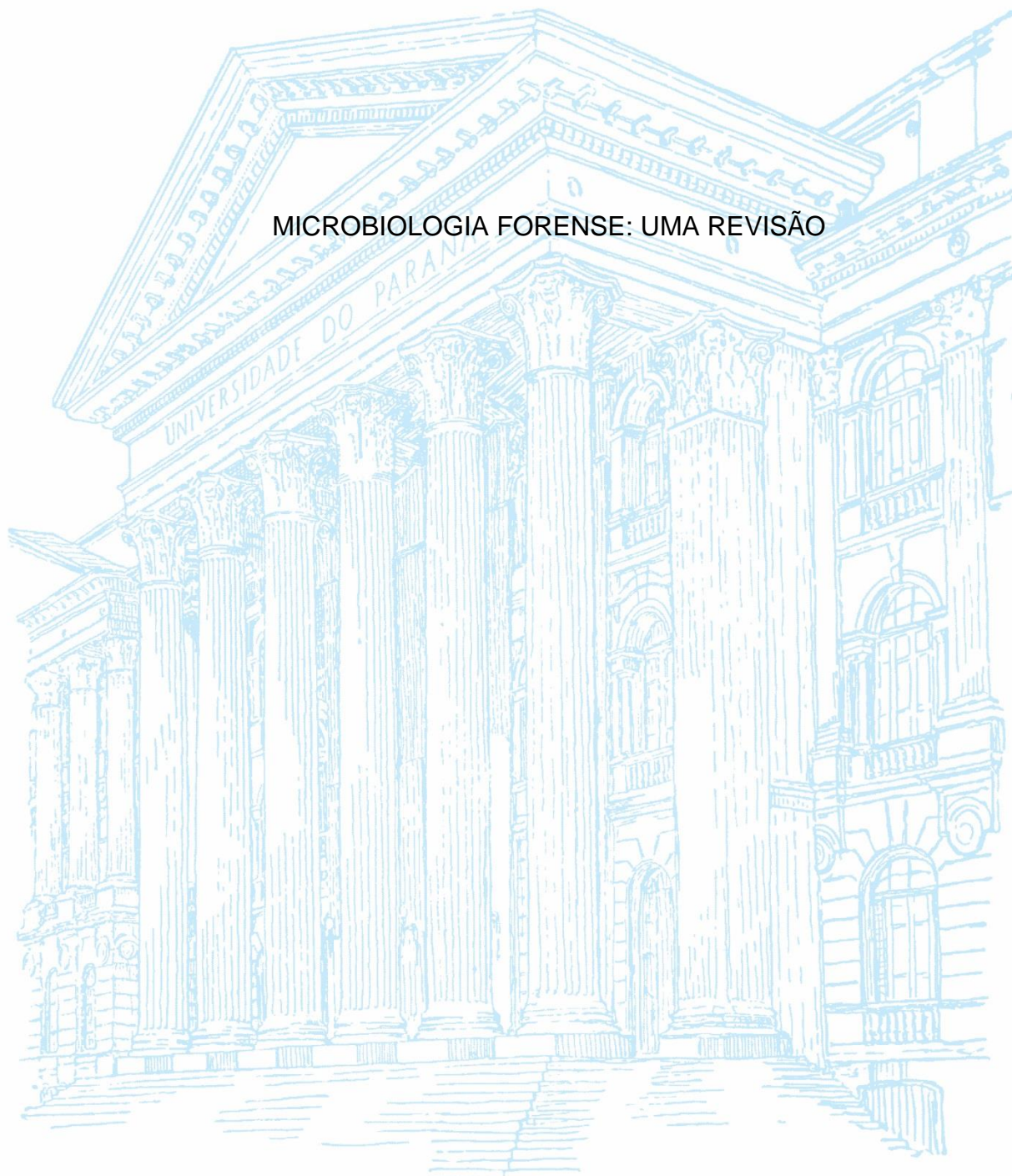


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DÉBORAH ALINE DINIZ WEÇOSKI

MICROBIOLOGIA FORENSE: UMA REVISÃO



CURITIBA

2020

DÉBORAH ALINE DINIZ WEÇOSKI

MICROBIOLOGIA FORENSE: UMA REVISÃO

Monografia apresentada no Curso de Ciências Biológicas como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia R. Dalzoto.

