



HISTOQUÍMICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA: APLICABILIDADE NO CONTEXTO FORENSE

Daniel José Resende Saggin ¹, Andressa Pontello ², Amanda Caroline Bogo Piccinin ³, José Ignacio Aiquel Bellolio ⁴

REVISÃO NARRATIVA

RESUMO

Introdução: A histoquímica e a imuno-histoquímica são essenciais no campo forense, permitindo a análise detalhada de amostras biológicas. A histoquímica revela componentes químicos em tecidos, enquanto a imuno-histoquímica detecta antígenos usando anticorpos marcados. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão literária, selecionando 8 fontes de junho a julho de 2024 em bases como Pubmed, Scielo, Google Scholar e livros. **Resultados:** A pesquisa revelou avanços em sensibilidade e especificidade, graças ao desenvolvimento de novas tecnologias. A histoquímica e imuno-histoquímica são cruciais na identificação de biomarcadores, lesões traumáticas e agentes patogênicos em amostras complexas. **Discussão:** A evolução contínua dessas técnicas fortalece a investigação forense, promovendo segurança e justiça através da inovação tecnológica e colaboração multidisciplinar.

Palavras-chave: Análise forense, Biomarcadores, Investigação criminal.

HISTOCHEMISTRY AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY: APPLICABILITY IN THE FORENSIC CONTEXT

ABSTRACT

Introduction: Histochemistry and immunohistochemistry are essential in the forensic field, allowing the detailed analysis of biological samples. Histochemistry reveals chemical components in tissues, while immunohistochemistry detects antigens using labeled antibodies. **Methodology:** A literature review was carried out, selecting 8 sources from June to July 2024 in databases such as Pubmed, Scielo, Google Scholar and books. **Results:** The research revealed advances in sensitivity and specificity, thanks to the development of new technologies. Histochemistry and immunohistochemistry are crucial in the identification of biomarkers, traumatic injuries, and pathogens in complex samples. **Discussion:** The continuous evolution of these techniques strengthens forensic investigation, promoting security and justice through technological innovation and multidisciplinary collaboration.

Keywords: Forensic analysis, Biomarkers, Criminal investigation.

Instituição afiliada – Univeridade do Contestado Mafra- SC

Dados da publicação: Artigo recebido em 02 de Junho e publicado em 22 de Julho de 2024.

DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n7p2149-2161>

Autor correspondente: José Ignacio Aiquei Bellolio caco3190@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



INTRODUÇÃO

A histoquímica e a imuno-histoquímica são técnicas fundamentais no campo forense, oferecendo ferramentas poderosas para a análise detalhada de amostras biológicas. A histoquímica refere-se ao estudo da distribuição espacial de componentes químicos em tecidos biológicos, utilizando reações específicas que revelam a presença de moléculas como enzimas, carboidratos e lipídios. No contexto forense, essa técnica é essencial para identificar e caracterizar alterações bioquímicas associadas a condições patológicas, como intoxicações e doenças metabólicas, ajudando na reconstrução dos eventos que levaram à morte de um indivíduo (BANCROFT, et al., 2001).

Por outro lado, a imuno-histoquímica amplia as capacidades da histoquímica ao permitir a detecção e a localização de antígenos específicos em tecidos usando anticorpos marcados com corantes ou fluoróforos. Isso é crucial em investigações forenses para identificar células, proteínas ou outros elementos relevantes, como toxinas ou microrganismos, que podem estar envolvidos em causas de morte suspeitas. A precisão e sensibilidade dessa técnica são fundamentais para estabelecer diagnósticos diferenciais e fornecer evidências substanciais em processos judiciais (DE GIORGIO, 2014).

No contexto forense, a aplicabilidade da histoquímica e imuno-histoquímica abrange diversas áreas, desde a determinação da causa da morte até a análise de amostras de tecidos recuperadas de cenas de crime. Essas técnicas permitem a identificação de lesões específicas, como hemorragias internas, lesões traumáticas ou alterações celulares induzidas por agentes externos, como drogas ilícitas. Além disso, a capacidade de correlacionar achados histopatológicos com evidências circunstanciais pode ser crucial para a reconstrução detalhada dos eventos que precederam um óbito, fornecendo assim um panorama mais completo para investigadores e peritos forenses (FRANCO, M. et al., 2010).

