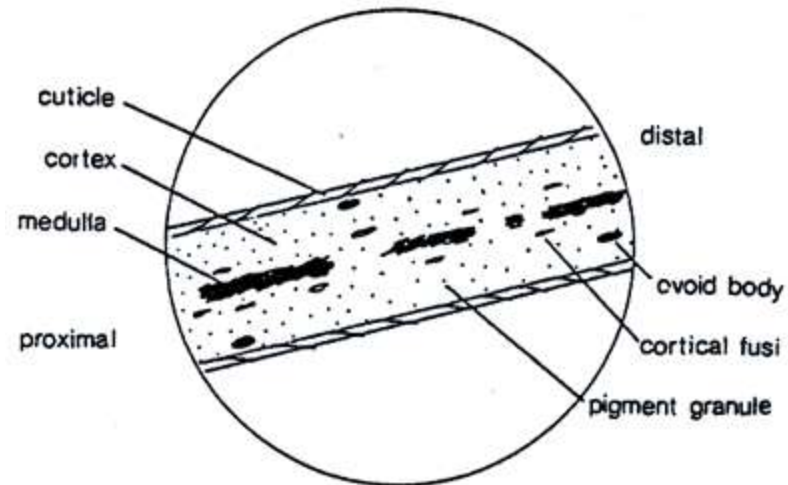
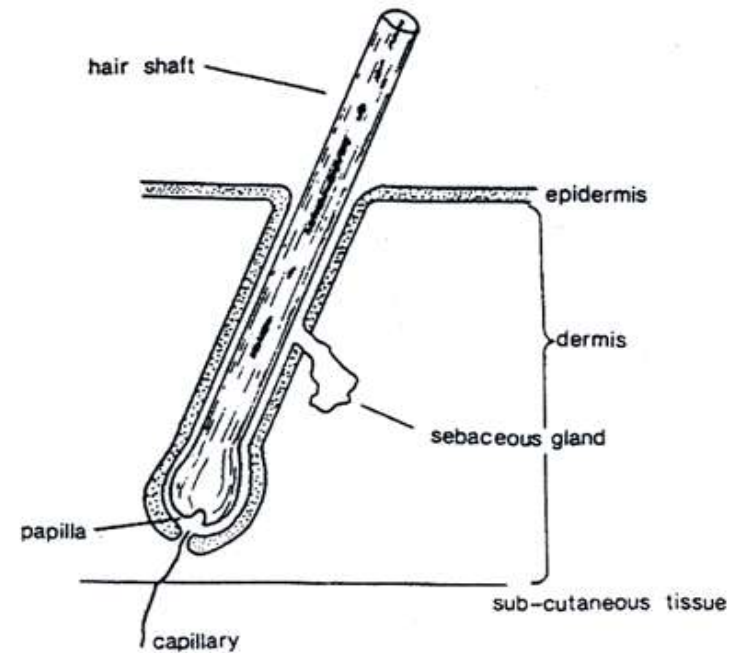


PÊLOS



Estrutura do pêlo

- Componentes básicos:
 - Queratina – proteína resistente à decomposição
 - Melanina – pigmento
- Raíz – assenta sobre o folículo piloso
- Haste – composta por 3 camadas:
 - Cutícula externa – células queratinizadas transparentes
 - Cortex – células mortas e pigmentos, conferem resistência, elasticidade, forma e cor
 - Medula – contínua ou descontínua



Importância forense do pêlo

- Investigação microscópica:
 - Determinação da espécie, raça e origem somática do pêlo
 - Microscopia comparativa para colocar/excluir o suspeito da cena do crime
- Investigação toxicológica
 - Consumo de drogas
 - Exposição a toxinas
- Investigação de DNA
 - Diagnóstico individual

Investigação forense do pêlo

- **Recolha na cena do crime:**

- Manual (pinças)
- Fita adesiva
- Rolo adesivo
- Aspirador



- **Recolha de amostras de controlo:**

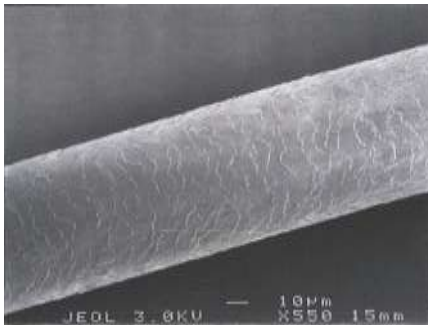
- Vítima, suspeitos e todos os indivíduos em contacto directo com a cena do crime
- Pêlos de todas as regiões pertinentes do corpo, com raiz intacta
 - 50 pêlos da cabeça (cabelos)
 - 24 pêlos púbicos