CURITIBA

2020

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

DÉBORAH ALINE DINIZ WEÇOSKI

MICROBIOLOGIA FORENSE: UMA REVISÃO

Monografia aprovada como requisito parcial à obtenção do título de graduado em Ciências Biológicas - Bacharelado, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

---

Profa. Dra. Patricia R. Dalzoto (Orientadora) Departamento de Patologia  
Básica - UFPR

---

Profa. Dra. Lucy Ono Departamento de Patologia Básica – UFPR

---

Prof. Dr. Andrey José de Andrade Departamento de Patologia Básica- UFPR

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Patricia R. Dalzoto pela paciência, orientação e suporte durante a realização desse trabalho.

Aos meus amigos Rafael e Odair, pela companhia, suporte nos trabalhos, rolês e todos os demais momentos que passamos juntos.

Aos meus pais, minha irmã Danielle e à minha falecida avó, pelo suporte e apoio.

Ao Silvério, pela ajuda na realização de trabalhos, incontáveis caronas, por toda força e apoio.

A todos os demais que de alguma forma contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal.

E a Deus, por sempre estar comigo.

## RESUMO

A microbiologia forense é um ramo das ciências forenses que está ganhando crescente atenção como ferramenta investigativa. Atuando em conjunto com outras ciências forenses, a microbiologia forense visa à análise e ao estudo de microrganismos que possam fornecer explicações sobre a ocorrência de crimes e servir como evidência em julgamentos. O presente trabalho é composto por uma revisão bibliográfica que buscou analisar a publicação de artigos sobre microbiologia forense dos últimos 20 anos (2000-2020), realizando uma compilação de dados do número de artigos publicados, assim como as novas descobertas e casos envolvendo a microbiologia forense no desenvolvimento de investigações. Além disso, foi produzido um manuscrito de revisão sobre o tema. Foi realizada pesquisa bibliográfica no banco de dados Google scholar. O material encontrado foi separado pelos tópicos principais: bactérias, fungos e vírus. O resultado da pesquisa mostrou o crescente interesse de pesquisadores pelo mundo acerca da utilização de microrganismos em casos como causa de morte, intervalo de morte, bioterrorismo, intoxicação, investigações sobre infecções acidentais e deliberadas, entre outros. Foram utilizados 51 artigos, sendo 36 em inglês e 15 em português. Os artigos utilizados são de origem brasileira, americana, britânica, italiana, portuguesa, australiana, japonesa, espanhola, argentina, neozelandesa, coreana, finlandesa, norueguesa, indiana e alemã. São necessários mais estudos para fornecer uma base sólida de evidências que possam ter aprovação ampla e confiável, e serem utilizadas como prova em julgamentos. O manuscrito produzido será submetido para publicação na Revista Brasileira de Criminalística.

Palavras-chave: investigação, bactéria, fungos, vírus.

## **ABSTRACT**

Forensic microbiology is a branch of forensic science that is gaining increasing attention as an investigative tool. Acting in conjunction with other forensic sciences, forensic microbiology aims at the analysis and study of microorganisms that can provide explanations about the occurrence of crimes and serve as evidence in trials. The present work is composed of a bibliographic review that sought to analyze the publication of articles on forensic microbiology over the last 20 years (2000-2020), carrying out a compilation of data on the number of articles published, as well as new discoveries and cases involving forensic microbiology in the development of investigations. In addition, a review manuscript was produced on the topic. A bibliographic search was carried out on the Google scholar database. The material found was separated by the main topics: bacteria, fungi and viruses. The result of the research showed the growing interest of researchers around the world about the use of microorganisms in cases such as cause of death, death interval, bioterrorism, intoxication, investigations on accidental and deliberate infections, among others. 51 articles were used, 36 in English and 15 in Portuguese. The articles used are of Brazilian, American, British, Italian, Portuguese, Australian, Japanese, Spanish, Argentinian, New Zealand, Korean, Finnish, Norwegian, Indian and German origin. Further studies are needed to provide a solid foundation of evidence that can have broad and reliable approval, and be used as evidence in trials. The manuscript produced will be submitted for publication in the *Revista Brasileira de Criminalística*.