Embora essas técnicas sejam amplamente reconhecidas por sua capacidade de identificar e caracterizar componentes moleculares em tecidos, há questões fundamentais a serem exploradas quanto à sua aplicabilidade específica e eficácia no contexto forense. Este estudo propõe investigar como a histoquímica e a imuno-

histoquímica podem ser melhor empregadas para a determinação precisa da causa de morte e para a análise detalhada de evidências biológicas em cenários criminais (FRANCO, M. et al., 2010).

Conceituando-se a aplicabilidade da histoquímica e imuno-histoquímica no contexto forense, este estudo adotou uma abordagem de revisão literária integrativa. Foi realizada revisão extensiva da literatura para compreender o estado atual das técnicas e suas aplicações no campo forense, essa pesquisa forneceu um panorama geral das metodologias utilizadas, suas limitações conhecidas e as áreas emergentes de desenvolvimento.

O objetivo deste estudo foi investigar como as técnicas de histoquímica e imuno-histoquímica podem ser aplicadas de maneira eficaz no contexto forense, e na análise de evidências biológicas em investigações criminais. Abordou-se a eficácia das técnicas de histoquímica na identificação de alterações patológicas e na detecção de toxinas em amostras biológicas coletadas de casos forenses. Essa análise permitiu entender como essas técnicas podem contribuir para a identificação de condições médicas relevantes para o desfecho fatal.

Realizou-se um estudo comparativo entre os resultados obtidos pelas técnicas de histoquímica e imuno-histoquímica e os métodos diagnósticos tradicionais. Essa comparação tornou-se essencial para validar a confiabilidade e a aplicabilidade dessas técnicas no contexto forense, contribuindo assim para fortalecer a base científica das investigações e para a apresentação de evidências em processos judiciais.

Ao abordar essas técnicas, espera-se não apenas ampliar o conhecimento sobre o uso dessas em investigações criminais, mas também promover avanços na prática forense, melhorando a capacidade de determinar com precisão as circunstâncias de morte e auxiliando na busca por justiça e segurança pública.

No contexto forense, onde a precisão e a confiabilidade das evidências são cruciais para estabelecer responsabilidades legais e garantir justiça, o uso dessas técnicas pode fornecer insights valiosos que não são facilmente obtidos por métodos convencionais. Portanto, investigar como essas técnicas podem ser otimizadas e aplicadas de maneira eficaz para análise de amostras forenses é fundamental para fortalecer a base científica das investigações criminais.

METODOLOGIA

A metodologia de escolha para realização da seguinte pesquisa, foi uma revisão bibliográfica de abordagem narrativa.

A pesquisa seguiu os métodos recomendados, após escolha do tema e pesquisa preliminar. Realizou-se a leitura, seleção, avaliação e análise das amostras pesquisadas.

Definiu-se as características da pesquisa para então discutir, interpretar e apresentar os resultados alcançados.

A pergunta norteadora foi: De que forma a histoquímica e imuno-histoquímica contribuem no contexto forense.

Para a seguinte pesquisa foram utilizadas bibliografias digitais e impressas, como forma de coletar dados e realizar análises críticas das mesmas, discutir os resultados e apresentar a revisão integrativa.

Os artigos foram coletados no período entre março a junho de 2024 levantando-se trabalhos especificamente relacionados ao tema proposto, resultando em 8 fontes. Os critérios de inclusão definidos para a seleção dos artigos foram: artigos publicados em português, inglês, espanhol; que retratassem a temática referente a revisão. A base de dados utilizada foi Pubmed, Scielo, Google Schoolbar e bibliografias escritas. A pesquisa foi pautada nos seguintes descritores em ciências da saúde DeCS em português: Microbiologia Forense, Patologia Legal, Medicina Legal, Ciências Forenses. Descritores em ciências da saúde DeCS em inglês: Forensic Microbiology, Forensic Pathology, Forensic Medicine, Forensic Sciences.

