

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Bruna Zagordo Pereira

Carolina Priell Vieira

**MICROBIOLOGIA FORENSE COMO FERRAMENTA NA ELUCIDAÇÃO DE
CRIMES E NA DETERMINAÇÃO DO INTERVALO *POST MORTEM***

São Paulo

2023

Bruna Zagordo Pereira
Carolina Priell Vieira

**MICROBIOLOGIA FORENSE COMO FERRAMENTA NA ELUCIDAÇÃO
DE CRIMES E NA DETERMINAÇÃO DO INTERVALO *POST MORTEM***

Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Prof. Dra. Dyana Alves Henriques, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina

São Paulo
2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Pereira, Bruna Zagordo

Microbiologia Forense como ferramentana elucidação de crimes e na determinação do intervalo Post Mortem / Bruna Zagordo Pereira, Carolina Priell Vieira. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

65 p.

Orientação de Dyana Alves Henriques.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação),
Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Diagnóstico 2. Microbiologia forense 3. Microbiota 4.
Tanatologia I. Vieira, Carolina Priell II. Henriques, Dyana Alves III.
Centro Universitário São Camilo IV. Título

--- ---

DEDICATÓRIA

Agradecemos primeiramente aos nossos pais Daniella e Marco Aurélio e Artur e Karina, por tornarem possível essa nossa trajetória até o dia de hoje, por nos darem todo o amor e suporte nos momentos de desespero desde o início da faculdade, por entenderem a nossa ausência enquanto redigíamos este trabalho e por sempre acreditarem na nossa capacidade. Sem vocês nós não seríamos nada!

À nossa orientadora Prof^a. Dra. Dyana Alves Henriques, pelo suporte e parceria de sempre, pelas correções, incentivos e por toda atenção ao longo deste trabalho. As suas aulas alegravam nossas manhãs e foi assim que descobrimos nosso amor pela Microbiologia.

A todos os nossos familiares e amigos, em especial aos nossos amigos Giulia, Helena, Marcela e Moisés, que tivemos o prazer de conhecer e compartilhar todas as vivências da faculdade ao longo desses anos. Vocês foram essenciais nesse período e com sorte levaremos nossa amizade para a vida!

Agradecemos também aos professores que cruzaram o nosso caminho ao longo destes quatro anos, que contribuíram não somente com nossa formação acadêmica, como também com a nossa formação pessoal e amadurecimento.

O importante é não parar de questionar.

Albert Einstein

RESUMO

A Ciência Forense é compreendida como um conjunto de sapiências científicas e técnicas que tem por objetivo a compreensão de crimes por meio da análise de vestígios que serão utilizados como suporte em investigações criminais. Dentro dela está a Microbiologia Forense que, operando em conjunto com outras ciências, como a Toxicologia, Patologia, Optometria, Odontologia, Linguística, Geologia e Entomologia Forenses, aspira à identificação, caracterização e o estudo de microrganismos que possam fornecer explicações sobre a ocorrência de transgressões e servir como evidências em julgamentos. Isto porque, além de serem onipresentes, as bactérias, especialmente, possuem uma alta capacidade de desenvolverem-se em ambientes extremos, sejam eles de altas temperaturas, como fontes termais, ou baixas, como no gelo marinho. Concomitantemente, quase sempre respondem a mudanças em seu habitat de maneira prognóstica, o que as torna uma sublime ferramenta preditiva. Diante de cenários inconclusivos, falta de provas, ocultação ou modificação das evidências existentes em uma cena de crime e influência de fatores físicos, químicos e bioquímicos sobre os cadáveres, fez-se necessário o desenvolvimento de novos métodos e técnicas que assessorem à elucidação de crimes. Com a ascensão iminente dessa necessidade, as contemplações da microbiologia ganharam aplicabilidade no âmbito forense, tal como em circunstâncias de biocrimes, bioterrorismo, geolocalização (utilizando microbioma do solo), esclarecimento de causas de morte (por exemplo, casos de infecções hospitalares e afogamento), identificação humana (microbiotas de cabelo, fluidos corporais e pele) e na estimativa do intervalo *post mortem* (empregando as comunidades epinecróticas e o tanatomiobioma). Desta forma, o presente trabalho buscou, através da triagem de artigos científicos, revistas e livros, verificar a aplicabilidade e notoriedade do uso da Microbiologia no que diz respeito às investigações forenses.

Palavras-chave: Ciência Forense; intervalo *post mortem*; comunidades epinecróticas; Microbiologia Forense; tanatomiobioma.

ABSTRACT

Forensic Science is understood as a set of scientific and technical sets of knowledge that aim to understand crimes through the analysis of traces that will be used as support in criminal investigations, such as DNA, blood, microorganisms and spittle. Within it is Forensic Microbiology, operating in conjunction with other sciences, such as Toxicology, Pathology, Optometry, Odontology, Linguistics, Geology and Forensic Entomology, the scientist aspires to identify, characterize and study microorganisms that can serve as evidence in trials. This is because, in addition to being ubiquitous, bacteria, especially, have a high ability to develop in extreme environments, like places with high temperatures, such as hot springs, or low, as in sea ice. Concomitantly, the bacteria usually respond to changes in their habitat in a prognostic manner, which makes them a sublime predictive tool. Faced with inconclusive scenarios, lack of evidence, the concealment or modification of existing evidence at a crime scene and the influence of physical, chemical and biochemical factors on the corpses, it became necessary to develop new methods and techniques that assist the elucidation of crimes. With the imminent rise of this need, the contemplations of microbiology have gained applicability in the forensic realm, such as in circumstances of biocrimes, bioterrorism, geolocation (using soil microbiome), clarification of causes of death (e.g., cases of hospital infections and drowning), human identification (microbiomes of hair, body fluids, and skin), and in the estimation of the postmortem interval (employing the epinecrotic communities and the thanatomicrobiome). Thus, the present work sought, through the screening of scientific articles, journals and books, to verify the applicability and notoriety of the use of Microbiology with regard to forensic investigations.

Keywords: Forensic Science; *post mortem* interval, epinecrotic communities; Forensic Microbiology, thanatomicrobiome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microbioma Humano <i>post mortem</i>	19
Figura 2 – Mancha verde abdominal em cadáver.....	20
Figura 3 - Evidência de <i>livor mortis</i> na parte posterior de cadáver.....	23
Figura 4 - Evidência de <i>livor mortis</i> na região femoral de cadáver.....	24
Figura 5 – Redistribuição dos livores após manipulação do cadáver...	24
Figura 6 – Evidência de <i>rigor mortis</i> em cadáver.....	25
Figura 7 – Sequência de fenômenos <i>post mortem</i> ao longo do tempo..	29
Figura 8 – Correspondência entre as comunidades bacterianas em teclados individuais e os dedos dos proprietários dos teclados.....	34
Figura 9 - Colônias de fungo de coloração branca encontradas em um cadáver no Japão.....	39
Figura 10 – Folha do laudo que mostra análise dos sapatos apreendidos.....	45
Figura 11 – Comunidades microbianas em solos associados a cadáveres.....	47
Figura 12 – Mudanças nas comunidades bacterianas intestinais de seres humanos falecidos ao longo do tempo.....	50
Figura 13 – Abundância relativa dos filos nas comunidades bacterianas em função do tempo desde a morte (intervalo <i>post mortem</i>	51

LISTA DE SIGLAS

AMP Adenosina Monofosfato

ASTL aspartato aminotransferase

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CL-EM Cromatografia Líquida acoplada a espectrometria de massas

DNA Ácido Desoxirribonucleico

Hx Hipoxantina

HPM Horas *post mortem*

HPMP *Humam Post mortem Microbiome Project*

HV Humor vítreo

INs Infecções nosocomiais

IgM Imunoglobulina M

IPM Intervalo *post mortem*

IRAS Infecção Relacionada à Assistência a Saúde

LEC Líquido extracelular

LCR Líquido cefalorraquidiano

NADH Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina

OMS Organização Mundial da Saúde

PO₂ Pressão parcial de oxigênio

O₂ Oxigênio

cTnT Troponina T Cardíaca

UTI Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 METODOLOGIA	17
4 DESENVOLVIMENTO	18
4.1 MICROBIOMA HUMANO <i>POST MORTEM</i>	18
4.1.1 Decomposição de um cadáver	19
4.1.1.1 Fatores que influenciam na decomposição.....	21
4.1.1.2 Alterações físicas.....	21
4.1.1.3 Alterações físico-químicas.....	24
4.1.1.4 Alterações bioquímicas.....	26
4.2 MICROBIOLOGIA FORENSE.....	29
4.2.1 Bactérias	30
4.2.1.1 Identificando suspeitos.....	32
4.2.1.1.1 <i>Microbiota da pele</i>	32
4.2.1.1.2 <i>Microbioma de fluidos corporais</i>	34
4.2.2 Fungos	36
4.2.2.1 Infecções Hospitalares.....	39
4.2.3 Algas	41

4.2.4 Determinando o local da morte.....	46
4.2.5 Microbioma do solo.....	46
4.3 CRONOTANATOLOGIA.....	47
4.3.1 Estimativa do intervalo <i>post mortem</i>.....	47
4.3.2 Objetivos da estimativa do <i>Intervalo post mortem</i>.....	48
4.3.3 Fatores que influenciam nas estimativas de IPM.....	48
4.4 TANATOMICROBIOMA E COMUNIDADES EPINECRÓTICAS.....	49
5 CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

A Microbiologia é o ramo da Biologia voltado para o estudo dos seres microscópicos. A palavra Microbiologia provém da fusão das palavras gregas mikrós, que significa pequeno, e Biologia, do grego bíos = vida + logos = estudo. (Lourenço, 2010). Essa área do conhecimento trata de diferentes tipos de organismos, como as bactérias, fungos, algas unicelulares, protozoários, e estruturas peculiares não formadas por células, como vírus, viróides e príons (Lourenço, 2010; Madigan et al., 2010; Trabulsi, 2015 e Tortora et al., 2017). Para Madigan et al. (2010), a Microbiologia é uma ciência de base dentro das Ciências Biológicas, já que esta ciência trata de organismos que afetam todo o funcionamento da natureza.

O primeiro pressuposto utilizado para descrever o conceito de bactéria foi apresentado posteriormente por Roger Bacon no século XIII, o qual dizia que as algumas doenças eram originadas a partir de organismos invisíveis, e foi devido a essa hipótese que ao longo da história foram surgindo novas definições até chegar no conceito atual, que, por sua vez, consiste na descrição do organismo como seres procarióticos que carecem de carioteca (NOGUEIRA et al., 2009).

Depois de séculos de desenvolvimento científico, da modernização da Medicina, da Física, da Química e do reconhecimento científico formal das Ciências Biológicas no século XVIII, a Ciência Forense como é conhecida e voltada ao campo criminal, teve origem no século XIX, com Hans Gross. (BARBOSA; BREITSCHAFT, 2006). Segundo Barros et al., (2021), as Ciências Forenses podem ser descritas como práticas científicas para elucidação de crimes, ajudando nos âmbitos legais, tais como, civil, penal e/ou administrativos. Assim, o principal papel desta ciência é atuar como coadjuvante nas investigações relativas às justiças civil e criminal, empregando métodos científicos para averiguar danos, identificar suspeitos, mortes e elucidar crimes ainda sem solução, criando hipóteses sobre o ocorrido e fornecendo possíveis evidências. Tudo isso a partir do estudo das amostras colhidas no âmbito da investigação.

Diversas áreas de estudo se reúnem dentro da Ciência Forense com um mesmo objetivo. Entre estas áreas estão a Química, atuante na análise e

classificação de substâncias encontradas em um local de crime; a Medicina Legal, área que interliga Medicina e Direito; a Geologia, no estudo do solo de cenas de crime; a Patologia Forense, responsável pelo estudo da causa de morte em casos relacionados a traumas e enfermidades; a Papiloscopia, responsável pela análise das impressões digitais e plantares; a Antropologia, que realiza o reconhecimento de ossos para o estabelecimento de sexo, etnia e outros traços importantes; a Psiquiatria Forense, que atua concomitantemente com outras áreas estudando comportamentos, desordens psíquicas e aspectos da personalidade dos indivíduos; Odontologia Forense, que realiza o exame de dentes e próteses dentárias para a identificação de cadáveres e a Microbiologia Forense, que utiliza microrganismos (bactérias, fungos e algas) como ferramenta na elucidação de crimes, assim como a Entomologia e Botânica, que utilizam, respectivamente, insetos e plantas na solução de diferentes crimes (CALAZANS, 2010).

Objeto ou ferramenta da própria Criminalística, a Microbiologia conjunta às técnicas investigativas tem raízes em épocas em que as ciências sequer possuíam metodologia pré-estabelecida e objetos definidos (CALAZANS, 2010).

A Microbiologia Forense é uma subárea da Biologia que tem a finalidade de promover a identificação e classificação dos microrganismos que são encontrados em diversos ambientes (AGUILAR et al., 2012), com o objetivo de buscar e obter indícios que manifestem práticas delituosas, com o intuito de corroborar com as autoridades na aplicação da legislação, servindo como evidências concretas em julgamentos, seja auxiliando na identificação das causas de morte, identificação humana, geolocalização e nas estimativas de intervalo *post mortem*, estudo esse relativo aos microrganismos encontrados no período pós-morte, cujo nome apresenta-se como tanatomiobioma.

O tanatomiobioma humano é um termo relativamente novo derivado de *thanatos-*, do grego para a morte, e refere-se à análise dos microrganismos encontrados em órgãos internos e cavidades de cadáveres (Tuomisto et al., 2014; Can et al., 2014; Hyde et al., 2015; Damann et al., 2015 e Hauther et al., 2015). O tanatomiobioma engloba a agregação completa de microrganismos (por exemplo, bactérias e fungos) encontrados em cadáveres em decomposição. O impacto significativo desses estudos é o potencial para fornecer dados forenses a serem utilizados como evidência física microbiana em investigações

médico-legais de morte. Tal potencial benéfico de uso vem do fato de serem organismos onipresentes e terem ecologias previsíveis.

