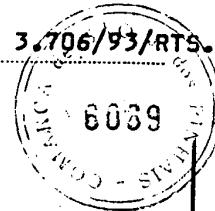




DEPARTAMENTO DA POLÍCIA CIVIL
DO ESTADO DO PARANÁ

DIVISÃO DE POLÍCIA CIENTÍFICA
INSTITUTO MÉDICO - LEGAL

N.º 3.706/93/RTS.



LAUDO DE EXAME CADAVERÍCO

Aos cinco dias do mês de março
de mil novecentos e noventa e três, às 20:00hs.
horas, nesta cidade de Curitiba Estado do Paraná
e a.º Instituto Médico Legal em atenção à
requisição do senhor Delegado de Guaratuba

nós, abaixo-assinados doutores Dr. Gerson Luiz Laux e Dra. Beatriz Helena
Sottile França

em cumprimento de nossa missão de médicos legistas e observando as exigências legais, procedemos o
exame externo no cadáver de "OSSADA HUMANA INCOMPLETA".

tendo em vista os quesitos que por aquela autoridade policial nos foram fornecidos da maneira seguinte:

PRIMEIRO : Houve Morte ?

SEGUNDO : Qual a sua causa ?

TERCEIRO : Qual o instrumento ou meio que a produziu ?

QUARTO : Foi produzido por meio de veneno, fogo, explosivo, asfixia ou tortura, ou por outro meio
incidioso ou cruel ? (Resposta Especificada)

Assim realizada a pericia, passamos a oferecer o laudo que se vê no verso.

Aos cinco dias do mês de março de mil novecentos e noventa e três, às vinte horas, no necrotério do Instituto Médico Legal, atendendo a requisição do Senhor Delegado de Guaratuba, os infra-assinados, médicos legistas, realizaram o exame de uma OSSADA HUMANA INCOMPLETA, o qual foi identificada por outros meios especificados. Terminado o exame, elaboraram o presente laudo e respondem no final, aos seguintes quesitos, propostos por lei: 1ª) Houve morte? 2ª) Qual a sua causa? 3ª) Qual o instrumento ou meio que a produziu? 4ª) Foi produzida por meio de veneno, fogo, explosivo, asfixia, tortura, ou outro meio insidioso ou cruel?.

HISTÓRICO:- A OSSADA HUMANA INCOMPLETA deu entrada neste Instituto dezoenove horas e trinta minutos do dia cinco de março de mil novecentos e noventa e três. Das informações colhidas, consta ter sido encontrada em um matagal à beira de uma estrada em Guaratuba - Pr.. A morte teria ocorrido em mil novecentos e noventa e dois, em condições indeterminadas. DESCRIÇÃO:- Em uma temperatura ambiente, procedeu-se ao exame da ossada, que se processou segundo as normas e técnicas habituais, com a constatação do seguinte: 1 - EXAME EXTERNO:- a) Vestes: A Ossada estava envolta em sacos plásticos com restos de terra. b) Características físicas: Trata-se de uma ossada incompleta, impregnada por terra de cor escura, com ossos apresentando graus diversos de destruições, pela ação do tempo e da fauna silvestre. c) Fórmula dentária: Vide anexo laudo odontológico. d) Lesões: Constatou-se, externamente, a existência: 1) Um crânio, sem soldaduras das sinostoses, com mobilidade da lambdoidéa e com fusão da ametópica (interfrontal), com as medidas: a) largura (bitemporal) de cento e trinta e seis milímetros; b) largura da face (bizigomática) de cento e dez milímetros; c) medida biauricular de oitenta e oito milímetros; d) comprimento (glabela-opistocrânio) de cento e sessenta e oito milímetros; e) altura (baseo-bregma) de cento e vinte e três milímetros; f) altura facial (mento-nasal) de oitenta e cinco milímetros; g) largura nasal de vinte milímetros e altura de vinte e seis milímetros; h) largura da cavidade orbitária

- segue -



DEPARTAMENTO DA POLÍCIA CIVIL
DO ESTADO DO PARANÁ

DIVISÃO DE POLÍCIA CIENTÍFICA
INSTITUTO MÉDICO - LEGAL



LAUDO DE EXAME DE OSSADA HUMANA Nº 3.706/93/RTS.