**Keywords:** investigation, bacteria, fungi, virus.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – ARTIGOS PUBLICADOS ENTRE 2000-2020.....	33
FIGURA 2 – RELAÇÃO DE ARTIGOS EM LÍNGUA INGLESA E PORTUGUESA ...	34
FIGURA 3 – RELAÇÃO DE ARTIGOS SOBRE BACTÉRIAS, FUNGOS E VÍRUS ..	34
FIGURA 4 – OUTROS ARTIGOS ANALISADOS.....	35

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	9
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	11
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	12
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	13
4.1. REVISÃO DA LITERATURA .....	13
4.1.1. CIÊNCIA FORENSE.....	13
4.1.2. HISTÓRICO DA CIÊNCIA FORENSE.....	13
4.1.3. EXEMPLOS DE ESTUDOS NA ÁREA FORENSE .....	15
4.1.4. MICROBIOLOGIA FORENSE .....	16
4.1.5. BACTÉRIAS .....	17
4.1.6. FUNGOS .....	24
4.1.7. VÍRUS .....	28
<b>5. A ANÁLISE DO DNA NA MICROBIOLOGIA FORENSE</b> .....	31
<b>6. PANORAMA DOS ARTIGOS ANALISADOS</b> .....	33
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	36
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	37
<b>APÊNDICE 1 – ARTIGO DE REVISÃO PRODUZIDO PARA SER SUBMETIDO AO PERIÓDICO REVISTA BRASILEIRA DE CRIMINALÍSTICA</b> .....	41



## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Entre as ciências que possibilitam a análise de vestígios e fazem parte de investigações forenses, a biologia tem contribuído por meio de diferentes áreas. A entomologia forense, campo de estudo de insetos para fins legais, serve como uma ferramenta auxiliar dos peritos criminais para a determinação de características de cadáveres, circunstâncias em que uma morte ocorreu e até mesmo a hora da morte, a partir da análise de insetos que colonizam carcaças (CRISÓSTOMO et al., 2012). Também serve para determinar o local do crime, pois os táxons que influenciam na decomposição de um cadáver podem variar, apresentando uma composição diferente que depende da localidade. As espécies presentes no cadáver associadas a um tipo de habitat podem ser diferentes das encontradas em outro habitat, apontando para a mudança na localização de um corpo (JOSEPH et al., 2011).

Exames toxicológicos também podem ser realizados em insetos, no campo chamado entomotoxicologia, para aumentar a precisão na estimativa de morte, sendo a toxicologia também parte das investigações que visam a análise de substâncias químicas que interagem com sistemas vivos e as reações decorrentes de processos químicos (DOS SANTOS, 2018). A análise de DNA de resíduos encontrados em um local de crime possibilita a identificação do autor do ato ou da vítima, e segundo um dos princípios fundamentais da ciência forense, o Princípio de Locard, “cada contato deixa um rastro” (CALAZANS; CALAZANS, 2005).