Assim como outras recentes ciências nascidas e/ou aprimoradas a partir da aliança com as tecnologias contemporâneas, a Microbiologia Forense é um dos ramos de destaque e renome crescente do século XXI, principalmente pela contribuição judicial e no desfecho adequado nos casos de crimes sexuais e/ou de bioterrorismo (DUARTE, 2011; CARDOSO, 2020).

A importância dessa área está presente toda vez em que já foi e/ou ainda é possível especificar a origem de cada material biológico, de cada vestígio em um ambiente de análise e investigação. As provas materiais têm ganhado atenção excepcional no âmbito criminal nacional e internacional principalmente por estarem mais “detectáveis”, haja vista a popularização de diversas tecnologias de apoio que permitem comparações e contrastes em nível celular. O trabalho dos peritos e dos profissionais forenses e suas contribuições é o que tem possibilitado sua expansão e os intensificados investimentos na área, ainda que no Brasil, caminhe de maneira mais lenta (DOREA, 2010).

Assim, a ampliação das técnicas advindas com as inovações tecnológicas, intensificadas a partir dos anos 2000, fez cada vez mais evidente a especialização das partes que dizem respeito à Microbiologia e conseqüentemente às miudezas dos elementos de uma análise. Dessa forma, a Microbiologia Forense é responsável pelos estudos capazes de identificar e classificar os microrganismos presentes em diferentes ambientes e objetos orgânicos, focados na resolução de uma cena criminal ou acidental a partir de perspectivas investigativas. A partir disso, é possível realizar laudos de autópsias, favorecer na precisão das causas, efeitos e condições dos óbitos analisados, atos imprescindíveis na qualificação detalhada das ocorrências (AGUILAR et al., 2012).

A cronotanatognose, mais conhecida como intervalo *post mortem* (IPM), é a determinação do intervalo de tempo que decorre entre o momento da morte de um indivíduo e o momento em que o cadáver é encontrado. O IPM depende da causa, do local onde o corpo permaneceu e das condições ambientais durante a decomposição, influenciada pela temperatura, pH, umidade e pressão parcial de oxigênio. Este fator pode ser determinado através da análise de diversos domínios, como a análise de mudanças no humor vítreo e de componentes de

tecidos moles, análise de constituintes inorgânicos do osso, que podem estimar o intervalo de semanas a meses, ou até mesmo através da análise de alterações histológicas gengivais, que ocorrem no período *post mortem* inicial (NOVAKOSKI, 2023).

A estimativa do tempo de morte, denominado intervalo *post mortem*, é fundamental em casos de investigação criminal, pois tal descoberta pode inocentar ou condenar algum suspeito, uma vez que os dados obtidos serão comparados aos álbis fornecidos pelos investigados (Kaliszan et al., 2009). Mas, apesar de estas serem análises fiéis, busca-se cada vez mais aumentar a qualidade e diminuir o tempo de resolução de crimes. Assim, esta é a vertente dentro das Ciências Forenses em que a Microbiologia se mostra mais atuante nos últimos anos, servindo como uma ferramenta essencial na resolução de crimes.

Em vista disso, o presente trabalho procurou identificar e quantificar outros exemplos que aplicam a Microbiologia Forense como ferramenta no âmbito criminal, dando suporte na elucidação de crimes, principalmente no que diz respeito ao IPM. Além de citar casos reais, identificar as principais descobertas nas características da comunidade do tanatomiobioma, com foco na diversidade e robustez das comunidades microbianas, marcadores microbianos propostos e a utilidade (ou a falta) de modelos preditivos nessa área.

2. OBJETIVOS

1. Objetivo geral

Apresentar as vertentes da Microbiologia Forense e como estas podem auxiliar na elucidação de diversos crimes e/ou outras questões forenses.

2. Objetivos específicos

- Analisar e discutir as informações mais recentes sobre as novas aplicações da Microbiologia Forense, a partir da pesquisa de artigos, casos e referenciais teóricos para compor um estudo determinante no esclarecimento de diferentes crimes, assim como na estimativa do intervalo *post mortem*;
- Colaborar com o esclarecimento das informações atuais acerca da dinâmica da atividade microbiana em cadáveres em várias fases de decomposição.
- Citar as etapas de decomposição do cadáver e identificar quais microrganismos estão envolvidos em tal processo e, ademais, exemplificar a aplicação da Microbiologia Forense no esclarecimento de crimes.
- Avaliar diversos microrganismos como fungos, bactérias e algas, que agem como ferramentas essenciais nesse processo.

3. METODOLOGIA

A metodologia utilizada neste presente trabalho consistiu em uma revisão bibliográfica e avaliação do estado da arte a partir da leitura de artigos, dissertações, teses, livros e revistas, que foram extraídos da base de dados SciELO e de sites de coleção de artigos científicos como Elsevier, Nature e PubMed.

Todas as pesquisas acadêmicas e artigos foram selecionados a partir dos seguintes descritores *“microbiology”*, *“forensic microbiology”*, *“post mortem interval”*, *“thanatomicrobiome”*, *“epinecrotic communities”*, *“forensic mycology”*, *“post mortem changes”*, *“decomposition”*.

A pesquisa reuniu ao todo 88 artigos publicados no período entre 1994 e 2022 de caráter de revisões bibliográficas.

Dos artigos levantados, 15 foram descartados do trabalho em função dos seguintes critérios de exclusão: Artigos que mencionaram exclusivamente entomologia forense, bioterrorismo e Biologia Molecular como principal ferramenta a clarificação de crimes, dado que não eram o enfoque do trabalho.

A partir disto, inicia-se uma abordagem abrangente e precisa acerca dos três principais tópicos deste trabalho: Microbiologia, Ciência Forense e Microbiologia Forense.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 MICROBIOMA HUMANO *POST MORTEM*

O microbioma humano *post mortem* possui extrema importância nos processos de decomposição cadavérica. Este é constituído pelo tanatomiobioma e pelas comunidades microbianas epinecróticas (JAVAN, 2016).

Estudos indicam que a proporção de células microbianas no corpo humano para células humanas é de até 10:1. E é justamente essa diversidade de microrganismos coabitantes que os tornam uma excelente ferramenta de estudo. As comunidades microbianas diferem entre si em indivíduos saudáveis, principalmente em lugares como vagina, pele e intestino (HMPC, 2012).

Sabe-se que a atividade microbiana *post mortem* é consequência de uma sequência de acontecimentos que ocorrem no organismo humano após a cessação da circulação. Após a hipóxia, as organelas se degradam pelas enzimas autolíticas, que quebram as membranas celulares. Há então a liberação para o líquido extracelular (LEC) de aminoácidos, lipídeos, água e sais minerais. Tais nutrientes servem como substrato para as atividades microbianas, que então passam a acontecer de forma frenética. Cria-se então um ambiente propício para a disseminação da comunidade microbiana (JAVAN, 2016).

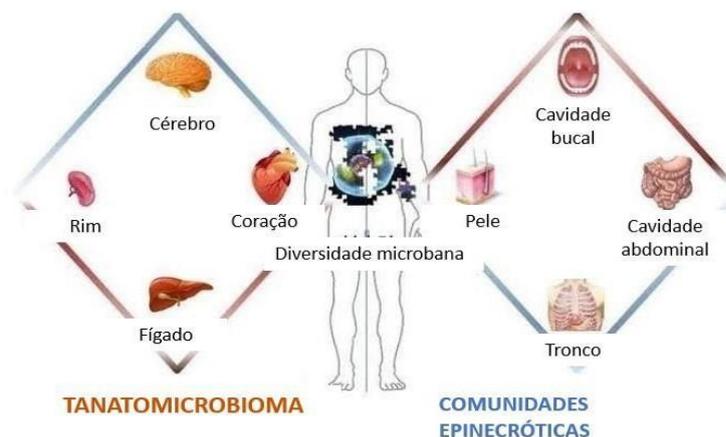
Com a inatividade do sistema imunológico, não há células que efetivem o controle da proliferação microbiana. Iniciando-se no intestino, onde está a maioria dos microrganismos comensais e a maior parte deles pertence aos filos Bacteroidetes e Firmicutes, sendo o primeiro formado por bactérias Gram-negativas, enquanto o segundo composto por Gram-positivas (BURCHAM, 2016).

Além destes, é possível identificar em menores quantidades, os filos Proteobacteria e Actinobacteria, também componentes do intestino humano, sendo Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente. O fato da composição dos microrganismos intestinais ser notavelmente consistente, não ser facilmente afetada pelo ambiente e eles se multiplicarem rapidamente após a morte, os torna um objeto de estudo valioso (COSTELLO, 2009).

Ao atingir os vasos capilares, os microrganismos possuem acesso a outras partes do nosso organismo e então, chegam aos demais tecidos. A propagação segue para o fígado, baço, coração e chega ao fim no cérebro. Também ocorre a difusão pelas mucosas do aparelho respiratório (COSTELLO, 2009).

O estudo do microbioma dos órgãos internos em um cenário *post mortem* é interessante pelo fato de, diferentemente de tecidos externos como pele e mucosa oral, os órgãos internos são menos influenciados pelas transmutações das condições ambientais, fatores intrínsecos e extrínsecos (JAVAN, 2016).

Figura 1 - Microbioma Humano *Post mortem*



Fonte: Adaptado de Javan et al., 2016.

4.1.1 Decomposição de um cadáver

A decomposição cadavérica é o nome que se dá ao ato de transformação e consequente apodrecimento de um corpo. Esse processo consiste na destruição dos tecidos moles por ação de bactérias, fungos e insetos, e é determinado pela autólise de células e degradação química, além da liberação do conteúdo intestinal (JAVAN, 2016).

O *Human Post mortem Microbiome Project* (HPMP) é o projeto

responsável por adquirir os dados referentes a abundância e variedade de microrganismos envolvidos nos processos de decomposição. Este projeto fornece informações sobre o tanatomiobioma (colonização interna) e necrobioma (colonização externa). O necrobioma consiste na comunidade de microrganismos, tanto procariotos, quanto eucariotos, que estão associados à decomposição dos restos cadavéricos.

As principais alterações observadas em tecidos são alterações de cor, evolução de gases e o processo de liquefação. A primeira fase da decomposição é caracterizada pela descoloração da pele, processo denominado de mancha verde abdominal e inicia-se na fossa ilíaca direita e progride para o resto do corpo. Já na segunda fase, observa-se uma distensão do abdômen devido a formação de gás nos intestinos, causada pela fermentação microbiana. E por fim, devido a desidratação, a pele fica escurecida, endurecida e com aparência de couro, até chegar ao processo final da decomposição, em que partes do esqueleto começam a ficar expostas (FERREIRA, 2013).

Figura 2 – Mancha verde abdominal em cadáver



Fonte: Laboratório de Odontologia e Antropologia Forenses e Medicina Legal, [s.d.].

Segundo Finley et al. (2015) é possível separar o processo de decomposição em diferentes fases, são elas:

1. Período fresco, inicia-se no momento da morte, em que há o início da desidratação, descoloração de tecidos e predomínio de organismos aeróbios. Sendo assim, estes esgotam os recursos de oxigênio para que prevaleçam organismos anaeróbios;
2. Enfisematoso, em que ocorre aumento do volume do corpo, uma vez que há acúmulo de produtos gasosos produzidos pela atividade metabólica da comunidade microbiana entérica;
3. Fase da decomposição ativa, em que verifica-se intervenção de larvas, que causam rupturas na pele, facilitando a entrada de O₂. Há uma maior exposição do cadáver e assim, a área de superfície aumenta para que insetos e microrganismos se desenvolvam. Também ocorre a digestão dos intestinos e tecidos adjacentes por bactérias intrínsecas. Sabe-se que de 7 a 12 dias *post mortem*, as taxas de respiração e produção de biomassa são altas, principalmente devido às Proteobactérias e Firmicutes;
4. Decomposição avançada, em que há aumento da atividade entomológica, levando a transferência de microrganismos do corpo para o solo, já que ocorre a abertura de cavidades nos tecidos;
5. Por fim, a fase de restos esqueletizados secos, em que restam apenas ossos, pele seca e cabelo.

4.1.1.1 Fatores que influenciam na decomposição

Sabe-se que o processo de decomposição é muito variável de indivíduo para indivíduo e dependente de diversos fatores, tais como: Local onde o corpo permaneceu, umidade, temperatura, pH, pressão parcial de oxigênio e o microbioma humano, principais influências da decomposição. Tais fatores também são utilizados em associação para determinar o IPM, uma vez que os fatores externos não são controláveis (NOVAKOSKI, 2023).

Neste trabalho, listou-se as principais alterações físicas, químicas e bioquímicas que acontecem no decorrer do processo de decomposição de um cadáver e que, conseqüentemente, influenciam nas investigações.

4.1.1.2 Alterações Físicas

Dentre as alterações físicas podemos citar o *algor mortis* e *livor mortis* como as duas principais. O *algor mortis*, também chamado de arrefecimento cadavérico, é o decréscimo da temperatura corporal após a morte, resultante dos processos de convecção e condução, em que há transferência de calor, fato que gradativamente deixa de ocorrer em casos de morte do indivíduo. Condições como o ambiente, incluindo movimento do ar, umidade e temperatura, peso corporal, vestuário e posição do corpo, influenciam diretamente na taxa de arrefecimento cadavérico.

O nomograma é o método mais fidedigno e imperativo para estimar o IPM, considerado, portanto, o *gold standard*. Este consiste em uma representação gráfica e fundamenta-se na medição da temperatura retal, com variáveis para a temperatura ambiente e peso corporal do cadáver. Quando é necessário utilizar-se desta ferramenta, o perito deve analisar o gráfico, permitindo estimar a média do IPM em horas *post mortem* (hpm), com precisão de 95%, com margens de erro às 7 hpm, de 1,5 horas e às 11 hpm, de 2,5 horas (HENSSE, 2004).