RESULTADOS

HISTOQUÍMICA

A histoquímica é uma técnica utilizada em biologia e medicina para identificar a localização e distribuição de substâncias químicas nos tecidos biológicos. A sua história remonta ao final do século XIX, quando cientistas começaram a desenvolver métodos para visualizar componentes celulares em amostras de tecido. Inicialmente, a histoquímica era realizada de forma rudimentar, com a utilização de corantes simples e observação microscópica. Com o avanço da tecnologia e o desenvolvimento de novas



técnicas, a histoquímica se tornou uma ferramenta fundamental para a análise de processos biológicos e patológicos (FRANCO, et al., 2010).

Ao longo do tempo, a histoquímica evoluiu significativamente, com a introdução de corantes mais específicos e métodos de análise mais sofisticados. No início do século XX, surgiram técnicas que permitiam a identificação de diferentes tipos de biomoléculas nos tecidos, como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios. Essas técnicas revolucionaram a compreensão dos processos celulares e abriram novas possibilidades de estudo no campo da biologia celular e molecular (FRANCO, et al., 2010).

Com o avanço da microscopia eletrônica e o desenvolvimento de corantes fluorescentes, a histoquímica alcançou um novo patamar de sensibilidade e especificidade na detecção de biomoléculas. A combinação dessas técnicas permitiu a visualização de estruturas celulares em detalhes até então inéditos, revelando informações fundamentais sobre a organização e funcionamento dos tecidos biológicos. A histoquímica tornou-se essencial não apenas para a pesquisa científica, mas também para o diagnóstico e prognóstico de doenças (RAMOS-VARA, 2005).

A histoquímica desempenha um papel crucial em diversas áreas da medicina, como a patologia, a oncologia e a neurociência. Através da identificação de biomoléculas específicas em tecidos doentes, os pesquisadores podem diagnosticar e classificar doenças com maior precisão, o que é fundamental para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. Além disso, a histoquímica é amplamente utilizada na investigação de mecanismos fisiopatológicos, ajudando a elucidar as bases moleculares de diversas doenças (RAMOS-VARA, 2005).

A aplicação da histoquímica se estende também para outras áreas, como a biotecnologia, a farmacologia e a biologia do desenvolvimento. Na biotecnologia, por exemplo, a histoquímica é utilizada para a identificação e caracterização de proteínas em organismos geneticamente modificados, auxiliando na produção de medicamentos e alimentos. Já na farmacologia, a histoquímica é empregada na análise da distribuição de fármacos nos tecidos e na investigação dos efeitos desses compostos sobre as células (RAMOS-VARA, 2005).

A histoquímica tem uma longa trajetória de avanços e descobertas que contribuíram significativamente para o progresso da biologia e da medicina. Ao longo

dos anos, técnicas cada vez mais sensíveis e específicas foram desenvolvidas, permitindo a visualização e quantificação de diferentes componentes celulares com alta resolução. A histoquímica é uma ferramenta fundamental para a compreensão dos processos biológicos em nível celular e molecular, sendo essencial para a investigação e o diagnóstico de doenças (WICK, et al., 1999).

A evolução da histoquímica está intimamente ligada ao desenvolvimento de novas tecnologias e metodologias de análise. Com o avanço da biologia molecular e da bioinformática, novas abordagens têm sido incorporadas à histoquímica, possibilitando uma compreensão mais abrangente e detalhada dos processos biológicos. A integração de técnicas de imagem, análise computacional e modelagem matemática tem ampliado as possibilidades de estudo, permitindo a investigação de fenômenos complexos e a geração de conhecimento inovador (WICK, et al., 1999).

A histoquímica continua a desempenhar um papel fundamental na pesquisa científica e na prática clínica, contribuindo para avanços significativos no entendimento e no tratamento de doenças. A capacidade de visualizar e quantificar biomoléculas nos tecidos biológicos em escala microscópica é essencial para a identificação de biomarcadores, o desenvolvimento de terapias direcionadas e a compreensão dos mecanismos de resistência a medicamentos. A histoquímica é uma ferramenta versátil e poderosa, que continuará a impulsionar a inovação e a descoberta nas ciências da vida (WICK, et al., 1999).