Além da genética forense e seu importante papel na análise de DNA e da entomologia, outra área da biologia forense é a botânica. A análise de resíduos e fragmentos de plantas, pólen e compostos químicos podem ajudar na solução de casos sob investigação, tais como homicídios, mortes acidentais, esclarecimentos sobre o local de crime e até a hora da morte através da análise de vestígios vegetais (COYLE et al, 2005). Já a toxicologia forense, área da biologia forense que lida com a análise de agentes tóxicos e sua interação com sistemas vivos, é utilizada em investigações na detecção e quantificação de substâncias encontradas em fluidos biológicos que podem auxiliar na solução de crimes (ALVES, 2005). A histologia forense, o estudo de tecidos para avaliar as possíveis causas de morte também está inclusa dentro da biologia forense (MADEA, 2011), assim como a hematologia forense e seus estudos de manchas de sangue (GOMES, 2019).

A microbiologia forense é um ramo relativamente novo da biologia e tem sido alvo de interesse crescente por parte de pesquisadores que buscam aumentar os meios de reconhecimento de provas e investigação de crimes (LEHMAN, 2014).

Por meio de novas tecnologias, como o sequenciamento paralelo maciço de DNA (OLIVEIRA; AMORIN, 2018), e outras técnicas moleculares como o PCR (SPAGNOLO et al, 2018), a microbiologia forense pode fornecer importantes informações sobre crimes, auxiliando a clarificar a análise das provas.

Através do crescente avanço nos estudos de microrganismos é possível agora que a microbiologia forense auxilie na análise de evidências criminais para a identificação de causas de morte, identificação humana, geolocalização e nas estimativas de intervalo pós-morte, tudo a partir da análise de fungos, vírus e bactérias (OLIVEIRA; AMORIN, 2018). Para determinar a causa de morte como afogamento, por exemplo, o estudo de microrganismos presentes na água e em diferentes partes do cadáver pode auxiliar na investigação, uma vez que em casos de afogamento é difícil determinar a causa da morte e esta muitas vezes é feita através da exclusão de outras causas nos exames realizados por patologistas. A microbiologia forense pode ser útil neste caso, fazendo uso de análises para determinar a presença de coliformes fecais e estreptococos, que se presentes na água em que ocorreu o afogamento podem ser aspiradas e entrar na circulação, podendo ir parar em vários tecidos do corpo (LEHMAN, 2014).

A partir do exposto, o presente trabalho tem como intuito realizar uma revisão de artigos nacionais e internacionais de diferentes áreas da microbiologia forense, criando, assim, um panorama do que já foi produzido e do que ainda é possível realizar dentro desse ramo de investigação criminal, nos últimos 20 anos (2000 – 2020).

Compilando estas informações, foi produzido um manuscrito científico evidenciando a importância da microbiologia forense.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é realizar uma extensa revisão bibliográfica sobre microbiologia forense, contemplando o período entre os anos 2000 a 2020.

Os objetivos específicos são: (1) compilar dados sobre número de artigos publicados por ano; número de artigos em português e em inglês; quantificar artigos sobre bactérias, fungos e vírus, (2) evidenciar a importância da Microbiologia Forense e as perspectivas futuras na área, e (3) produzir um manuscrito de revisão a ser submetido em periódico da área.

### 3. METODOLOGIA

Optou-se no presente trabalho pela utilização da revisão narrativa como meio para identificação e descrição dos estudos já realizados sobre microbiologia forense. A revisão narrativa é um tipo de estudo apropriado para descrever e discutir o desenvolvimento de determinado assunto a partir do ponto de vista teórico (ROTHER, 2007).

Por meio da utilização de banco de dados e busca por artigos pertinentes, a pesquisa bibliográfica faz o levantamento de teorias já analisadas, recolhendo informações e conhecimentos prévios sobre o tema (FONSECA, 2002). Neste trabalho foram utilizados artigos experimentais e de revisão.

Para a escolha de artigos já produzidos sobre o tema foi realizada uma busca no banco de dados Google scholar. As seguintes palavras chaves foram utilizadas: “forensic microbiology”, “forensic microbiology and bacteria”, “forensic microbiology and fungi”, “forensic microbiology and virus”, “microbiologia forense”, “microbiologia forense e bactéria”, “microbiologia forense e fungos”, “microbiologia forense e vírus”.