Fls. nº 02

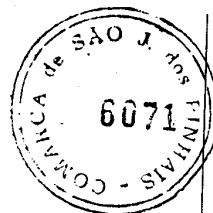
de trinta e seis milímetros e altura de trinta e dois milímetros .
Ossos do crânio leves, delicados e lisos, com a fronte abaulada, apó-
fises mastóides porosas, ausência de apófises estilóides, côndilo '
occipital esquerdo destruído devido deteriorização pelo tempo, man-
díbula porosa com ângulo mandibular de 127º, leve, sem impressões '
evidentes de inserção muscular. Ferida palatina não soldada. Realiz-
ado o Índice de Baudoin no côndilo occipital direito, com resulta-
do abaixo de cinquenta. 2) Clavícula esquerda medindo noventa e '
dois milímetros de extensão. 3) Duas escápulas medindo noventa e se-
te milímetros de altura e sessenta e oito milímetros de largura. 4)
Úmero direito sem epífises, medindo cento e noventa milímetros de
extensão. 5) Úmero esquerdo sem epífises, medindo cento e noventa '
milímetros de extensão. 6) Cúbito direito sem epífise, medindo cen-
to e setenta milímetros de extensão. 7) Rádio direito medindo cento
e cinquenta e seis milímetros de extensão. 8) Ossos da pelve separa-
dos nas linhas da cartilagem de crescimento, com ausência dos ossos.
pubianos. Ossos da pelve constituídos de dois ilíacos e dois ísquios,
leves e porosos. 9) Fêmur esquerdo, separado da sua cabeça ao nível
da cartilagem de crescimento, medindo com a cabeça do fêmur trezen-
tos e sessenta milímetros de comprimento e vinte e dois milímetros '
de diâmetro o colo do fêmur. 10) Tíbia direita sem epífise, medindo
duzentos e sessenta milímetros de extensão. 11) Duas fíbulas medin-
do duzentos e quarenta milímetros de extensão cada uma. 12) Dezesse-
te costelas, medindo a menor trinta e seis milímetros de extensão '
e a maior cento e sessenta e oito milímetros de extensão, não consi-

- segue -



DEPARTAMENTO DA POLICIA CIVIL
DO ESTADO DO PARANA

DIVISAO DE POLICIA CIENTIFICA
INSTITUTO MEDICO - LEGAL



LAUDO DE EXAME DE OSSADA HUMANA Nº 3.706/93/RIS.

Fls. nº 03

derando sua curvatura. 13) Dezenove corpos vertebrais, constituídos por vértebras cervicais, torácicas, lombares e sacrais. Mede o orifício medular da segunda vértebra cervical vinte e um milímetros de largura e dezesseis milímetros de comprimento ântero-posterior; mede o orifício medular da primeira vértebra sacral trinta e um milímetros de largura e treze milímetros de comprimento ântero-posterior. 14) - Três ossos porosos semi-destruídos pelo tempo, leves, com formatos irregulares, lembrando por suas características ossos do tarso, medindo: a) cinquenta e um milímetros de comprimento e vinte e nove milímetros de largura; b) quarenta e nove milímetros de comprimento e trinta e seis milímetros de largura; c) quarenta e quatro milímetros de comprimento e vinte e sete milímetros de largura. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO:- As peças ósseas pelas características encontradas e estudadas são humanas, com idade compreendida entre sete a oito anos, segundo laudo Odontológico anexo. O Índice de Baudoin sugere ser do sexo masculino. Não há indícios de ação violenta no material examinado. A causa médica e jurídica de morte é indeterminada. A esquelitização sugere que a morte ocorreu há mais de um ano. RESPOSTAS AOS QUESITOS: ao primeiro - sim; ao segundo - causa indeterminada; ao terceiro - prejudicada; ao quarto - prejudicada. OBSERVAÇÃO:- Este laudo se acompanha de Laudo Odontológico e quinze (15) fotografias. x:x:x:x:x

Curitiba, 14 de abril de 1.993.

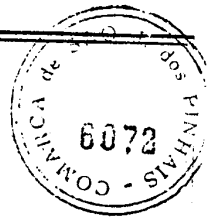
Dr. Gerson Luiz Laux.
- Médico Legista -

Dra. Beatriz Helena Sottile França
- Odontologista -



DEPARTAMENTO DA POLÍCIA CIVIL
DO ESTADO DO PARANÁ

DIVISÃO DE POLÍCIA CIENTÍFICA
INSTITUTO MÉDICO LEGAL



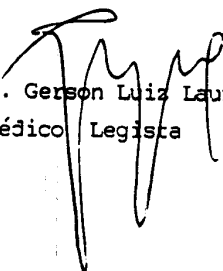
LAUDO DE EXAME COMPLEMENTAR DO EXAME CADAVERÍCO Nº 3.706/93

Foram enviados ao Núcleo de Genética Médica de Minas Gerais (GENE/MG), ossos de um cadáver e amostras de sangue de João Bossi e Paulina Rudy Bossi, para estudo do DNA, com objetivo de identificação da ossada.