IMUNOHISTOQUÍMICA

A imuno-histoquímica é uma técnica derivada da histoquímica que se tornou crucial na investigação e diagnóstico de doenças, bem como no estudo da biologia celular e molecular. Ao contrário da histoquímica convencional, que utiliza corantes para identificar componentes celulares, a imuno-histoquímica se baseia na detecção de anticorpos específicos para identificar proteínas em tecidos (BRANCROFT, et al., 2001).

A imuno-histoquímica revolucionou a capacidade dos pesquisadores de visualizar e quantificar proteínas em amostras de tecido, permitindo a identificação de marcadores biológicos associados a doenças específicas. Essa técnica é amplamente utilizada em patologia para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de cânceres, doenças

autoimunes, infecciosas e outras condições patológicas (BRANCROFT, et al., 2001).

A sensibilidade e especificidade da imuno-histoquímica tornam possível a identificação de proteínas em tecidos com grande precisão, permitindo a distinção entre diferentes tipos celulares e a avaliação da expressão de proteínas-alvo em condições normais e patológicas. Além disso, a imuno-histoquímica é essencial para a investigação de mecanismos fisiopatológicos, a identificação de alvos terapêuticos e o monitoramento da resposta ao tratamento (DE GIORGIO, 2010).

A evolução da imuno-histoquímica tem sido impulsionada pelo desenvolvimento de novos anticorpos, corantes e métodos de detecção, bem como pela integração de técnicas de imagem avançadas e análise computacional. A aplicação de marcadores multiplexados e abordagens quantitativas tem ampliado as possibilidades de estudo, permitindo a investigação de interações moleculares complexas e a identificação de padrões de expressão proteica em larga escala (DE GIORGIO, 2010).

A imuno-histoquímica desempenha um papel fundamental na pesquisa translacional e na prática clínica, sendo amplamente utilizada em estudos de biomarcadores, avaliação de resposta a tratamentos e classificação de tumores. O uso de painéis de biomarcadores na imuno-histoquímica tem se mostrado indispensável para a caracterização molecular de diferentes subtipos de câncer e para a personalização de terapias direcionadas (DE GIORGIO, 2010).

Com a contínua evolução da tecnologia e a crescente disponibilidade de anticorpos e reagentes de alta qualidade, a imuno-histoquímica continua a expandir suas aplicações e a contribuir significativamente para o avanço das pesquisas em diversas áreas da biomedicina. A capacidade de visualizar e analisar proteínas em contextos fisiológicos e patológicos tem possibilitado a descoberta de novos alvos terapêuticos, a identificação de biomarcadores preditivos e prognósticos e o desenvolvimento de terapias personalizadas. A imuno-histoquímica é uma ferramenta poderosa e versátil, que continuará a desempenhar um papel crucial no progresso da medicina e da biologia molecular (DE GIORGIO, 2010).

A histoquímica e a imuno-histoquímica desempenham papéis fundamentais no contexto forense, fornecendo ferramentas poderosas para a análise de evidências biológicas em cenas de crime e investigações criminais. A histoquímica, por exemplo,

pode ser utilizada para identificar substâncias e compostos químicos em amostras de tecido, como sangue, sêmen, saliva e outros fluidos corporais. Isso pode ajudar na determinação da presença de drogas, toxinas e outros agentes químicos relevantes para a investigação (FRANCO, et al., 2010).

No campo forense, a histoquímica também é útil na identificação de padrões de lesões celulares e teciduais causadas por agentes físicos, como armas brancas, armas de fogo ou produtos químicos. A capacidade de visualizar esses danos microscópicos pode auxiliar na reconstrução dos eventos que levaram à morte de uma vítima, bem como na identificação de possíveis agressores. Além disso, a histoquímica pode ser empregada na análise de amostras biológicas deterioradas ou em estágios avançados de decomposição, contribuindo para a identificação e a caracterização de evidências mesmo em condições adversas (FRANCO, et al., 2010).