Entretanto, o considerado *gold standard* só pode ser operado antes que o equilíbrio térmico entre a temperatura ambiente e a do cadáver ocorra, o que geralmente acontece antes das 24 hpm. Com o intuito de reduzir a margem de erro correlacionada ao método, são associados outros meios que não dependem da temperatura, como o *livor mortis* (HENSSE, 2004).

Também chamado de livor cadavérico, o *livor mortis* é a modificação que normalmente aparece primeiro no período *post mortem* (MADEA, 2016). É definida como a mudança da coloração do cadáver, possível ser vista na superfície da pele, decorrente da hipóxia que acomete as células quando a circulação sanguínea cessa. Os lívres cadavéricos passam a ser visíveis 20 a 30 minutos após a morte, como sendo manchas cor-de-rosa tênues. Com o passar do tempo, as manchas mudam de coloração, passando a uma cor arroxeada (MADEA, 2016).

Figura 3 – Evidência de *livor mortis* na parte posterior de cadáver

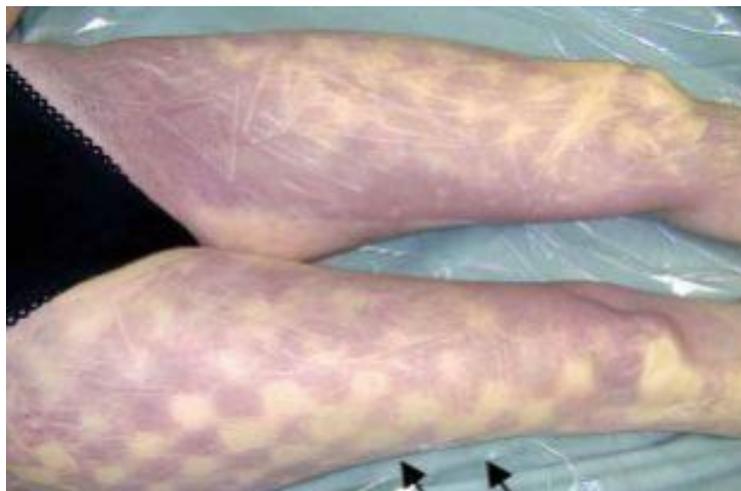


Fonte: Forensic Investigator's Trauma Atlas, [s.d.].

Legenda: Seta Amarela – Acúmulo de sangue nos tecidos; Seta azul – Hipóxia celular

O arranjo dos livores depende diretamente da posição na qual o cadáver se encontra. Naturalmente, o sangue acumula-se nas zonas mais baixas do corpo, com isenção das zonas de suporte, como sendo áreas de maior pressão, em que a superfície da pele permanece sem alterações. Inicialmente (até às 6 hpm), eles desaparecem ao serem pressionados, sendo móveis. Com o passar do tempo, passam a fixar-se em regiões do corpo. Acima das 12 hpm, mesmo com modificações na posição do cadáver, os livores se tornam fixos e imóveis. Fato interessante quando analisado isoladamente, já que a falta de concordância entre a posição em que o corpo foi encontrado e a disposição dos livores, indica que o corpo tenha sido transportado ou manipulado de alguma forma (MADEA, 2016).

Figura 4– Evidência de *livor mortis* na região femoral de cadáver

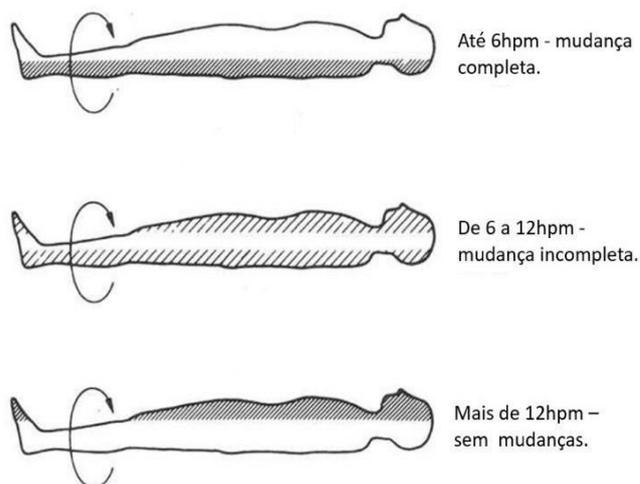


Fonte: Forensic Investigator's Trauma Atlas, [s.d.].

Legenda: As setas indicam as marcas referentes a pressão da caixa de ovos sobre a qual o indivíduo estava deitado e a conseqüente hipóxia dos tecidos, designando áreas em que o sangue se acumulou (rosadas) e áreas adjacentes em que houve hipóxia dos tecidos (esbranquiçadas)

Portanto, livores móveis, que desaparecem ao sofrerem pressão, indicam um IPM inferior a 6 horas. Quando ainda são móveis, mas já não desaparecem à pressão digital, indicam um intervalo superior a 6 horas. Livores fixos, não impulsionados quando pressionados, indicam um IPM superior a 12 horas (SALAM, 2012).

Figura 5 - Redistribuição dos livores após manipulação do cadáver.



Fonte: Adaptado de Madea B., 2016.

4.1.1.3 Alterações físico-químicas

A principal e mais discutida alteração físico-química no processo de decomposição é o *rigor mortis*, mais conhecido como rigidez cadavérica. Este fenômeno ocorre devido ao fato de, após a morte, os níveis de ATP decrescem bruscamente, porém os níveis de ácido láctico aumentam. Essa junção forma uma ligação irreversível entre miosina e as fibras de actina, gerando assim um período de rigidez parcial ou total no cadáver (GOFF, 2010).

Esse evento inicia-se a partir de 3 a 4 horas após a morte, possuindo seu pico máximo entre 6 e 12 horas *post mortem* e pode persistir durante 18 a 36 horas. Após essas horas, devido à autólise das células musculares, a rigidez vai sendo liberada paulatinamente (MADEA, 2016).

Assim como os outros fenômenos, o tempo de instalação e duração do *rigor mortis* varia entre diversos aspectos, como a temperatura ambiente e a quantidade de glicogênio muscular no momento da morte. Essa inconstância torna a rigidez cadavérica um parâmetro pouco preciso para estimar o IPM.

Figura 6 – Evidência de *rigor mortis* em cadáver



Fonte: Forensic Investigator's Trauma Atlas, [s.d.]

Legenda: A seta azul indica o processo de *rigor mortis* em que há a rigidez dos tecidos, mesmo sem qualquer influência externa

Outro exemplo de alteração físico-química é a atividade supravital, sendo esta determinada pelas reações desencadeadas pela excitação, que ocorrem desde o momento da morte até a cessação completa das funções celulares (DONALDSON, 2013). Existem diversas reações, porém, somente algumas podem ser observadas no local do crime, fornecendo resultados rápidos e, conseqüentemente, possuem grande relevância no âmbito criminal.

São elas, a excitabilidade da íris (induzida por fármacos) e a excitabilidade elétrica e mecânica do músculo esquelético. A excitabilidade da íris, proporcionada pelo músculo *orbicularis oculi* demonstra ser a mais apropriada para análise, devido aos movimentos deste músculo serem mais visíveis, além de permanecer excitado por um maior período. O movimento é caracterizado por um aumento do IPM, enfraquecendo a contração e fazendo com que a resposta muscular se concentre no local da excitação. Se a contração for induzida por uma injeção de norepinefrina e acetilcolina, pode-se observar uma excitabilidade de até 46 hpm, sendo observada através do diâmetro da pupila (KALISZAN, 2009).

Já a contração do músculo esquelético, mais conhecida como contração idiomuscular, ocorre no mesmo lugar em que houve um estímulo mecânico. Em um estudo de Warther et al. foi demonstrado que este método possui um limite temporal de até 13 hpm, tornando-o menos utilizado em casos em que a estimativa do IPM parece ser maior. O método de excitabilidade mecânica do músculo esquelético é realizado através de uma força exercida com um cabo de faca sobre um músculo (Ex: bater no bíceps braquial).

4.1.1.4 Alterações bioquímicas

A área conhecida por estudar as mudanças que ocorrem na composição química do corpo de um cadáver é a tanatoquímica. Essa área abrange diversos métodos que dizem ser capazes de estimar o IPM, sendo assim, a análise das alterações químicas dos fluidos biológicos vem crescendo (SALAM, 2012).

Os métodos de análise consistem na avaliação de alterações da produção

de metabólitos e de atividade enzimática, variação na concentração de proteínas e se houve formação de compostos orgânicos voláteis. As alterações bioquímicas consistem em analisar amostras de humor vítreo, líquido cefalorraquidiano, sangue, entre outros (DONALDSON, 2014).

Humor vítreo

O humor vítreo (HV) é um gel hidrofílico, incolor e gelatinoso, com aproximadamente 4 ml. Atualmente, esse meio vem sendo o mais comentado para determinar o IPM, principalmente devido ao fato dele ser isolado, logo, diminuindo as chances de contaminação e putrefação. Além do fato de, neste local as alterações ocorrem de forma mais lenta, proporcionando um maior tempo para poder determinar o intervalo *post mortem* (CORDEIRO, 2019).

Para que se possa estimar o IPM no humor vítreo, primeiramente é necessário quantificar alguns íons, sendo eles o potássio, sódio e cloro. Logo após a morte, é possível observar o aumento da concentração de íons K⁺ em todas as células do corpo. Isso ocorre devido a interrupção da permeabilidade seletiva das membranas e do transporte ativo. Sendo assim, a autólise é responsável por dar início ao processo de difusão passiva do potássio do meio intracelular para o meio extracelular, justificando assim o seu aumento (ZILG, 2015).

Zilg et al., (2015) demonstrou que a idade do indivíduo influencia no aumento da concentração de potássio, assim como foi descrito uma relação entre este aumento de concentração e um aumento da temperatura ambiente. O autor criou uma fórmula que envolve idade, temperatura ambiente e concentração de K⁺ para estimar o intervalo *post mortem*. Contudo, como a estimativa do IPM depende de diversos fatores, essas condições fazem com que ocorra divergências entre investigadores, tornando esse componente pouco confiável.

A hipoxantina (Hx), que é um produto da degradação de adenosina monofosfato (AMP), vem sendo introduzida como um novo marcador, já que sua concentração aumenta no período *post mortem* (MADEA, 1994). Isso ocorre devido ao acréscimo da concentração de AMP, diminuição da transformação de Hx em ácido úrico e inibição da xantina oxidase. A desvantagem deste método

se deve a um maior tempo necessário para determinar sua concentração, porém, esse marcador é útil para casos de hipóxia (MADEA, 1994).

Para quantificar estes dois analitos no HV (Hx e K+) são utilizadas técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (CL-EM), fotometria de chama e eletroforese capilar (CORDEIRO, 2019).

Em resumo, Cordeiro et al. desenvolveu e validou modelos matemáticos e concluiu que o melhor método para estimar o IPM é o que utiliza a temperatura retal, correlacionando com peso corporal e concentrações de Hx, K+ e ureia que estão presentes no HV.

Sabe-se também que há um aumento de amônio no período *post mortem*, sendo assim, Gottardo et al. realizou um estudo onde foi analisada a variação da concentração de NH₄⁺ no humor vítreo e foi comprovado que houve um aumento na concentração deste analito, de forma linear, até às 250 hpm (intervalo de tempo maior comparado com os outros métodos).

Sangue

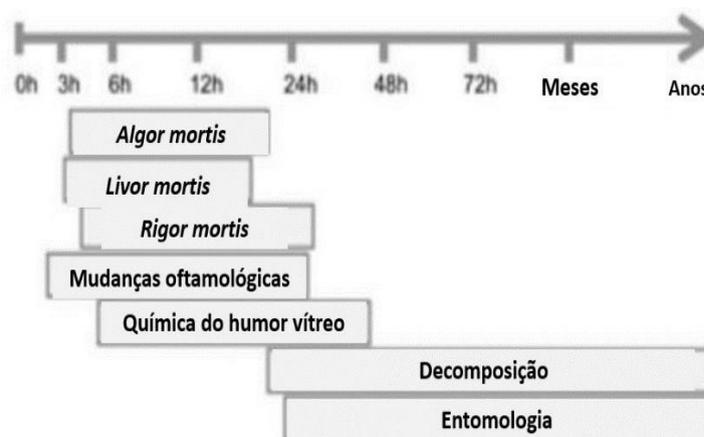
É de conhecimento comum que o sangue é o responsável pelo transporte da maioria das substâncias existentes no nosso organismo, sendo assim, os fenômenos autolíticos ocorrem de forma mais rápida no sangue, dificultando o estudo deste fluido no período *post mortem* (MADEA, 2016).

Um estudo feito por Donaldson e Lamont, em 2014, utilizando as concentrações de pH, ácido láctico, ácido úrico, amônia, hipoxantina, dinucleotídeos de nicotinamida e adenina (NADH), etc, foi feito visando avaliar alterações metabólicas do sangue. Sendo assim, concluíram que os marcadores mais promissores para determinar o IPM foram a amônia, hipoxantina e o NADH, uma vez que estes tiveram suas concentrações aumentadas de modo diretamente proporcional com o intervalo *post mortem*.

Outro estudo, desta vez de Dinis-Oliveira et al (2015), avaliaram diferentes parâmetros bioquímicos do sangue e obtiveram o seguinte resultado: Uréia, ácido úrico, transferrina, Imunoglobulina M (IgM), creatina quinase, cálcio, ferro, aspartato aminotransferase (ASTL), bilirrubina total e bilirrubina direta se

mostraram potenciais biomarcadores na determinação do IPM. Kumar et al. (2016) realizou um estudo mais recente sobre a degradação da troponina-T cardíaca (cTnT) em associação com o IPM, em que foi possível observar uma relação direta entre o marcador e o intervalo, concluindo que a degradação da cTnT pode ser útil para estimar IPM's mais extensos.