Em 17 de janeiro de 1994, o Prof. Dr. Sérgio Danilo Pena, concluiu que os achados da perícia não são compatíveis com a paternidade do casal João Bossi e Paulina Rudy Bossi com relação ao cadáver estudado, concluindo não tratar-se do cadáver de Leandro Bossi. Além disso, os estudos são altamente sugestivo de tratar-se do cadáver de uma criança do sexo feminino.

Para maiores esclarecimentos, vide em anexo, Laudo do Núcleo de Genética Médica de Minas Gerais. x.x.x.x.x.x.x.x.

Curitiba, 16 de junho de 1995.


Dr. Gerson Luiz Laux
Médico Legista

Zosso



2.86
AA



**Laudo
de Investigação Genética
de Identidade pelo Estudo
Direto do DNA**

[Handwritten signature]

GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
Fones (011) 288 0622 e 287 2233 r.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226



1. Prefácio

Aos 10 dias de maio de 1993, nesta cidade de Belo Horizonte, o infra-assinado perito, Prof. Dr. Sérgio Danilo Junho Pena, médico geneticista, Diretor do Núcleo de Genética Médica de Minas Gerais (GENE/MG), e Professor Titular do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Universidade Federal de Minas Gerais, iniciou a perícia genética de identificação, recebendo as seguintes peças de evidência:

1. Cinco dentes, uma mandíbula, uma clavícula, um ilíaco, um fêmur e duas costelas retirados do cadáver registrado no livro IML sob o nº 340/93.
2. Sangue do Sr. João Bossi, colhido no dia 7 de maio de 1993 pela Dra. Maria Regina Sawaya Rolim, Química Legal, documento de identidade profissional nº 3073, emitido pelo Instituto de Identificação do Paraná.
3. Sangue da Sra. Paulina Rudy Bossi, colhido no dia 7 de maio de 1993 pela Dra. Maria Regina Sawaya Rolim, Química Legal, documento de identidade profissional nº 3073, emitido pelo Instituto de Identificação do Paraná.

As amostras foram trazidas ao Núcleo de Genética Médica de Minas Gerais pessoalmente pelas Doutoras Maria Regina Sawaya Rolim e Maria Cristina Sawaya Novak.

GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403-001 São Paulo/SP
Fones (011) 288 0622 e 287 2233 r.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130-909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Pertunato Rames 35
29055-290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226



2) Objetivo da Perícia

O objetivo da perícia era estabelecer pelo estudo comparativo dos dentes e ossos, com os sangues de João Bossi e Paulina Rudy Bossi, se o cadáver era de um filho do casal, Leandro Bossi, desaparecido.

3) Realização da Perícia

Foram extraídas e processadas em dias diferentes, duas preparações independentes do DNA das células do sangue periférico de Paulina Rudy Bossi e de João Bossi. Este DNA provou ser de alto peso molecular e adequado para análise. Foram também extraídas, por várias metodologias, amostras de DNA de vários dentes e ossos encaminhados. Para manter confidencial a identidade das pessoas testadas, cada amostra de DNA recebeu um número código, como se segue:

Paulina Rudy Bossi	No. 12461
João Bossi	No. 12469
DNA do cadáver	No. 12465

3.1 - Tentativa de identificação genética do cadáver pelo DNA mitocondrial

O DNA mitocondrial humano é um pequeno DNA circular extra-nuclear presente em cerca de 10.000 cópias por célula. Este DNA tem uma série de características genéticas peculiares, destacando-se o fato dele ser altamente variável e ter herança puramente materna. Em outras palavras, todo o DNA mitocondrial de um indivíduo vem de sua mãe, sem nenhuma contribuição paterna. Assim, todos irmãos tem o mesmo DNA mitocondrial, que é idêntico ao de sua mãe, sua avó materna etc. Por outro lado, sua evolução rápida faz com que cada linhagem matrilinear seja essencialmente única, o que permite a identificação. Finalmente, por ser naturalmente amplificado nas células e ter aparentemente uma resistência maior à degradação, o DNA mitocondrial é um objeto de estudo ideal em casos de criminalística, onde somos obrigados a trabalhar com quantidades mínimas de DNA degradado.



GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
Fones (011) 288 0622 e 287 2233 F.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226



Nós no GENE desenvolvemos uma nova técnica, chamada LSSP-PCR (Low-Stringency-Single Specific Primer PCR) e baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR). Esta técnica permite-nos detectar mutações em fragmentos de DNA com tamanho de genes. Dois artigos com a descrição da técnica já foram aceitos para publicação e estão no prelo (Pena, S.D.J., Barreto, G., Vago, A.R., De Marco, L., Reinach, F.C., Dias Neto, E. e Simpson, A.J.G. Sequence-specific "gene signatures" can be obtained by PCR with single specific primers at low stringency (LSSP-PCR). Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., No Prelo. e Pena, S.D.J., Barreto, G., Ginther, C.L. e Simpson, A.J.G. Mitochondrial D-loop "signatures" with low-stringency single specific primer PCR (LSSP-PCR): a novel approach to identity testing. Proceedings of the Promega International Symposium of Human Identification, No Prelo). Um fragmento purificado de DNA mitocondrial é submetido à PCR usando um único oligonucleotídeo iniciador complementar a uma das extremidades do fragmento. Com esta PCR produz-se um conjunto extremamente complexo de produtos que quando separados por eletroforese constituem uma "assinatura" do gene, a qual reflete a sequência do mesmo. Em pares mãe-filho esta assinatura do DNA mitocondrial tem forçosamente de ser sempre igual. Em indivíduos não-relacionados, ela é sempre diferente. Assim, esta técnica é muito poderosa para identificação de cadáveres pela comparação com uma possível mãe ou um possível irmão ou irmã.

Os DNAs obtidos de ossos e dentes do cadáver foram submetidos a ampliações utilizando vários pares de iniciadores específicos para segmentos da alça D (região controle) do DNA mitocondrial. Estes fragmentos foram então submetidos a LSSP-PCR, com intuito de se fazer um teste de identidade genética com o DNA mitocondrial de Paulina Rudy Bossi. Obtivemos resultados reprodutíveis com amplificação da região do DNA mitocondrial que estende-se do nucleotídeo 15996 até 16347. Os resultados consistentemente mostraram diferenças significativas entre o perfil de bandas ("assinatura") do cadáver e de Paulina Rudy Bossi. Um exemplo disso pode ser visto na figura 1.

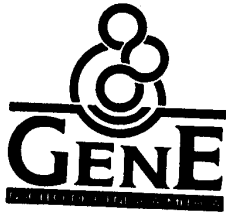
GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
Fones (011) 288-0622 e 287 2233 F.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226



290
AA



12465

12461 Dente 1 Osso 1 Osso 2

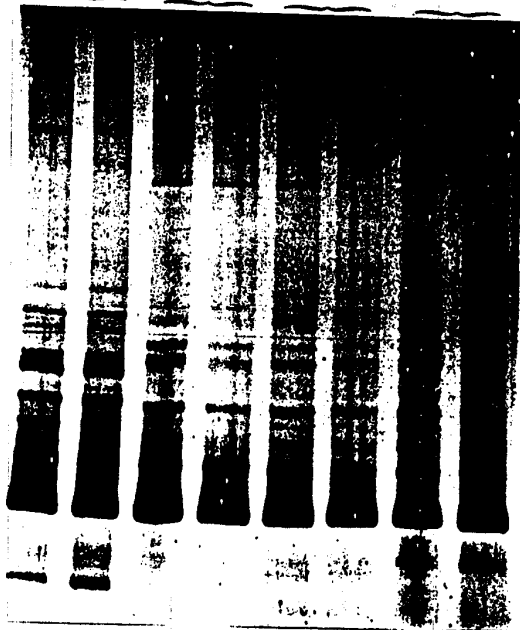
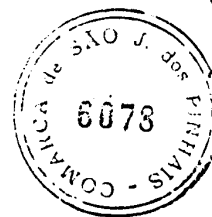


Figura 1 - Comparação entre as padrões de LSSP-PCR de Paulina Rudy Bossi e de três amostras (duas preparações de DNA de osso e uma de dente) do cadáver. As assinaturas dos dentes e ossos são basicamente idênticas entre si.

GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
S (011) 288 0622 e 287 2233 r.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226



3.2 - Tentativa de identificação genética do cadáver por locos polimórficos nucleares

Utilizando-se a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), o DNA obtido de ossos e dentes do cadáver, foi submetido a inúmeros estudos com uma grande bateria de locos polimórficos: DQ α , os minissatélites ApoB, D1S80 e D17S30 e os microsatélites D12S67, vWF1, vWF2, SE33 e Y-27H39. Houve uma dificuldade muito grande na obtenção de padrões consistentes e reprodutíveis de PCR à partir das preparações de DNA do cadáver. Conseguimos resultados confiáveis com apenas dois sistemas polimórficos. Os resultados estão mostrados na tabela abaixo.