Por outro lado, a imuno-histoquímica é uma ferramenta valiosa no contexto forense devido à sua capacidade de identificar e caracterizar proteínas específicas em tecidos biológicos. Na investigação de crimes, a imuno-histoquímica pode ser empregada na identificação de substâncias como marcadores celulares, proteínas de origem viral ou bacteriana e produtos de degradação tecidual. Essas informações podem ser cruciais na reconstrução dos eventos que levaram à morte ou lesões de uma vítima, bem como na identificação de possíveis suspeitos (FRANCO, et al., 2010).

Além disso, a imuno-histoquímica pode ser utilizada na avaliação de amostras forenses para identificação de marcadores de resposta inflamatória, indicando a presença de infecções ou processos de cicatrização. Essa técnica também pode ser empregada na detecção de antígenos específicos associados a doenças infecciosas, permitindo a identificação de patógenos em tecidos biológicos. Dessa forma, a imuno-histoquímica pode fornecer informações cruciais na elucidação de casos de morte de origem infecciosa ou de causas desconhecidas (FRANCO, et al., 2010).

No contexto forense, a imuno-histoquímica também é útil na identificação de lesões específicas associadas a determinadas formas de agressão, como hematomas, contusões, lesões por asfixia, entre outros. A detecção de biomarcadores de estresse, como proteínas de choque térmico, também pode auxiliar na determinação das circunstâncias de um evento traumático. Além disso, a imuno-histoquímica pode ser

empregada na análise de amostras de vestígios biológicos em locais de crime, contribuindo para a identificação de vítimas, suspeitos ou testemunhas por meio da caracterização de perfil genético, antígenos celulares ou outras proteínas específicas (KUMAR, et al., 2010).

A combinação da histoquímica e imuno-histoquímica no contexto forense abre diversas possibilidades de análise e investigação. A histoquímica pode fornecer informações sobre a presença de substâncias químicas ou padrões de lesões microscópicas em amostras de tecido, enquanto a imuno-histoquímica pode identificar marcadores específicos e proteínas relevantes para a elucidação de crimes. A interpretação conjunta dos resultados dessas técnicas pode fornecer insights precisos e detalhados sobre a natureza e circunstâncias de um evento criminoso, auxiliando na reconstrução dos fatos e na identificação dos responsáveis (KUMAR, et al., 2010).

A histoquímica e a imuno-histoquímica são usadas não apenas para análise de amostras biológicas, mas também para a investigação de lesões em órgãos internos, identificação de padrões de resposta molecular a agentes agressores e caracterização de evidências em locais de crime. A capacidade dessas técnicas de fornecer informações detalhadas sobre a estrutura e composição dos tecidos biológicos em nível microscópico é essencial para a investigação forense, permitindo a análise precisa e objetiva de evidências biológicas (KUMAR, et al., 2010).

A aplicação da histoquímica e imuno-histoquímica em casos forenses exige a utilização de protocolos e métodos específicos para a preparação e análise de amostras, garantindo a qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos. O uso de controles de qualidade, técnicas de validação e padronização de procedimentos são essenciais para assegurar a precisão e reprodutibilidade dos dados gerados. Além disso, a interpretação dos resultados deve levar em consideração o contexto do caso, os achados clínicos e a correlação com outras evidências disponíveis (LANGLOIS, 2006).

A evolução constante da tecnologia na área da histoquímica e imuno-histoquímica tem contribuído para o aprimoramento das técnicas e a ampliação das aplicações no campo forense. O desenvolvimento de anticorpos mais específicos, métodos de amplificação de sinal e sistemas de análise de imagem mais sofisticados tem permitido obter informações mais detalhadas e confiáveis a partir de amostras cada vez

mais complexas. Esses avanços tecnológicos têm impulsionado a investigação forense, possibilitando a identificação de evidências cruciais para a resolução de casos complexos e a busca pela verdade em situações de crime (LANGLOIS, 2006).