Figura 7- Sequência de fenômenos *post mortem* ao longo do tempo.



Fonte: adaptado de Dinis-Oliveira et al., 2015.

As mudanças em um organismo logo após a morte evoluem ao longo de uma linha do tempo, como mostra a imagem acima. Dentro das primeiras 24 HPM ocorre o *algor mortis*, *livor mortis*, *rigor mortis*, mudanças oftalmológicas e mudanças químicas do humor vítreo, ou seja, fatores abióticos. Com o passar do tempo ocorre o processo de decomposição cadavérica e a influência dos fatores bióticos.

4.2 MICROBIOLOGIA FORENSE

O ramo da Microbiologia Forense é o que mais cresce ultimamente no âmbito criminal, isto porque, juntamente com outras áreas, é uma das responsáveis por fornecer evidências não tão convencionais e por esclarecer possíveis pontos que estivessem em aberto nas investigações (DUARTE, 2009).

Normalmente a determinação da causa de mortes suspeitas é feita através da análise de todos os vestígios encontrados na cena do crime, juntamente com a análise do estado do cadáver e com a verificação de possíveis suspeitos. Porém, há diversas circunstâncias que podem ocorrer e acabam por mudar todo o trajeto da investigação. São elas: Quando o cadáver encontrado já está em um estado avançado de decomposição; momentos em que a equipe pericial não encontra vestígios cruciais para o caso; quando a cena do crime foi forjada ou adulterada e também nos casos onde não é possível saber se o corpo encontrado faleceu no local ou se foi desovado (DUARTE, 2009).

Devido a estes empecilhos que podem facilmente ocorrer, muitos profissionais sentiram-se na obrigação de propor novos testes auxiliares e estudos mais robustos para essa área. Assim, o uso de microrganismos ganhou destaque nesse ramo de investigações, uma vez que toda cena de crime possui vestígios, por mais que em alguns casos, estes não sejam possíveis de serem vistos a olho nu (LEHMAN, 2014).

Entretanto, é sabido que, apesar de ser uma área em avanço e com grande potencial para mudar o curso de diferentes investigações, ainda é preciso uma maior gama de pesquisas e estudos referentes a diversos assuntos, principalmente no Brasil.

4.2.1 Bactérias

Dentro do contexto forense, o uso das bactérias como objeto de estudo, ocupa um papel importante na resolução de crimes.

Um de seus campos de atuação, está na investigação da composição da comunidade de bactérias associadas à pele que são deixadas em objetos após o contato. Diversos estudos foram pautados neste fato. Um dos estudos realizado por Lax et al., (2015), o autor salientou a interação entre tais microrganismos e seus resquícios deixados em objetos. Nesta pesquisa, comparou-se amostras de culturas de bactérias retiradas de telefones celulares e solas de sapatos, com a finalidade de demonstrar uma possível ligação entre a sola de sapato e o chão que esses indivíduos haviam caminhado, assim como o microbioma pessoal dos indivíduos participantes juntamente com os vestígios

deixados em seus respectivos telefones celulares.

Os resultados obtidos assentiram inferir com clareza, que as colônias de bactérias encontradas nos telefones celulares podem sim ser relacionadas aos seus respectivos donos. Em contrapartida, os resultados encontrados na análise de bactérias retiradas das solas de sapato e do chão que os indivíduos haviam pisado se mostraram insuficientes para fazer afirmações concretas, isto porque esta área sofre uma rápida influência devido às trocas rápidas de bactérias que acontecem entre as superfícies (LAX et al., 2015).

Em um outro estudo, dessa vez realizado por Goga (2012) também relacionado a sapatos, mostrou-se o vínculo entre as bactérias da sola do pé e da parte interna de sapatos. Tal pesquisa buscou analisar se as características do DNA bacteriano de um indivíduo poderiam ser utilizadas para determinar uma ligação efetiva em uma investigação. Para este, amostras foram recolhidas de quatorze pares de sapatos, respectivamente pertencentes a quatorze voluntários. Os resultados revelaram uma maior similaridade entre o DNA bacteriano dos donos dos respectivos sapatos e os mesmos, ou seja, indicam que as bactérias associadas à pele, retiradas da sola dos pés de um suspeito, podem oferecer uma boa comparação com um sapato encontrado em uma cena de crime (GOGA, 2012).

Uma alternativa de apuração favorecida por uma abordagem independentemente de cultura bacteriana, é a impressão digital microbiana que pode ser coletada de diferentes fios, informação de extrema relevância tendo em vista que esta é uma das evidências mais presentes em cenas de crimes (TRIDICO et al., 2014).

Em 2014, o estudo de Tridico et al. buscou determinar o uso da análise de bactérias presentes em fios de cabelo para fins forenses. Sendo assim, amostras de fios do couro cabeludo e pelos pubianos foram coletadas de sete voluntários. Os resultados demonstraram a relação de diferentes tipos de bactérias em diferentes partes do corpo, assim como a partir das amostras de pelos pubianos foi possível estabelecer uma notável diferença entre pelos masculinos e femininos por suas respectivas microbiotas, sendo a presença de *Lactobacillus crispatus* e *Lactobacillus gasseri* predominante no sexo feminino, fato importante na identificação do sexo de suspeitos.

Uma outra análise que tem ganhado destaque nas investigações criminais é a análise bacteriana de fluidos, como no caso de secreção vaginal e saliva, importantes no contexto atual em que o número de casos de abuso sexual e estupro realizados com o uso de luvas e/ou camisinha cresceram, dificultando, assim, o recolhimento do material biológico do transgressor do crime, na vítima. Uma alternativa encontrada para driblar tal fato é a de recolher e identificar fluidos da vítima em pertences do suspeito. Um estudo que corrobora com tal teoria foi realizado em 2010 por Fleming e Harbison. O principal objeto analisado foram as bactérias pertencentes ao grupo dos lactobacilos, mais especificamente o *L. crispatus* e o *L. gasseri*, bactérias predominantes na genitália feminina. Para isso, este contou com voluntárias que forneceram amostras de secreções vaginais. A partir destas amostras foram identificadas as colônias de bactérias presentes, que foram analisadas e comparadas com outros fluidos como saliva, sêmen, sangue e sangue menstrual. A presença de tais bactérias foi identificada em secreções vaginais e no sangue menstrual utilizados no estudo. Estes resultados permitem considerar a análise de bactérias como um método promissor na identificação em secreções vaginais, como alternativa onde sabe-se que o crime foi realizado com o uso de preservativos e/ou luvas (FLEMING, 2010).

4.2.1.1 Identificando suspeitos

Uma das etapas mais importantes, se não a mais importante, é a identificação de suspeitos. Esta pode ser feita através do uso de microrganismos que residem na pele, cabelos e fluidos dos seres humanos. Através da análise, identificação, caracterização e comparação destes microrganismos, pode-se identificar os indivíduos envolvidos em determinado crime (FIERER; et al., 2010).

4.2.1.1.1 Microbiota da pele

A microbiota da pele é um dos objetos de estudo que vem ganhando destaque em investigações forenses. Isto porque, microrganismos, mais especificamente bactérias, podem ser facilmente recuperadas de dimensões

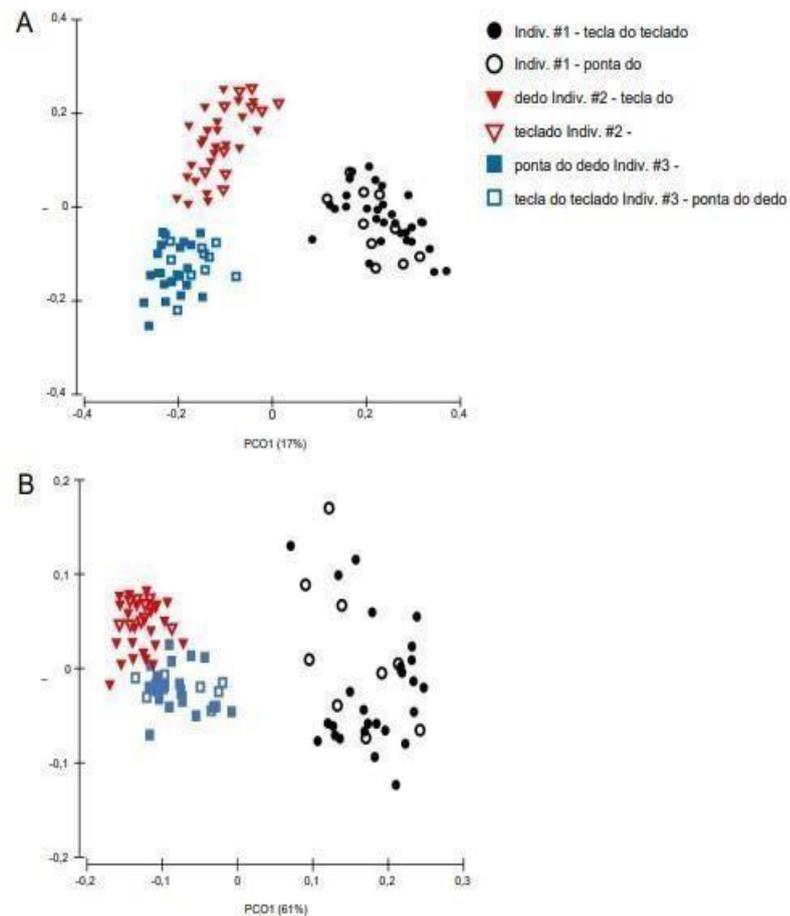
previamente e possivelmente componentes de uma cena de crime. Estas bactérias residuais deixadas em objetos encontrados em investigações podem ser comparadas com os microrganismos da pele de possíveis suspeitos e, assim, obter uma conclusão mais fidedigna sobre a participação ou exclusão de determinados indivíduos em crimes (FIERER; et al., 2010).

Já foi comprovado que existem algumas peculiaridades relacionadas a microbiota da pele e a transmutação interpessoal na comunidade bacteriana que ocorre de acordo com o compartilhamento de objetos entre indivíduos. Apenas 13% dos filotipos bacterianos da palma das mãos podem ser partilhados entre as pessoas. Ademais, já foi comprovado que a microbiota da pele é relativamente constante com o passar do tempo e que ela se revigora horas após o lavar das mãos, o que traz a ideia de que cada indivíduo tem a sua própria comunidade bacteriana individual da pele, como se fosse uma impressão digital, que pode ser vigorosamente utilizada em investigações forenses (FIERER et al., 2010).

Estas afirmações se baseiam em dois fatores: (i) As comunidades microbiológicas permanecem estáveis em objetos por horas, dias ou até mesmo semanas, dependendo da superfície; (ii) É através do DNA bacteriano obtido da análise de amostras recuperadas em cenas de crime que se faz uma comparação entre as comunidades bacterianas encontradas nestes objetos e as encontradas na microbiota de possíveis suspeitos (FIERER et al., 2010).

Um estudo feito por Fierer e Knight (2010) comparou as comunidades bacterianas de três teclados de computadores com as encontradas nas mãos dos seus respectivos proprietários. Os resultados foram satisfatórios ao concluir que as comunidades bacterianas dos dedos de um indivíduo são extremamente semelhantes às encontradas em seu objeto pessoal, com relação aos objetos de outros indivíduos. Esta analogia sugere que há uma transferência direta das comunidades microbianas da pele do indivíduo para o objeto que foi apalpado pelo mesmo e que tais culturas podem servir como uma impressão digital.

Figura 8 - Correspondência entre as comunidades bacterianas e teclados individuais e os dedos dos proprietários dos teclados.



Fonte: Retirado de Fierer, 2010.

Essa conduta pode sinalizar uma nova possibilidade em investigações forenses de acordo com os mais variados cenários. Isto porque em situações em que não há sangue, sêmen ou saliva que foram detectados, é extremamente difícil obter DNA humano para identificar suspeitos. Em contrapartida, sempre haverá uma infinidade de microrganismos que podem ser coletados, identificados e caracterizados em objetos de uma cena de crime e posteriormente comparados com a microbiota de indivíduos envolvidos na investigação. Outrossim, podendo ser proveitosa na análise de objetos em que as impressões digitais não podem ser obtidas com clareza, como tecidos de roupas ou objetos, superfícies texturizadas ou mesmo manchadas.

4.2.1.1.2 Microbioma de fluidos corporais

Os fluidos corporais mais comumente encontrados em investigações forenses são saliva, sêmen e sangue. Porém, existem outros fluidos que podem ser identificados, tais como urina, suor e fluidos vaginais que também podem ser utilizados como vestígios na solução de crimes, isto porque são excelentes bioindicadores, já que contém em sua composição, uma gama de microrganismos que podem ser identificados, definidos e tipificados (OLIVEIRA et al., 2018).

Cada fluido corporal pode ser caracterizado de acordo com a composição de seus microrganismos. O fluido vaginal, por exemplo, pode ser identificado pela presença de bactérias específicas, como *Lactobacillus crispatus*, uma espécie de bactéria que pertence ao gênero *Lactobacillus*, existente naturalmente na microbiota vaginal, sendo uma bactéria Gram-positiva e homofermentativa. Já a *Lactobacillus gasseri*, uma bactéria probiótica, também ácida láctica, Gram-positiva e que se encontra naturalmente no leite materno humano. Enquanto a saliva pode ser identificada pela presença das seguintes bactérias: *Veillonella atypica*, bactéria Gram-negativa da família *Veillonellaceae*, há também a *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius*, ambas Gram-positivas (OLIVEIRA et al., 2018).

Como resultado prático das informações trazidas neste trabalho, exibem-se casos reais do uso de bactérias na resolução de crimes.