Investigação forense do pêlo

- Pêlo humano vs animal

Cutícula

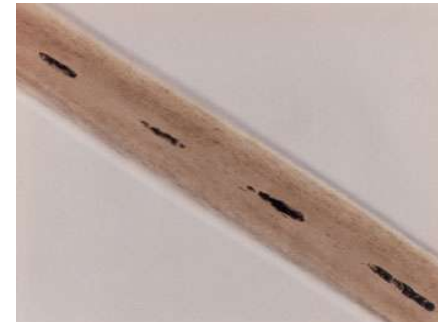


Pêlo humano – padrão escamoso da cutícula



Pêlo de morcego – padrão em coroa da cutícula

Medula



Pêlo humano – medula descontínua, index medular $< 1/3$



Pêlo de rato – medula contínua, index medular $> 1/2$

Investigação forense do pêlo

- **Raça**

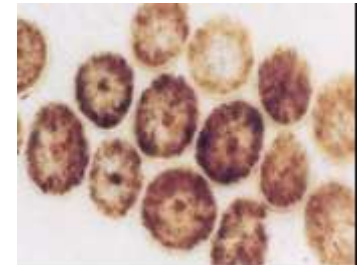
- Negra :

- Haste encaracolada com variações de diâmetro
 - Pigmento denso de distribuição não uniforme
 - Medula fragmentada ou ausente
 - Secção transversal achatada



- Asiática:

- Haste recta/lisa com diâmetro volumoso
 - Pigmento denso de distribuição não uniforme
 - Medula contínua
 - Secção transversal redonda



- Caucasiana:

- Haste recta/lisa ou ondulada com diâmetro moderado
 - Pigmento pouco denso de distribuição uniforme
 - Secção transversal oval

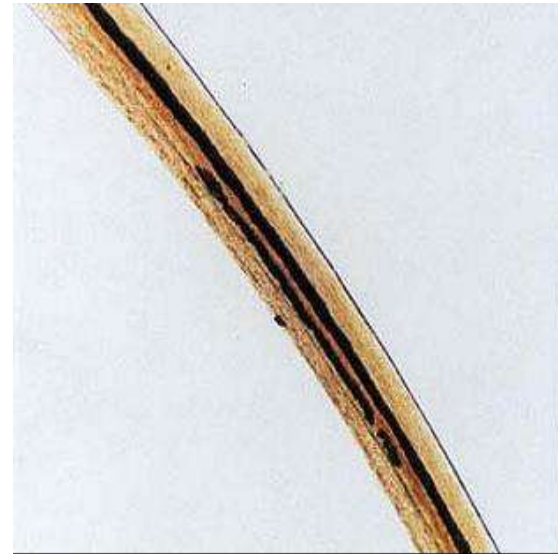


Investigação forense do pêlo

- **Região do corpo**



Pêlo de um membro



Pêlo da barba



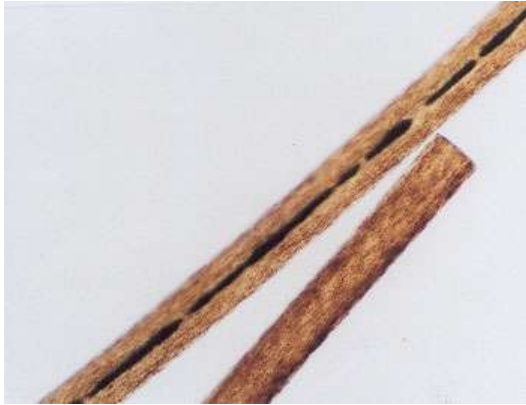
Cabelo



Pêlo púbico

Investigação forense do pêlo

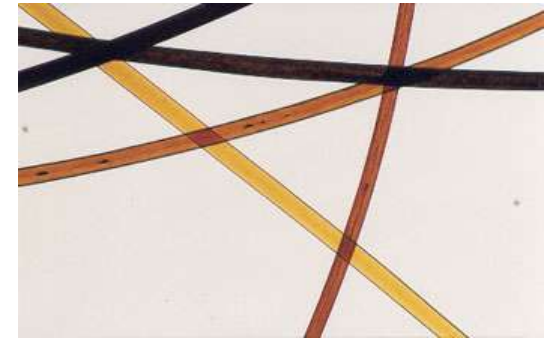
- **Traumatismos/tratamentos capilares**



Pêlo cortado c/ tesoura



Pêlo cortado c/ lâmina



Pêlo tingido



Pêlo quebrado



Pêlo queimado



Pêlo “arrancado”