A partir da busca dos termos foi realizada uma leitura breve dos artigos encontrados, leitura do resumo e introdução dos artigos, e foram criados os seguintes critérios de inclusão para os materiais selecionados: artigos científicos pertinentes que foram publicados dentro do período de 2000-2020; sendo estes nacionais e internacionais. Foram descartados aqueles artigos que não estavam em língua portuguesa ou inglesa, os que se encontravam fora da data delimitada, artigos que não estivessem disponíveis online e os que não apresentavam clareza a respeito do método de pesquisa utilizado.

A seleção do material utilizado foi realizada após a leitura breve dos artigos encontrados e foi feita a escolha dos artigos mais condizentes com o tema aqui proposto. Os temas principais foram separados em categorias, como os aspectos mais importantes da ciência forense e da microbiologia forense, a utilização de bactérias, vírus e fungos dentro da microbiologia forense nos últimos 20 anos.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. REVISÃO DA LITERATURA

#### 4.1.1. CIÊNCIA FORENSE

Segundo a definição do dicionário Michaelis (2020), o termo Ciência pode ser caracterizado como “conhecimento sistematizado como campo de estudo; observação e classificação dos fatos inerentes a um determinado grupo de fenômenos e formulação das leis gerais que o regem”, entre outras definições.

A ciência forense, de acordo com Fachone e Velho (2007), relaciona questões de justiça e ciência. Tratando-se de um sistema complexo que é composto por diferentes saberes, a perícia criminal é aquela que tem como finalidade indicar aos operadores do Direito, explicações e provas sobre o que e como uma situação ocorreu. A perícia criminal é uma das responsáveis por dar embasamento para investigações policiais e auxiliar na condenação ou absolvição de um réu, por meio da elaboração científica de fatos e materiais (FACHONE; VELHO, 2007)

O sucesso da avaliação de evidências disponíveis sobre um crime depende da análise correta dos materiais disponíveis na cena do crime ou em posse de um determinado suspeito, e para tal o uso de estatísticas se torna um ponto de apoio na ciência forense, avaliando elementos de incerteza que aparecem durante a investigação (NEVES; ROSADO, 2008).

A ciência forense pode então ser compreendida como um meio para a obtenção de informações por meio do uso de procedimentos científicos, a fim de que as informações encontradas possam ser úteis durante disputas judiciais; a ciência exercida em favor da lei para o esclarecimento de crimes (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

#### 4.1.2. HISTÓRICO DA CIÊNCIA FORENSE

Os primeiros registros acerca da ciência forense datam do século VII, na China, onde já se buscava fazer uso de vestígios e da lógica para a resolução de crimes. Mas somente no século XIII o primeiro compêndio de medicina legal seria produzido pelo