Caso de envenenamento

Em fevereiro de 1989 ocorreu um jantar que marcou a vida de cinco pessoas no estado de Nova York, em uma cidade encravada entre o Parque Estadual Catskill e o rio Hudson. Cerca de alguns dias após o jantar, dois dos cinco convidados passaram a apresentar sintomas parecidos, como fala arrastada, náuseas, dificuldade na marcha e fraqueza muscular. À primeira vista hospitalar, suspeitou-se de derrame, que logo foi descartado para elucidar uma nova possibilidade: Botulismo.

O Botulismo, que deriva de *botulus*, é uma forma rara, porém, muitas vezes fatal de envenenamento por uma toxina produzida pela bactéria

Clostridium botulinum, um bacilo Gram-positivo pertencente à família *Bacillaceae*. Após uma investigação médica, descobriu-se uma alimentação em comum entre todos os indivíduos que apresentavam tais sintomas. Uma investigação criminal foi aberta, já que havia um pequeno surto de pacientes com botulismo (EDLOW, 2011).

Após análise minuciosa, foi descoberto que o alho em conserva dentro do azeite não fora acidificado com conservantes e o fato de estar lacrado, impedia o contato com oxigênio, o que precipitava um ambiente ideal para a germinação dos esporos da bactéria, que produziu a toxina A dentro do azeite que posteriormente foi utilizado no preparo dos alimentos do fatídico jantar quase fatal.

O fabricante, a Colavita Pasta and Oil de Newark, Nova Jersey, voluntariamente retirou o produto do mercado. Ao todo, trezentas caixas de vidro foram encontradas. A partir deste episódio, temos que a negligência com relação à produção e armazenamento de alimentos pode se tornar um importante problema de saúde pública e, posteriormente, compor parte de uma investigação policial pela proliferação de microrganismos possivelmente patogênicos para o ser humano (EDLOW, 2011).

4.2.2 Fungos

A micologia forense compreende o estudo dos fungos que aparecem na superfície de cadáveres como ferramentas de uma investigação criminal. A análise de fungos pode ser utilizada para estimar o intervalo *post mortem* e o tempo de decomposição, podem auxiliar no fornecimento de evidências residuais e na determinação de causa de morte em casos de intoxicações (BARBOSA; et al. 2012).

A exploração deste ramo de pesquisas envolvendo fungos encontrados em corpos cadavéricos para o estabelecimento do intervalo *post mortem* tem sido a maior contribuição do estudo de fungos na área forense. Isto se deve ao fato de que, a partir da identificação dos tipos de fungos encontrados em um determinado ambiente ou cadáver e das observações de como ocorrem as interações com outros compostos do ambiente, é possível estabelecer o intervalo

de morte. Os principais fatores que contribuem para este achado são a sucessão do crescimento fúngico e o uso de nitrogênio (BARBOSA; et al, 2012).

Para Barbosa et al. (2012), destacam-se dois grupos de fungos, os que formam corpos de frutificação em condições naturais após a decomposição cadavérica, que podem ser chamados de fungos *post putrefaction*, e fungos que formam corpos de frutificação no solo após tratamento com amônia, os chamados fungos de amônia. Além disso, evidenciam-se os *Zygomycetos* e *Ascomycetos* (em fase anamórfica e teleomórfica e como sendo fases assexuada e sexuada respectivamente), fungos caracterizados como de frutificação precoce, e os *Basiomicetos*, de frutificação tardia, destacados para a análise de decomposição.

Alguns casos foram reconhecidos por utilizarem a análise de fungos em investigações forenses. São eles:

Caso de estupro

O primeiro caso de crime sexual em que foi possível usufruir da análise de fungos foi o qual uma vítima alegava ter sofrido abuso sexual perto de determinadas árvores, porém, o suspeito alegava que havia tido relações sexuais consentidas pela vítima em um parque localizado a duzentos metros de distância do local onde a mulher havia relatado (HAWKSWORTH, 2015).

Sendo assim, foram colhido fungos característicos de madeiras e folhas mortas encontrados nas roupas e sapatos da vítima e do suspeito. A análise destes microrganismos demonstrou que o crime ocorrera no local onde a vítima havia dito. Esta informação foi significativa o bastante para consolidar a denúncia da vítima e, com tais evidências, o suspeito foi indiciado pelo crime (HAWKSWORTH, 2015).

Caso Baronesa

Voorde e Van Dijck explicitaram a análise de fungos em uma investigação de um crime ao conduzirem um estudo a fim de estabelecer o intervalo *post mortem*. Em 1982, fungos foram encontrados no cadáver de uma baronesa que havia sido assassinada em sua residência. Estes microrganismos foram

coletados do local do crime, isolados e incubados com o intuito de reproduzir exatamente o mesmo ambiente no qual havia ocorrido o crime (WILTSHIRE, 2015).

Posteriormente, por meio da análise do crescimento fúngico, foi possível estabelecer o intervalo de tempo de dezoito dias entre a ocorrência do crime e a descoberta do corpo da vítima, informação comprovada ao final do inquérito pela confissão do autor do crime (WILTSHIRE, 2015).

Caso de esfaqueamento

Lehman citou em 2014 um caso de um corpo encontrado em um apartamento fechado com múltiplas marcas causadas por agentes perfuro cortantes, no caso, uma faca. O fato de o apartamento estar fechado auxiliou o estudo, uma vez que impossibilitou a entrada de insetos, que iriam acelerar o processo de decomposição.

Os cientistas forenses perceberam então que haviam fungos nas manchas de sangue no carpete onde o corpo estava. Sendo assim, amostras do carpete sem manchas de sangue foram recolhidas e levadas ao laboratório, onde foram manchadas de sangue bovino e mantidas sob condições de umidade e temperatura semelhantes as do apartamento onde ocorreu o crime (LEHMAN, 2014).

As colônias dos fungos *Penicillium brevicompactum* e *Penicillium citrinum*, ambos pertencentes ao gênero *Penicillium* e *Mucor plumbeus*, fungos da família *Mucoraceae* foram encontradas no local do crime e comparadas com as colônias de fungo que cresceram no carpete incubado em laboratório, assim sendo possível estabelecer um intervalo de 5 dias desde o ocorrido crime, informação confirmada dias após tal constatação com a confissão do crime pelo agressor (LEHMAN, 2014).

Caso no Japão

Um cadáver de um homem de aproximadamente 70 anos foi localizado em Tochigi, noroeste do Japão. O corpo foi encontrado dentro de um poço aberto

com aproximadamente 6 metros de profundidade. No documento oficial, foi descrito que o homem fora encontrado de joelhos com as mãos submersas e em sua face era possível observar diversas colônias de fungos (Figura 08). Os fungos foram identificados como *Penicillium sp.* e *Aspergillus terreus*. Tais evidências possibilitaram concluir que o indivíduo havia morrido há pelo menos dez dias. Sendo assim, os peritos responsáveis pelo caso somaram estas informações com depoimentos de cidadãos locais, que diziam que o homem havia sido visto com vida pela última vez cerca de 12 dias antes da polícia encontrar o cadáver no poço, comprovando que a utilização dos fungos em investigações é de fato extremamente eficaz na solução de casos (HITOSUGI; et al. 2006).

Figura 9 - Colônias de fungo de coloração branca encontradas em um cadáver no Japão



Fonte: Retirado de Hitosugi, 2006.

Estudo no Ceará

Moreira Filho em 2008, realizou um estudo no Brasil, o qual coletou amostras de 60 cadáveres em diferentes estágios de decomposição. Após isolar fungos mitospóricos, ele obteve o seguinte resultado: Há uma prevalência da forma fúngica filamentosa nos períodos gasoso e de esqueletização, enquanto

no período coliquativo, há um maior crescimento de leveduras.

Ele também avaliou as ordens fúngicas prevalentes em cada período de decomposição, em que foi possível determinar que os gêneros *Aspergillus* e *Candida* aparecem mais nos períodos gasoso ou coliquativo. Já o fungo *Penicillium spp.* e *Mucor spp.*, do gênero dos Zygomycetos, tem maior prevalência no período de esqueletização (MOREIRA FILHO, 2008).

4.2.2.1 Infecções hospitalares

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define infecção hospitalar como infecção adquirida após a admissão do paciente na unidade hospitalar e pode se manifestar durante a internação ou após a alta. Pela sua gravidade e aumento do tempo de internação do paciente, é causa importante de morbidade e mortalidade, caracterizando-se como problema de saúde pública.

Um breve leque das investigações forenses é aberto ao se tratar de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), também conhecidas como infecções nosocomiais (INs). É de conhecimento público que bactérias e fungos são os principais microrganismos envolvidos em casos de infecção hospitalar. Este fato foi exemplificado em um trabalho realizado em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Sudoeste do Paraná, onde foram obtidos os seguintes resultados: Bactérias foram os microrganismos mais prevalentes nas IRAS, respondendo por 78,8% dos casos, enquanto os fungos estão relacionados em 21,2%. Entre as bactérias a mais prevalente foi a *Pseudomonas aeruginosa* (19,7%), seguida de *Escherichia coli* (11,2%), *Acinetobacter sp.* (11,2%), *Klebsiella sp.* (8,5%) entre outras. Já entre os fungos, 15,5% eram leveduras cuja identificação não foi realizada e 5,7% pertenciam ao gênero *Candida sp.* (TABELA 1).

Tabela 1 - Microrganismos detectados nas infecções hospitalares na Unidade de Terapia Intensiva, do Hospital Regional do Sudoeste do Paraná, em 2015.

Microrganismos	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	19,7
<i>Escherichia coli</i>	8	11,2
<i>Acinetobacter</i> sp.	8	11,2
<i>Klebsiella</i> sp.	6	8,5
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativos	5	7,1
<i>Serratia</i> sp.	3	4,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2,8
<i>Aeromonas</i> sp.	1	1,4
<i>Enterococcus</i> sp.	1	1,4
<i>Acinetobacter</i>	1	1,4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,4
Leveduras*	11	15,5
<i>Candida</i> sp.	4	5,7
Clínico	6	8,5

Fonte: Adaptado de Casaril (2016).

A idade do paciente, comorbidades, tempo de internação e inserção de catéteres são os principais fatores que, de alguma forma, favorecem o desenvolvimento de tais infecções. Além disso, existem alguns guias para transmissão de microrganismos possivelmente patogênicos. Dentre eles: telefones celulares, equipes de enfermagem, roupas de médicos, estetoscópios, entre outros (OLIVEIRA, 2008).

Rotineiramente, a fiscalização de patógenos em superfícies hospitalares é realizada através de métodos convencionais de luminescência e microbiologia. Porém, ainda existem casos de pacientes que vem a óbito por infecções não relacionadas ao seu motivo de internação, caracterizando o início de uma investigação forense para descobrir de que forma foi adquirida e se foi necessariamente negligência hospitalar.

Assim, a perícia relacionada às infecções hospitalares, leva em consideração se houve alguma imprudência ou negligência por parte da equipe médica e é feita uma análise do (s) microrganismo (s) em questão, para averiguar se este (s) não provém da própria microbiota do paciente e se correlaciona (m) com alguma possível comorbidade que este venha a ter para assim, concluir a

investigação (DINIZ, 2018).

A investigação que busca determinar se foi negligência médica ou apenas uma intercorrência comum se faz mais difícil, uma vez que, como visto anteriormente, a maioria das bactérias e fungos responsáveis são comuns da microbiota, dificultando o processo de análise para descobrir se foi transmitido por alguma falha na equipe do hospital, ou se o microrganismo migrou do seu sítio inicial. Sendo assim, estudos que abordam essa busca pelo microrganismo responsável por causar a infecção são muito recentes e necessitam de mais testes para que alcancem maior aceitação e confiabilidade, uma vez que se o paciente, ou familiar (caso o paciente venha a óbito) provar que o microrganismo causador teve sua ação devido à negligência médica, o mesmo poderá ir atrás da justiça (DINIZ, 2018).

4.2.3 Algas

Diversos estudos provam que a Botânica Forense é uma área de extrema importância na investigação de crimes. Sempre circunscrita à taxonomia e morfologia sistemática pela identificação de espécies de plantas ilícitas, este âmbito de investigações pode ser melhor explorado, fornecendo informações distintas e específicas sobre diversas outras áreas. De forma sucinta, o Biólogo Forense encarrega-se de obter informações válidas em investigações a partir de vestígios de plantas recolhidas nos locais de crimes, em que aplicam-se técnicas de análises de fragmentos e resíduos, compostos químicos e DNA (BEZERRA, 2020).

O auxílio da Botânica Forense se dá através do questionamento de mortes por meio de conexões entre a hora da morte e a sua causa, direcionando as ligações entre a identificação do criminoso e o delito cometido, assim como o estabelecimento do local e época da morte, tudo através do auxílio de pistas vegetais (BEZERRA, 2020).

Em um estudo de Palma, realizado em 2008 no Chile, foi proposto o chamado “teste de microalgas”, no qual fizeram o uso não somente de diatomáceas, mas também de clorófitos e dinoflagelados. A razão de terem optado pelo uso de outras espécies de algas foi devido ao fato de as

diatomáceas terem poucas válvulas capazes de serem recuperadas de tecidos cadavéricos e ao utilizar outras espécies, o diagnóstico tende a ser mais confiável.

Este teste foi feito a partir do recolhimento de corpos de três indivíduos na cidade de Antofagasta, Chile, no verão de 2005. O estudo concluiu que se houver presença de microrganismos aquáticos nos tecidos da vítima, como fígado, medula óssea e rins, é o suficiente para comprovar que houve disseminação das mesmas a partir da circulação sanguínea, pela sua capacidade de penetração na barreira alvéolo-capilar, ainda mais se estes microrganismos forem compatíveis com o meio de afogamento (PALMA, 2008).