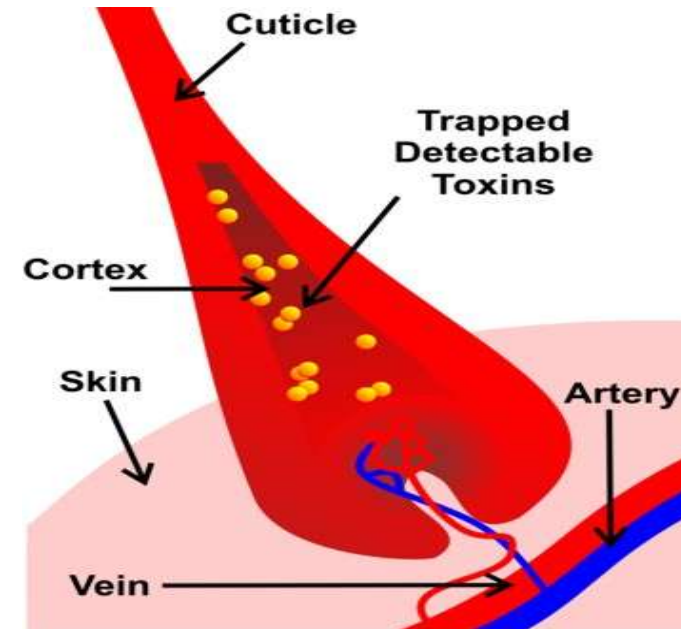
Investigação forense do pêlo

- **Investigação toxicológica**
(ELISA, radioimunoensaios)

- Fármacos, drogas, metais pesados

- Pêlo absorve a droga ou toxina metabolizada através do suporte sanguíneo do folículo

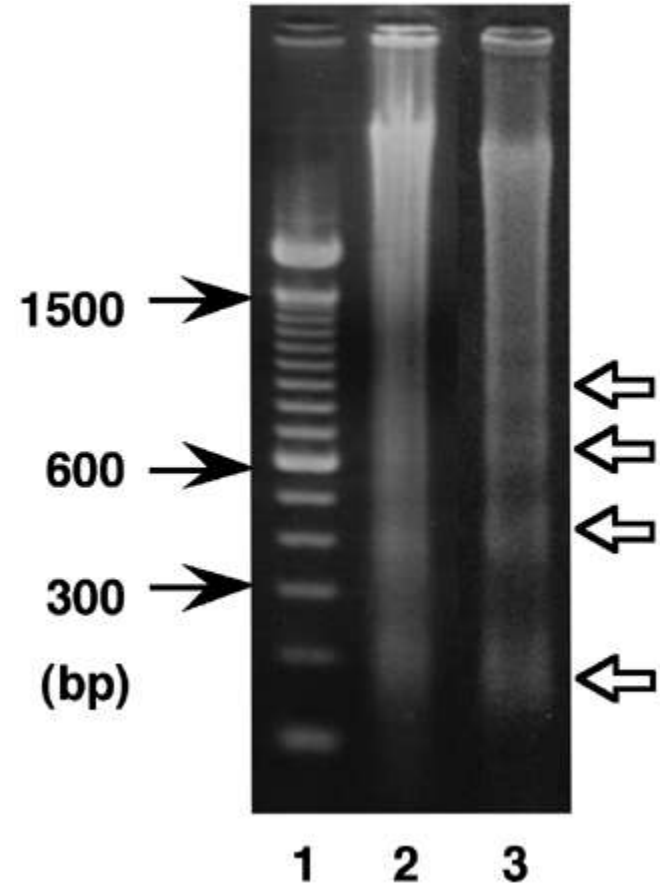
- Vestígio da droga ou toxina só desaparece do pêlo se deixar de haver exposição do organismo e o pêlo for cortado (pêlo cresce c. 13mm/mês)



Investigação forense do pêlo

- **Investigação de DNA**

- DNA nuclear (nDNA) e DNA mitocondrial (mtDNA) podem ser extraídos da raíz ou da bolsa folicular do pêlo
- Pêlos na fase de crescimento (anagénica, 80% da totalidade dos pêlos) contêm maior quantidade de DNA
- mtDNA é transmitido apenas pela mãe
- nDNA é transmitido por ambos os progenitores e permite a individualização do suspeito



Bibliografia

- **Coisbert Calabuig, J.A.** (2001). *Medicina Legal y toxicologia*. Masson, 5 ed. : 1103-1107, 118-1127.
- Encyclopedia of Forensic Sciences – volume 1. Jay A. Siegel. Academic Press, 2000: 409-452.
- Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine – Vol two. Payne-James, Jason. Elsevier, 2005: 1-31.
- **Martínez Janeta, M^a Begoña.** La prueba del AND en medicina forense: la genética al servicio de la ley en el análisis de indicios criminales y en la investigación biológica de la paternidad. Masson S.A., 1999: 173-188.
- **Meijerman, Lynn;** et al. Review article in forensic investigation. Forensic Science, Medicine and Pathology, 2005: 247-256.
- **Olshaker, J.S.** Forensic Emergency Medicine. 2nd edition, Lippincott William&Wilkins, 2007: 86-98; 235-238; 268-278.
- **Pinheiro, Maria Terra (org);** CSI Criminal. Edições Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2008: 31-35, 134-137, 154-156, 186-194.
- **Saferstein, Richard.** Criminalistics: an introduction to forensic sciences. 8th edition, International Edition, 2004: 34-51, 204-205, 216-219, 228-229.

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



"Don't you people ever take a pulse? !"