Loco	12461	12465	12469
DQ α	1.1 1.3	1.1 2	1.1 4
D12S67	4 5	2 4	4 5
Y-27H39	-	-	B

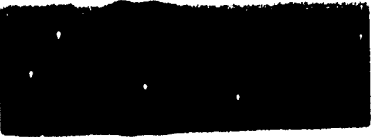
Estes resultados não são compatíveis com a paternidade do casal João Bossi e Paulina Rudy Bossi com relação ao cadáver estudado. Os resultados obtidos com os sistemas D12S67/Y-27H39 e DQ α estão mostrados nas Figuras 2 e 3 respectivamente.

GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
Fones (011) 288 0622 e 287 2233 r.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226

12461



D12S67

Y-27H39



Figura 2 - Resultados obtidos com os sistemas D12S67 e Y-27H39. Note que não houve amplificação de Y-27H39 em 12465 mesmo havendo resultados com D12S67.

12461

12465

12469

	1	2	3	4	C	1.1	1.2	1.3	AI	BI	DO-Alpha
Osso 1									1.3	1.3	1.3
Osso 2									1.3	1.3	1.3

Figura 3 - Resultados obtidos com o sistema DQα



GENE/SP
 Pro Matre Paulista
 Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
 01403 001 São Paulo/SP
 Fones (011) 288 0622 e 287 2233 7.240
 Fax (011) 288 0622

GENE/MG
 Edifício Work Center
 Av. Afonso Pena 3111 9º andar
 30130 909 Belo Horizonte/MG
 Fone (031) 227 3496
 Fax (031) 227 3792

GENE/ES
 Clínica Dr. Leo Siqueira
 Rua Fortunato Ramos 25
 29055 290 Vitória/ES
 Fone/Fax (027) 227 6226



3.3 - Determinação do sexo do cadáver

Nos estudos de PCR com os microssatélites D12S67 e Y-27H39 não houve amplificação de Y-27H39 em 12465 mesmo havendo resultados claros com D12S67, como demonstrado na Figura 2. Este resultado era muito sugestivo de que o cadáver sendo estudado era do sexo feminino, já que o loco Y-27H39 está localizado no cromossomo Y, que só é encontrado em homens. Para testar de maneira mais rigorosa esta sugestão, nós realizamos a amplificação das preparações de osso e dente do cadáver de um fragmento da região DYZ1, que está repetida de 500 a 10.000 vezes em homens e que assim nos dá muito maior sensibilidade que Y-27H39. Novamente não houve amplificação nas amostras do cadáver estudado.

4) Conclusões

1. Em primeiro lugar deve ser ressaltado que estudos de identidade feitos a partir de DNA obtido de dentes e ossos são procedimentos delicados que podem ser influenciados por fatores variados, inclusive contaminação das amostras com DNA extrínscico, o que pode levar a falsas exclusões. No GENE são tomadas enormes precauções para evitar contaminações, inclusive com uso de várias preparações de DNA de dentes e ossos distintos. Mesmo assim, resultados negativos, ou seja, nos quais não há correspondência entre os achados com o DNA do cadáver e o DNA das pessoas usadas como referência para a identificação, devem sempre ser tomados com muito maior cautela do que resultados em que a identificação é positiva.

2. Tendo em vista as considerações acima, os achados da perfcia não são compatíveis com a paternidade do casal João Bossi e Paulina Rudy Bossi com relação ao cadáver estudado. Assim, concluímos não tratar-se do cadáver de Leandro Bossi. Além disso, os estudos são altamente sugestivos de tratar-se do cadáver de uma criança do sexo feminino.

Belo Horizonte, 17 de janeiro de 1994


Prof. Dr. Sérgio Danilo Pena
CRMMG 14.894

GENE/SP
Pro Matre Paulista
Al. Joaquim Eugênio de Lima 383
01403 001 São Paulo/SP
Fones (011) 288 0622 e 287 2233 r.240
Fax (011) 288 0622

GENE/MG
Edifício Work Center
Av. Afonso Pena 3111 9º andar
30130 909 Belo Horizonte/MG
Fone (031) 227 3496
Fax (031) 227 3792

GENE/ES
Clínica Dr. Leo Siqueira
Rua Fortunato Ramos 25
29055 290 Vitória/ES
Fone/Fax (027) 227 6226