Além destes estudos, diversos casos ficaram famosos pelo uso das algas como ferramenta nas investigações forenses. Este trabalho explicita alguns deles.

Caso em Connecticut

Siver, em 1994 explicita um caso ocorrido em 1991, no subúrbio de Connecticut, dois jovens foram vigorosamente atacados por criminosos enquanto pescavam em um lago. Foram ameaçados com arma branca, amarrados com fitas adesivas, espancadas e jogados ao lago para se afogarem e virem a óbito.

Com sorte, um deles se soltou e salvou o amigo. Após o incidente, três suspeitos foram retidos e, para condená-los, era necessário relacioná-los às vítimas e ao local do crime. Para isso, usou-se o sedimento das solas dos sapatos dos suspeitos e dos jovens.

Após encaminhamento para análise microscópica, identificou-se espécies de algas diatomáceas, que foram então comparadas com as espécies do lago. Provou-se um mesmo padrão de distribuição das espécies, comprovando que as amostras obtidas dos sapatos dos infratores eram as mesmas das vítimas e do local em que ocorreu o crime (SILVER, 1994).

Caso Hoepplinger

Outro exemplo foi citado por Coyle (2005), desta vez o caso descreve um episódio em que uma jovem mulher foi brutalmente assassinada na sala de estar de sua casa. O óbito foi causado por um trauma na cabeça. O marido da vítima informou que a havia encontrado no sofá da sala, mas vestígios de materiais vegetais e tecidos esfoliados foram encontrados no corpo e roupas da mesma, revelando controvérsias no depoimento do marido, que passou então a ser o principal suspeito na investigação.

O material coletado foi levado para análise, que constatou uma semelhança com outros tipos de vegetação na entrada da garagem. No decorrer da investigação, os peritos encontraram um tijolo perto da lagoa que ficava atrás da casa, com resquícios de cabelo e tecido da vítima. Outras análises microscópicas foram feitas e concluiu-se que havia uma correlação entre o marido, a arma do crime, as algas em sua camisa e as espécies de algas do lago, confirmando seu delito (COYLE, 2005).

Caso Mércia Nakashima

Em maio de 2010, no Estado de São Paulo ocorreu o desaparecimento da advogada Mércia Mikie Nakashima. Após 19 dias da denúncia, seu corpo foi encontrado na represa de Nazaré Paulista. Apurou-se que Mércia nutriu um relacionamento amoroso conturbado com o advogado Mizael Bispo de Souza, que, após o término, a ameaçava constantemente de morte (FABIANE; et al. 2023).

Durante as investigações, foi localizado um pescador que, na noite do desaparecimento da vítima, avistou um indivíduo do sexo masculino empurrar um carro de cor prata para dentro da represa em Nazaré Paulista. No dia 10 de junho o corpo foi encontrado, exatamente no local onde o pescador havia descrito o ocorrido (FABIANE; et al. 2023).

O exame necroscópico concluiu que a vítima havia levado três disparos por arma de fogo, entretanto, foi apontado como causa da morte o afogamento, ou seja, a vítima ainda com vida foi empurrada dentro do carro em direção a represa (FABIANE; et al. 2023).

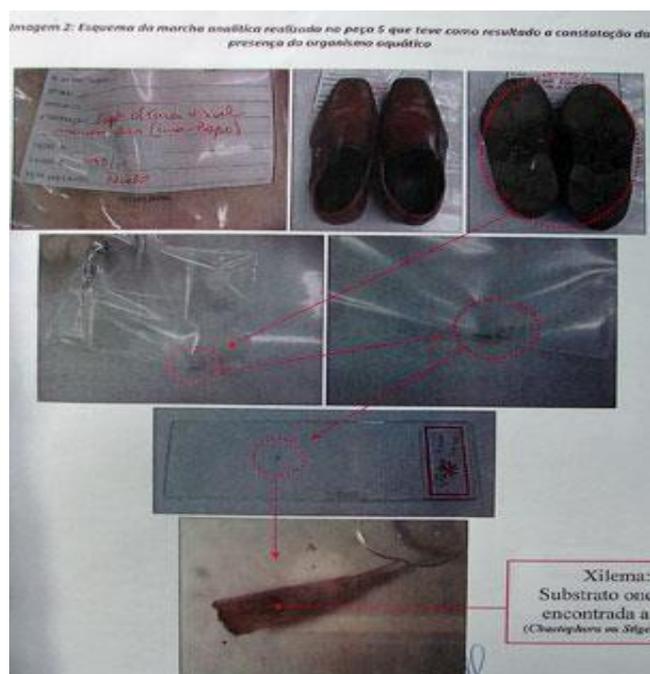
O principal suspeito era seu ex-namorado Mizael, que negava o crime e

apresentava um álibi para o dia do desaparecimento da vítima. Foi identificado um outro suspeito, Evandro Bezerra Silva, amigo próximo de Mizael, que, no dia do crime, manteve intenso contato com o ex-namorado de Mércia (FABIANE; et al. 2023).

A equipe de peritos solicitou análise das vestimentas e sapatos de Mizael, onde foram encontradas amostras de cabelo, sangue e fragmentos de algas. Porém, as amostras eram irrisórias e assim, não foi possível analisar o DNA das amostras humanas. Foram coletadas então amostras de terra e algas do sapato de Mizael, que foram analisadas. Após análise feita pela Universidade de São Paulo, foi possível identificar que a alga encontrada no sapato de Mizael pertencia ao gênero *Stigeoclonium Kutzing*, compatível com as espécies de algas que eram endêmicas da represa de Nazaré Paulista, apontando-o como executor do crime, enquanto Evandro foi condenado como co-autor do homicídio. Essa evidência, somada com outras, levou Mizael a julgamento, onde o mesmo confessou o crime e foi condenado a 22 anos de prisão (FABIANE; et al. 2023).

Este foi o primeiro caso no Brasil em que os conhecimentos botânicos foram primordiais para encontrar o autor do delito.

Figura 10 - Folha do laudo que mostra análise dos sapatos apreendidos.



Fonte: G1, 2010.

Através destes casos foi possível evidenciar a importância da Botânica Forense na elucidação de casos. Isto porque, geralmente, por não se moverem, plantas e algas tem sua anatomia e bioquímica rigorosamente relacionadas ao seu habitat natural, vivendo apenas em locais específicos. Assim, saber dessas informações pode ser útil quando um determinado vestígio vegetal aparece em uma cena de crime, seja para identificar o local em que este ocorreu ou mesmo a época do ano.

Dentre as algas, as diatomáceas se destacam como auxiliares na resolução de delitos, pelo fato de serem envoltas por sílica, um mineral que não se degrada facilmente, portanto, pode permanecer no corpo de uma vítima por horas depois de o crime ter ocorrido. Além disso, se um indivíduo sofrer um afogamento intencional, ele irá acabar inalando água antes de ir a óbito, e conseqüentemente as diatomáceas irão para os pulmões e, a partir daí, para a corrente sanguínea. Enfim, migrarão para órgãos internos e para a medula óssea. Com o curso das investigações, se forem identificadas tais espécies de algas na medula óssea de uma vítima, pode-se concluir que esta estava viva quando entrou na água e que a causa da morte foi afogamento (BEZERRA, 2020).

4.2.4 Determinando o local de morte

O discernimento de cenas de crime primárias (onde o ato criminoso foi cometido) e secundárias (qualquer outro local relacionado a este evento) é imprescindível em investigações policiais.

Em alguns países já é utilizado o estudo do solo em investigações forenses, tanto para determinar o local de morte, quanto para estimar o tempo após a morte. Características como diversidade, pluralidade e transferibilidade, conferem ao solo extrema importância nas investigações forenses, através da comparação de amostras coletadas de objetos carregados por suspeitos (sapatos, roupas), que contenham substratos de solo, com os locais onde as vítimas foram encontradas. Isto porque os microrganismos do solo podem ser facilmente identificados, quantificados e caracterizados a partir de técnicas de extração de DNA, enquanto outras amostras, como sangue, fluidos corporais, fios de cabelo, nem sempre serão facilmente detectados ou estarão presentes

em uma cena de crime (DEMANÈCHE, 2017).

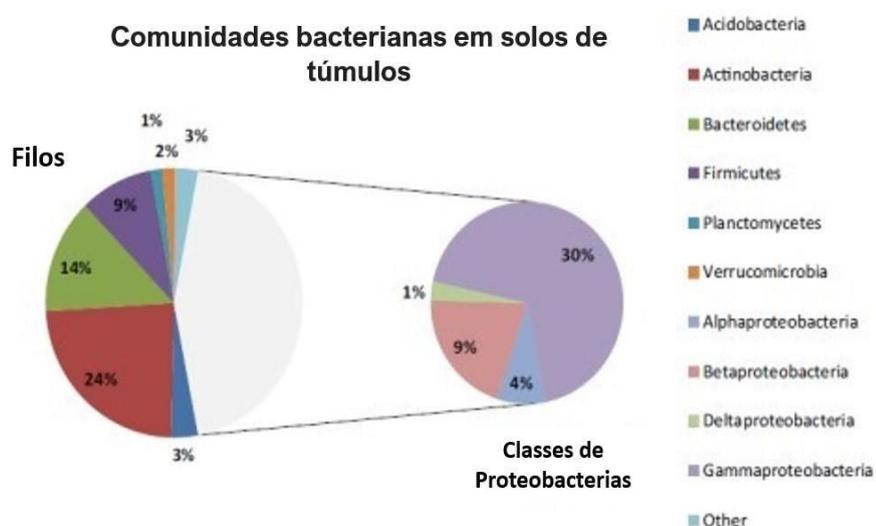
Como exemplo do uso do microbioma do solo em investigações, tem-se o caso do massacre ao noroeste da Bósnia, em julho de 1995, em que mais de 8000 civis vieram a óbito e os corpos foram jogados em valas comuns. A identificação de tais valas foi feita através do estudo do solo, com dados botânicos e geológicos.

4.2.5 Microbioma do solo

O solo é um objeto de estudo valioso tendo em vista suas particularidades e conseqüentemente a sua colonização diversa por microrganismos extremamente específicos de acordo com a variabilidade de suas características. A junção da disparidade de espécies microbiológicas habitantes de um solo com a sua peculiaridade de ser transladado, confere a ele respostas para diversas perguntas sem respostas em uma investigação criminal (DEMANÈCHE, 2017).

As comunidades microbianas da superfície do solo possuem propensões descendentes de diversidade, uniformidade e riqueza dos táxons. Enquanto comunidades microbianas em contato com cadáveres enterrados são inversamente proporcionais com relação às da superfície (DEMANÈCHE, 2017).

Figura 11 - Comunidades microbianas em solos associados a cadáveres



4.3 CRONOTANATOLOGIA

4.3.1 Estimativa do Intervalo *post mortem* (IPM)

Novakoski caracteriza cronotanatognose como uma presunção do tempo que decorreu desde a morte de um indivíduo até o momento em que o cadáver foi encontrado, também conhecido como intervalo *post mortem* (IPM). Uma vez que é determinada, a estimativa do IPM pode ajudar em diversas áreas, como por exemplo, emissão de atestado de óbitos, avaliação de possíveis álibis e, principalmente, na identificação de suspeitos. Hodiernamente, uma técnica que demonstra ter grande potencial para estimá-lo é o estudo das comunidades de microrganismos que rodeiam o cadáver e o local onde o mesmo permaneceu.

4.3.2 Objetivos da estimativa do IPM

Duas condutas são utilizadas para estimar a hora da morte: (i) parecer sobre as alterações *ante mortem*, sejam elas fisiológicas ou patológicas. Estas são identificadas no corpo da vítima, como idade da ferida e/ou conteúdo gástrico e estabelecem parte das conclusões das investigações forenses por estabelecerem apenas aproximações sobre a hora da morte; (ii) parecer sobre as alterações *post mortem*, imprescindível para determinação da hora da morte, já que fornecem informações mais fidedignas (MOREIRA FILHO, 2008).

4.3.3 Fatores que influenciam nas estimativas de IPM

Esta estimativa depende de diferentes vertentes, como por exemplo, as condições climáticas, o local onde o corpo permaneceu após a morte e, principalmente, a causa da morte.

Algumas características do processo de decomposição são utilizadas para estimar o IPM. São elas: O *algor mortis*, *livor mortis*, *rigor mortis*, atividade enzimática, concentração eletrolítica, etc. Estudos novos vêm nos mostrando que a sucessão *post mortem* das comunidades de bactérias pode servir como uma estimativa do IPM (MADEA, 2016).

Em uma das fases do processo de decomposição, as liberações dos fluidos cadavéricos acabam por modificar a composição do solo de onde o corpo permaneceu, influenciando o aparecimento de microrganismos específicos, sendo possível em alguns casos estimar o IPM desta forma (HAUTHER, 2015).

Novos métodos vêm sendo estudados para avaliar a estimativa do intervalo *post mortem*, como a análise da concentração de citrato no osso, de mudanças no humor vítreo e de componentes teciduais, principalmente de tecidos moles (vasos sanguíneos, linfáticos, tecido muscular, tecido adiposo, nervos, tendões, etc). Porém, todos esses meios ainda são muito recentes e necessitam de mais testes para conquistarem espaço no âmbito judicial (DINIS-OLIVEIRA, 2015).