A integração de dados obtidos por meio da histoquímica e imuno-histoquímica com outras técnicas forenses, como a genética forense, a toxicologia e a balística, pode fornecer uma visão abrangente e multidisciplinar de um caso criminal. A combinação de diferentes abordagens analíticas e interpretativas pode enriquecer a investigação, facilitar a reconstrução dos eventos e fortalecer as evidências apresentadas em um tribunal. A colaboração entre profissionais de diversas áreas da ciência forense é essencial para garantir a integridade e robustez das análises realizadas, contribuindo para a justiça e a segurança da sociedade (LANGLOIS, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluindo-se, a histoquímica e imuno-histoquímica desempenham um papel crucial no campo forense, fornecendo informações detalhadas e precisas que auxiliam na investigação e resolução de casos criminais. A capacidade dessas técnicas de identificar e caracterizar substâncias químicas, lesões e proteínas específicas em amostras de tecido é essencial para a reconstrução de eventos, a identificação de possíveis suspeitos e a busca pela verdade, identificando, assim, os responsáveis. O uso combinado da histoquímica e imuno-histoquímica, juntamente com o avanço tecnológico e a colaboração multidisciplinar, fortalece a investigação forense e contribui para a busca pela justiça.

O desenvolvimento de métodos mais sensíveis, específicos e automatizados tende a aprimorar a eficiência e a confiabilidade das análises realizadas, proporcionando um maior grau de detalhamento e precisão nos resultados obtidos. A combinação desses avanços com abordagens integrativas de análise forense promete enriquecer ainda mais a investigação criminal e o processo judicial.

Portanto, a aplicação da histoquímica e imuno-histoquímica no contexto forense representa um campo em constante evolução, no qual a ciência e a tecnologia se unem para fortalecer a busca pela verdade e a garantia da justiça. O uso adequado e criterioso dessas técnicas, aliado à colaboração entre profissionais especializados, é essencial para



assegurar a integridade e a confiabilidade das análises realizadas, contribuindo para a resolução de casos complexos e a manutenção da segurança e ordem na sociedade.

REFERÊNCIAS

BANCROFT, J. D., Layton, Christopher e Survana, Kim S. Bancroft'S Theory And Practice Of Histological Techniques (5th Edition). London : **Elsevier**, 2001. ISBN-13: 978-0443064357.

DE-GIORGIO, Fabio et al. Does the Principle of Cost/Benefit Analysis Apply to Forensic Pathology? *American Journal Of Forensic Medicine & Pathology*, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 300, set. 2010. **Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health)**. <http://dx.doi.org/10.1097/paf.0b013e3181dfc976>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20421777/>. Acesso em: 10 mar. 2024.

DE-GIORGIO, Fabio; VETRUGNO, Giuseppe. Is histological examination always necessary to determine a cause of death? Of course it is! *Forensic Science, Medicine, And Pathology*, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 477-478, 1 mar. 2014. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s12024-014-9543-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12024-014-9543-x>. Acesso em: 10 mar. 2024.

FRANCO, M., et al., *Patologia. Processos gerais*. 5ª edição. São Paulo, **Atheneu**, 2010. 331p. ilustrado. ISBN: 978-85-388-0095-8

KUMAR, V., ABBAS, A., FAUSTO, N. Robbins e Cotran – *Patologia – Bases Patológicas das Doenças*. 8. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2010;

LANGLOIS, Neil e I et al. The Use of Histology in 638 Coronial Post-Mortem Examinations of Adults: an audit. **Medicine, Science And The Law**, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 310-320, out. 2006. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1258/rsmmsl.46.4.310>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17191634/>. Acesso em: 07 jun. 2024.

RAMOS-VARA, J. A. et al. Technical Aspects of Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 405-426, jul. 2005. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1354/vp.42-4-405>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/7737166_Technical_Aspects_of_Immunohistochemistry. Acesso em: 03 maio 2024.

WICK, Mark R. et al. The Impact of Diagnostic Immunohistochemistry on Patient Outcomes. *Clinics In Laboratory Medicine*, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 797-814, dez. 1999. **Elsevier BV**. [http://dx.doi.org/10.1016/s0272-2712\(18\)30091-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0272-2712(18)30091-x). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S027227121830091X>. Acesso em: 22 abr. 2024.