4.4 O TANATOMICROBIOMA E COMUNIDADES EPINECRÓTICAS

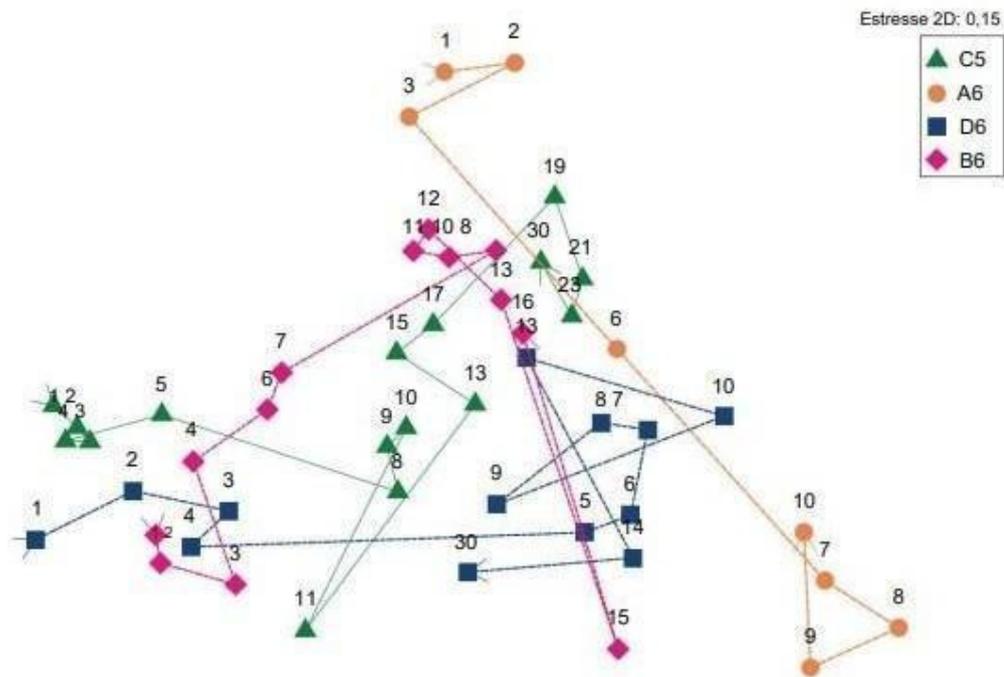
O microbioma humano *post mortem* é constituído pelo tanatomiobioma e por comunidades microbianas epinecróticas (caracterizadas pelos microrganismos que habitam sobre os restos cadavéricos).

O tanatomiobioma fundamenta-se no estudo das comunidades de microrganismos que habitam as cavidades e órgãos após a morte de um indivíduo. Com os avanços na área científica, foi constatado que a maior parte dos microrganismos encontrados em um corpo após sua morte são anaeróbios obrigatórios, como o caso do *Clostridium spp.* (JAVAN et al., 2016).

Com os avanços no campo de pesquisa sobre a quantidade de seres que agem na decomposição cadavérica, é possível notar que existe uma lacuna de esclarecimento sobre tais organismos específicos na decomposição de órgãos internos. (JAVAN et al., 2016).

Um estudo feito por Hather (2017) utilizando quatro cadáveres provenientes de morte natural foi feito na Universidade do Tennessee. O intuito do estudo foi avaliar as comunidades microbianas intestinais do ceco e as suas possíveis variações *post mortem* entre os indivíduos. Ao final do experimento, concluiu-se que, por mais que invariavelmente os mesmos possuíssem divergências em suas características, as trajetórias reveladas pelas comunidades microbianas dos quatro foram semelhantes (FIGURA 11).

Figura 12 - Mudanças nas comunidades bacterianas intestinais de seres humanos falecidos ao longo do tempo.

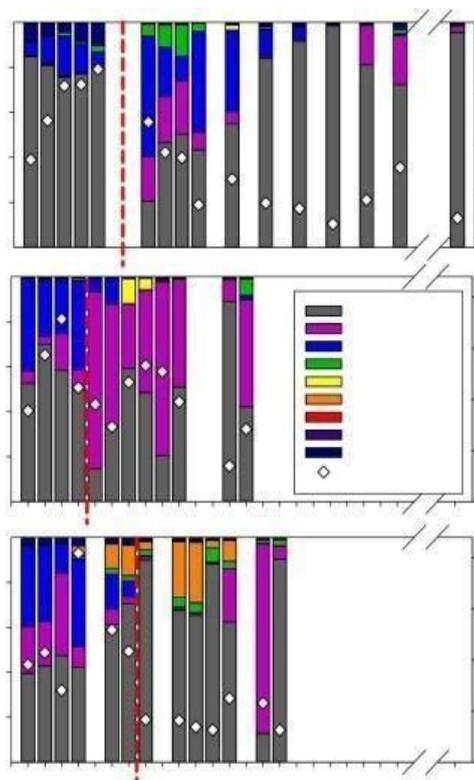


Fonte: Retirado de Hauther, 2017.

Os símbolos representam os três indivíduos: A6 (círculos), B6 (losangos), C5 (triângulos), D6 (quadrados) e os números referem-se aos dias *post mortem*. As linhas indicam a trajetória das comunidades a partir do primeiro dia *post mortem*.

As primeiras comunidades microbianas encontradas de forma relevante e preponderante foram Bacteroidetes e Firmicutes. Já as comunidades bacterianas tardias predominavam com Firmicutes, seguido do enriquecimento da Ordem Clostridiales dentro do filo Firmicutes (*Clostridium*, um gênero de bactérias firmicutes Gram-positivas e *Peptostreptococcus*, bactérias anaeróbias ou microaerofílicas, Gram-positivas e não-formadoras de esporos) (FIGURA 12).

Figura 13 - Abundância relativa dos filos nas comunidades bacterianas em função do tempo desde a morte (intervalo *post mortem*)



Fonte: Retirado de Hauther, 2017.

As linhas tracejadas vermelhas diferenciam as comunidades “primeiras” das “tardias” conforme determinado pela análise de agrupamento hierárquico. Os losangos brancos mostram a diversidade da comunidade, estimada pelo Índice de Simpson inverso.

Foi provado que com o passar do tempo, as comunidades bacterianas apresentam uma diminuição da diversidade. As tardias, portanto, tinham uma maior riqueza, mas uma menor diversidade de bactérias. Isto porque uma hierarquia começa a se estabelecer por apenas alguns gêneros imperantes. Além disso, diferenças nas características individuais dos participantes do estudo, como presença ou não de metabólitos de drogas e teor de gordura corporal acabam por afetar a trajetória final da comunidade microbiana dos mesmos (HAUTHER, 2017).

Como conclusão do estudo, Hauther (2017) explicita que, na fase tardia, como marcador, temos organismos anaeróbios obrigatórios, conhecidos como *Clostridium spp.*, componentes da microbiota intestinal humana normal e

saudável, sendo um indicativo significativo e confiável de intervalo *post mortem*, além da diminuição de *Bacteroides* e *Parabacteroides*, portanto, inversamente proporcionais ao serem associados ao IPM.

5. CONCLUSÃO

Ao longo do trabalho explicitou-se o uso da Microbiologia Forense e suas vertentes como ferramentas diversas e essenciais no desenvolvimento da resolução de crimes.

Através da leitura e análise de um vasto referencial teórico, como artigos científicos, livros e revistas, pode-se comprovar assertivamente o fato da contribuição positiva da Microbiologia Forense em diversos âmbitos das investigações, principalmente acerca da determinação do intervalo *post mortem* e do papel da proliferação dos microrganismos presentes em uma cena de crime, seja em objetos ou no próprio cadáver, concomitantemente com explicações científicas e teóricas com relação ao desenvolvimento de tais microrganismos no local a ser analisado.

Foi possível diferenciar a proporção de bactérias dos filos Bacteroidetes e Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria, para a determinação do intervalo *post mortem* e comprovar a utilização de microrganismos na identificação de suspeitos, como destacam-se *L. crispatus* e o *L. gasseri*, bactérias predominantes na genitália feminina, informação que contribui efetivamente para resolução de crimes sexuais.

Apesar de ser uma área recentemente implementada, evidenciaram-se casos reais e alguns deles, popularmente conhecidos e divulgados em que a Microbiologia Forense mostrou-se útil para a conclusão da investigação, seja como uso de bactérias, fungos e/ou algas.

Como conclusão principal tem-se o fato de existir um imenso referencial teórico desenvolvido ao longo dos últimos anos, incluindo trabalhos, artigos científicos, revistas e casos mostrando o uso da Microbiologia Forense na resolução de crimes, o que reforça a importância de se investir nesta área. Assim, faz-se necessária a divulgação e realização de mais pesquisas e estudos práticos para o aprofundamento do assunto e apropriação deste conhecimento como forma de melhorar a compreensão em relação ao uso dos microrganismos como ferramenta essencial nestes casos.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, B. et al. **Microbiología forense**. Universidad Complutense de Madrid, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/275406642_Microbiologia_forense. Acesso em: 12 de jun de 2023.

ASSIS, F.M; OLIVEIRA, I.F; SILVA, J.R.N; SANTOS, L.G; MARTINS, V. BELOMO. **Caso Mércia Nakashima**. Revista Jurídica Eletrônica, 2011. Disponível em: http://www.direitoceunsp.info/revistajuridica/ed5/rje/5a_edicao/artigos_alunos/caso_mercia_nakashima.BARALDI. Acesso em 17 Abr. 2023.

AZEVEDO, I.L. **A aplicação da biologia forense na perícia criminal**. Faculdade Estácio. Natal, 2009. Disponível em: http://adcon.rn.gov.br/ACERVO/pmrn_de/DOC/DOC00000000181131.PDF. Acesso em: 31 de mar de 2023.

BARBOSA, V. C.; BREITSCHAFT, A. M. S. **An experimental apparatus to study the Archimedes' principle**. Revista Brasileira Ensino de Física, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbef/a/P4tRK3vSC6kBCgR9WrkrJTx/abstract/?lang=pt>. Acesso em 22 de fev de 2023.

BARBOSA, M.A; et al. **Aplicação de fungos em estudos forenses no processo de degradação cadavérica**. Saúde & Ambiente em Revista, 2012. Disponível em: <http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/sare/article/view/1656>. Acesso em: 09 jan. 2023.

BARROS, F. et al. **Ciencias forenses: principios éticos y sesgos**. Revista Bioética, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/GYNrWJgbtfwQskD5TR7dCGN/?lang=es>. Acesso em 22 de fev de 2023.

BELL, C.R. et al. **Sex-related differences in the thanatobiome in postmortem heart samples using bacterial gene regions V1-2 and V4.** Letters in Applied Microbiology, Volume 67, 1 August 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29747223/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

BEZERRA, Alcilene; SANT, Felipe. **A ciência para a resolução de crimes: o papel da botânica forense no âmbito criminal.** Educamazônia - Educação, Sociedade e Meio Ambiente, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufam.edu.br/index.php/educamazonia/article/view/7837>. Acesso em: 25 abr. 2023.

BLASER, Martin J. **Harnessing the power of the human microbiome.** Proc Natl Acad Sci USA, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20360554/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

BONADIO, Luciana. Polícia diz que sapato de Mizaél tinha alga de represa onde estava Mércia. **G1**, 2010. Disponível em: <https://g1.globo.com/sao-paulo/noticia/2010/08/policia-diz-que-sapato-de-mizael-tinha-alga-de-represa-onde-estava-mercia.html>. Acesso em: 25 abr. 2023.

BOUMBA, V. A. et al. **Microbial ethanol production: Experimental study and multivariate evaluation.** Forensic Sci Int., 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21470803/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

BURCHAM Z.M; Hood J.A; Pechal J.L; et al. **Fluorescently labeled bacteria provide insight on postmortem microbial transmigration.** Forensic science international. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27032615/>. Acesso em 12 fev. 2023.

CALAZANS, C. H.; CALAZANS, S. M. **Ciência forense: das origens à ciência forense computacional.** Escola politécnica da Universidade de São Paulo, 2010. Disponível em: <https://docplayer.com.br/15832473-Ciencia-forense-das-origens-a-ciencia-forense-computacional.html>. Acesso em 04 set. 2023.

CAN, I; JAVAN, G.T; POZHITKOV, A.E; & NOBLE, P.A. **Distinctive thanatobiome signatures found in the blood and internal organs of humans.** Journal of Microbiological Methods, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25091187/>. Acesso em: 24 mar. 2023.

CARDOSO, T. C. **Uso da Biologia Forense como ferramenta investigativa para o Ensino de Genética**. Universidade Estadual do Piauí, 2020. Disponível em: <https://www.profbio.ufmg.br/wp-content/uploads/2021/09/TCM-Thamara.pdf>. Acesso em 20 jun. 2023.

CORDEIRO, C; et al. **A reliable method for estimating the postmortem interval from the biochemistry of the vitreous humor, temperature and body weight**. Forensic Sci Int. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30611119/>. Acesso em: 03 abr. 2023.

COSTA, F.S. **Aplicações da micologia forense no âmbito criminal: uma revisão bibliográfica**. Universidade do estado do Amazonas, 2017. Disponível em: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/1462>. Acesso em: 25 abr. 2023.

COSTELLO, Elizabeth K. et al. **Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time**. Science 326, 2009. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.1177486>. Acesso em: 01 jun. 2023.

COYLE, H.M; LEE, C.L; LIN, W.Y; LEE, H.C; PALMBACH, T.M. **Forensic Botany: Using Plant Evidence to aid in Forensic Death Investigation**. Croatian Medical Journal, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16100764/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

COYLE, H.M. **Forensic Botany: Principles and applications to criminal casework**. United States of America: CRC Press, 2005.

DEBRUYN, Jennifer M ; HAUTHER, Kathleen A. **Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects**. PeerJ 5, 2017. Disponível em: <https://peerj.com/articles/3437/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

DEMANÈCHE, S; SCHAUSER, L; DAWSON, L; *et al.* **Microbial soil community analyses for forensic science: Application to a blind test**. Forensic Sci Int, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27984802/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

DEMANÈCHE, S; SCHAUSER, L; DAWSON, L; *et al.* **Microbial soil community analyses**

for forensic science: Application to a blind test. Forensic Sci Int, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27984802/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

DÍAZ-PALMA, Paula; A. ALUCEMA; HAYASHIDA, G; *et al.* **Development and standardization of a microalgae test for determining deaths by drowning.** Forensic science international, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073808004623>.

Acesso em: 1 jun. 2023.

DICKSON, Gemma C; RUSSELL; MAAS, Elizabeth W; *et al.* **Marine bacterial succession as a potential indicator of *postmortem* submersion interval.** Forensic science international, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073810004755>.

Acesso em: 31 mai. 2023.

DINIZ, Aline. **Microbiologia forense: uma revisão.** Universidade Federal do Paraná, 2020. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/69396/DEBORAH%20ALINE%20DINIZ%20WECOSKI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 abr. 2023.

DINIS-OLIVEIRA, R.J; CARVALHO, F; COSTA, I; SILVESTRE, R, *et al.* **Promising blood-derived biomarkers for estimation of the postmortem interval.** Toxicol 23 Res (Camb), 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30102750/>. Acesso em: 05 fev. 2023.

DINIZ, R. **Infecções hospitalares e o direito à saúde: Uma análise sobre o regime jurídico da responsabilidade civil nos casos de infecção hospitalar e sobre a atuação do Ministério Público na luta pelo seu controle.** Universidade Estadual Paulista, 2018. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/158337/Barcelos_RDP_me_fran.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em 20 mai. 2023

DONALDSON, A.E; LAMONT, I.L. **Biochemistry changes that occur after death: Potential markers for determining post-mortem interval.** PLoS One, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3836773/#:~:text=Blood%20pH%20in%20corpses%20fell,markers%20for%20post%2Dmortem%20interval>. Acesso em: 29 jan. 2023.

DONG, Kaikai; XIN, Ye; CAO, Fangqi; *et al.* **Succession of oral microbiota community as a tool to estimate *postmortem* interval.** Scientific Reports, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-49338-z#citeas>. Acesso em: 22 abr. 2023.

DOREA, L.E. **Criminalística.** 4 ed. Campinas: Millenium, 2010.

ERBERSOLE, Rene. **Down on the Body Farm: Unlocking the Forensic Secrets of Decaying Corpses.** Undark Magazine, 2019. Disponível em: <https://undark.org/2019/11/11/how-microbes-could-aid-forensic-detectives/>. Acesso em: 9 jun. 2023.

FERREIRA, M.T. **Para lá da morte: estudo tafonômico de decomposição cadavérica e da degradação óssea e implicações na estimativa do intervalo pós-morte.** Universidade de Coimbra, 2013. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/handle/10316/21839>. Acesso em: 13 mar. 2023.

FIERER, Noah; LAUBER, Christian L; ZHOU, Nick; *et al.* **Forensic identification using skin bacterial communities.** Washington University School of Medicine, 2010. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1000162107>. Acesso em: 31 maio 2023.

FINLEY, S.J; Benbow M.E; Javan G.T. **Microbial communities associated with human decomposition and their potential use as postmortem clocks.** International journal of legal medicine, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25129823/>. Acesso em: 20 jan. 2023.

FLEMING, R.I.; HARBISON, S. **The use of bacteria for the identification of vaginal secretions.** Forensic Science International: Genetics, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20457059/>. Acesso em: 10 jun. 2023.

GOFF, M.L. **Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers.** Exp Appl Acarol, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19554461/>. Acesso em 07 set. 2023.

GOGA, H. **Comparison of bacterial DNA profiles of footwear insoles and soles of feet for the forensic discrimination of footwear owners.** International journal of legal medicine, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22729347/>. Acesso em: 24 jun. 2023.

GOTTARDO, R; PALACIO, C; et al. **A new method for the determination of ammonium in the vitreous humour based on capillary electrophoresis and its preliminary application in thanatochemistry.** Clin Chem Lab Med. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30157025/>. Acesso em: 01 mar. 2023.

HAARKÖTTER, C. et al. **Usefulness of microbiome for forensic geolocation: A review.** Life, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8707258/>. Acesso em 04 set. 2023.

HAUTHER, K.A; COBAUGH, K.L; JANTZ, L.M; SPARER, T.E; DEBRUYN, J.M. **Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities.** J. Forensic Sci, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26096156/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

HENSSGE C; Madea B. **Estimation of the time since death in the early post-mortem period.** Forensic Sci Int, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15364387/>. Acesso em: 12 mai. 2023.

HILÁRIO, Paulo; ZERBINI, Talita. **Estimativa do intervalo *postmortem* por análise de imagens tomográficas das hipóstases viscerais torácicas.** Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2013. Disponível em: <https://blook.pt/publications/publication/63bd3ae49375/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

HITOSUGI, M. et al. **Fungi can be a useful forensic tool.** Legal Medicine, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1344622306000526>.

Acesso em: 07 set. 2023.

HU, Lai; XING Yu; JIANG Pu; GAN Li; ZHAO Fan; PENG Wenli; LI Weihai; TONG Yanqiu; DENG Shixiong. **Predicting the postmortem interval using human intestinal microbiome data and random forest algorithm.** Sci Justice, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34482931/>. Acesso em: 12 jun .2023.

Human Microbiome Project Consortium. **Structure, function and diversity of the healthy human microbiome.** Nature. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3564958/>. Acesso em: 08 set. 2023.

JAVAN, Gulnaz T. et al. **Cadaver thanatomiobiome signatures: the ubiquitous nature of Clostridium species in human decomposition.** Frontiers in microbiology, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5670113/>. Acesso em 14 fev. 2023.

JAVAN, Gulnaz T. et al. **Human thanatomiobiome succession and time since death.** Scientific reports, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep29598>. Acesso em: 22 mai. 2023.

JAVAN, Gulnaz T. et al. **The thanatomiobiome: a missing piece of the microbial puzzle of death.** Frontiers in microbiology, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4764706/>. Acesso em: 14 fev. 2023.

JAVAN, Gulnaz T. et al. **An interdisciplinary review of the thanatomiobiome in human decomposition.** Forensic Science, Medicine and Pathology, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30519986/>. Acesso em: 02 dez. 2022.

JAVAN, Gulnaz. **Microbioma Humano Postmortem.** 2016. Figura 1. 320x320. Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/The-human-postmortem-microbiome-The-components-of-the-human-postmortem->. Acesso em: 12 fev. 2023.

KALISZAN, M; HAUSER, R; et al. **Estimation of the time of death based on the**

assessment of post mortem processes with emphasis on body cooling. Legal Medicine, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1344622308001636>.

Acesso em: 23 mai. 2023.

KÉRLEY, Braga; PEREIRA, Bento; CASARIL; *et al.* **Principais microrganismos isolados em pacientes com infecção hospitalar em uma Unidade de Terapia Intensiva no Sudoeste do Paraná.** Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2016. Disponível em: <https://eventosunioeste.unioeste.br/images/cosimp/anais/pages/artigos/13532.pdf>

. Acesso em: 14 jun. 2023.

KUMAR, S; ALI, W; SINGH, U.S; KUMAR, A; *et al.* **Temperature Dependent Postmortem Changes in Human Cardiac Troponin-T (cTnT): An Approach in Estimation of Time Since Death.** J Forensic Sci, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26352514/>. Acesso em: 04 abr. 2023.

LAX, S; *et al.* **Forensic analysis of the microbiome of phones and shoes.** Microbiome, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25969737/>. Acesso em 14 jun. 2023

LEHMAN, D.C. **Forensic microbiology.** Clinical Microbiology Newsletter, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22693782/>. Acesso em 24 nov. 2022.

LOURENÇO, A. **Microbiologia.** 2010. Disponível em: <http://www.microbiologia.vet.br/>. Acesso em 16 jul. 2023.

MACEDO DE SOUSA, Maria. **Determinação do intervalo *postmortem*: ficção ou realidade?** Universidade do Porto, 2019. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/122184/2/350486.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2023.

MADEA, B; HERMANN, N; *et al.* **Hypoxanthine in vitreous humor and**

cerebrospinal fluid - a marker of postmortem interval and prolonged (vital) hypoxia? Remarks also on hypoxanthine in SIDS. Forensic Sci Int. 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8206451/>. Acesso em: 12 fev. 2023.

MADEA, B. **Methods for determining time of death.** Forensic Science, Medicine, and Pathology, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27259559/>. Acesso em: 31 mai. 2023.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK; D.P. **Microbiologia de Brock.** Traduzido de Brock Biology of Microorganisms. 12^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAILE, Amy E; INOUE, Christopher G; BARKSDALE, Larry; *et al.* **Toward a universal equation to estimate *postmortem* interval.** Forensic Sci Internacional, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28183035/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

MARTINS, Fabiane; WAKIYAMA, Nadja; LIMA, A.V; *et al.* **Botânica Forense: Denificação e estudos de caso.** Revista Biodiversidade - v.22, 2023. Disponível em: [file:///C:/Users/bzago/Downloads/15851-Texto%20do%20Artigo-68438-1-10-20230702%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/bzago/Downloads/15851-Texto%20do%20Artigo-68438-1-10-20230702%20(5).pdf). Acesso em: 09 out. 2023.

METCALF, J.L. **Estimating the *postmortem* interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption.** Forensic Sci Int Genet, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30448529/>. Acesso em: 22 abr. 2023.

METCALF, J.L; ZHENJIANG Z.X; BOUSLIMANI, Amina; *et al.* **Microbiome Tools for Forensic Science.** Trends Biotechnol, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28366290/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

NOGUEIRA, J.M.R; *et al.* **Bacteriologia.** 1 ed. São Paulo: Fiocruz, 2009.

NOVAKOSKI, E; *et al.* **Time since death: The histological chronotanatognostic.** J Forensic Leg Med, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37393848/>.

Acesso em: 28 ago. 2023.

OLIVEIRA, Manuela; AMORIM, António. **Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects**. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30302518/>. Acesso em: 9 maio 2023.

OLIVEIRA, M.V. **Verificação dos padrões globais do conhecimento científico sobre a microbiologia forense**. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2022. Disponível em: <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/handle/123456789/5242>. Acesso em: 22 abr. 2023.

OLIVEIRA, R; MARUYAMA, S. **Controle de infecção hospitalar: histórico e papel do estado**. Revista Eletronica de Enfermagem, 2008. Disponível em: <https://web.s.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=15181944&asa=Y&AN=36315131&h=A1wGODjGY8zUVxD%2fzHJOJA%2fybK6uhoCV1e4AXkPSMCTtQwr7R1hzhxhXV7dj7iuy1UrC3jP2kxgw0RAtSlwXR2q%3d%3d&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl%3d15181944%26asa%3dY%26AN%3d36315131>. Acesso em: 04 fev. 2023.

OMS. **15/5: Dia Nacional do Controle das Infecções Hospitalares**. Biblioteca Virtual em Saúde MS, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/15-de-maio-dia-do-controle-das-infeccoes-hospitalares#:~:text=A%20partir%20dessa%20iniciativa%20simples,institu%C3%ADdo%20pela%20Lei%2011.723%2F2008>. Acesso em: 14 jun. 2023.

PEREIRA, Patrícia. **Microbiologia Forense e Estimativa do Intervalo Postmortem**. Universidade do Porto, 2017. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/107276/2/211988.pdf>. Acesso em 22 nov. 2022.

SALAM, H.A; SHAAT, E.A; et al. **Estimation of postmortem interval using thanatochemistry and *postmortem* changes.** Alexandria J Med. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506812000498>. Acesso em: 14 mar. 2023.

SIVER, P.A.; LORD, W.D.; MCCARTHY, D.J. **Forensic limnology: the use of freshwater algal community ecology to link suspects to an aquatic crime scene in southern.** Journal of Forensic Sciences, 1994. Disponível em: <https://www.astm.org/jfs13663j.html>. Acesso em: 26 mai. 2023.

SOKOL, N.W; Slessarev, E; Marschmann, G.L; *et al.* **Life and death in the soil microbiome: how ecological processes influence biogeochemistry.** Nat Rev Microbiol, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35228712/>. Acesso em: 9 jun. 2023.

TRABULSI, L.R, ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 5.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TRIDICO, S.R; et al. **Metagenomic analyses of bacteria on human hairs: a qualitative assessment for applications in forensic science.** Investigative genetics, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25516795/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

VENTURA S.E; Stassi C; Mondello C; Zerbo S; Milone L; Argo A. **Forensic microbiology applications: A systematic review.** Leg Med, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30419494/>. Acesso em 26 abr. 2023.

WARTHER, S; SEHNER, S; et al. **Estimation of the time since death: Post-mortem contractions of human skeletal muscles following mechanical stimulation (idiomuscular contraction).** Int J Legal Med, 2012. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00414-011-0665-3#:~:text=Therefore%2C%20idiomuscular%20contraction%20following%20mechanical,of%20cases%20of%20sudden%20death>. Acesso em 29 jan. 2023.

WELLS, Dagan. **Drug administration and sexual assault: sex in a glass**. Sci Justice, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11515167/>. Acesso em: 01 jun. 2023.

WILTSHIRE, P.E.J; HAWKSWORTH, D.L.; EDWARDS, K.J. **Light microscopy can reveal the consumption of a mixture of psychotropic plant and fungal material in suspicious death**. Journal of Forensic and Legal Medicine, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1752928X15001018>. Acesso em 23 mai. 2023.

ZHANG, Fuyuan; WANG, Pengfei; ZENG, Kuo; *et al.* **Postmortem submersion interval estimation of cadavers recovered from freshwater based on gut microbial community succession**. Frontiers in Microbiology, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36532467/>. Acesso em: 22 abr. 2023.

ZHOU, Wei ; BIAN, Yingnan. **Thanatobiome composition profiling as a tool for forensic investigation**. Forensic sciences research, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6197100/>. Acesso em: 25 abr. 2023.

ZILG, B; BERNARD, S; *et al.* **A new model for the estimation of time of death from vitreous potassium levels corrected for age and temperature**. Forensic Sci Int. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26232848/>. Acesso em: 25 abr. 2023.