juiz Song Ts'Eu no campo do Direito. No compêndio eram descritas maneiras de identificar sinais de estrangulamento e afogamento, também constava o modo como a análise de ferimentos poderia levar a inferências sobre as armas utilizadas em um crime (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Momentos históricos do início da ciência forense foram a criação das leis por Carlos Magno, primeiro esboço do que seria um laudo pericial; as Decretais do Papa Gregório IX, no século XIII, que indicavam a necessidade de perícia médica em casos de mortes violentas e lesões corporais; o Código Carolíngio de 1532, que estipulou a obrigatoriedade de exames realizados por peritos médicos nos corpos de vítimas de mortes violentas e a seguinte manifestação por escrito sobre os resultados dos exames, estabelecendo, assim, o início do que conhecemos como necropsia e laudo pericial (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Outros movimentos que modificariam a ciência forense para o modo como a conhecemos atualmente ocorreram também na França, Inglaterra e Portugal. Nesse último país, em 1602, a criação da função de peritos separada do órgão judiciário, ainda que auxiliar deste, foi o primórdio do que conhecemos hoje como Instituto de Criminalística, apesar de não ter essa denominação à época (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Entre os séculos XI e XIII surgiram os primeiros métodos e instrumentos forenses, e o aperfeiçoamento de tais técnicas através dos anos tornou possível a investigação de crimes do modo como ocorrem atualmente. Entre os momentos importantes de descobertas que possibilitaram a investigação e análise de vestígio, estão a invenção do microscópio em 1590, por Zacharias Jansen; o trabalho do médico italiano Marcelo Malphigi de 1664, onde tratava sobre o que seria a origem da papiloscopia; o início da produção de armas com almas raiadas e a possibilidade de se estabelecer a relação entre uma arma utilizada e um crime, no século XIX; a invenção da fotografia em 1826 e a primeira coletânea de fotos de criminosos produzida em 1886 por Thomas Byrnes; e a publicação do livro de Mathieu Orfila, em 1815, em que foi feita uma classificação dos venenos mais utilizados em crimes. Mais tarde, seriam produzidos técnicas e instrumentos para auxiliar em investigações, como o assinalamento antropométrico, fotografia judiciária e a criação de manuais para juízes e peritos responsáveis pela investigação e julgamento de crimes (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Após muitos movimentos de transformações nas ferramentas e modos de se investigar um crime, um dos últimos marcos históricos no campo da ciência forense, e talvez um dos mais utilizados atualmente, foi a análise de DNA para a identificação de indivíduos. O primeiro método de análise foi desenvolvido por Alec Jeffreys em meados dos anos 80, e, posteriormente, as técnicas de análise foram aperfeiçoadas para que não somente células nucleadas fossem passíveis de extração de DNA. Atualmente diversos espécimes de material biológico passaram a servir à análise, tais como amostras de sangue, saliva, sêmen, dente, unha, urina e outros fluidos. É papel da biologia molecular, dentro dos laboratórios, a análise das amostras de material biológico recolhido de cenas de crimes, atuando de forma imprescindível na identificação de criminosos e de outros aspectos dentro da investigação (DA SILVA LEITE et al., 2013).

#### 4.1.3. EXEMPLOS DE ESTUDOS NA ÁREA FORENSE

A ciência forense é uma ciência multidisciplinar, podendo muitas vezes promover a interação entre áreas de diferentes ciências para embasar seus achados. O uso de diversas áreas do conhecimento científico pode servir para dar mais força à análise do material encontrado e do tratamento de provas que podem ser utilizadas durante uma investigação criminal. A utilização de conhecimentos e técnicas de diferentes áreas é responsável pela composição de conjuntos de análises que proporcionam o exame de todos os componentes envolvidos na investigação criminal, sendo então, ampla a variedade de ciências que podem contribuir para a perícia na área forense (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Entre as áreas de estudos da ciência forense pode-se encontrar a Química, que atua na análise e classificação de substâncias encontradas em um local de crime; a papiloscopia, responsável pela análise das papilas dérmicas humanas, resultando na identificação de impressões digitais, impressões de poros no datilograma e impressões plantares; a medicina legal; a patologia forense, atuando no estudo de causa de morte em casos de morte não natural e traumas; a antropologia, realizando a identificação de restos mortais e o estabelecimento de sexo, etnia e outros traços importantes a partir da análise de ossos; a psiquiatria forense, estudando comportamentos, desordens psíquicas e aspectos da personalidade de delinquentes;

a odontologia forense que realiza o exame de dentes e próteses dentárias para a identificação de cadáveres; a geologia, no estudo do solo de cenas de crime; a balística no estudo de projéteis e outros aspectos relacionados ao uso de armas de fogo; e a biologia forense, estudando os seres vivos e outros aspectos da natureza, como na entomologia e botânica, relacionando-os com diversos aspectos de uma investigação criminal (CALAZANS; CALAZANS, 2010).

Outras áreas podem contribuir em investigações criminais, como a física e a matemática, somando a áreas que propiciarão os princípios técnicos que norteiam a ciência forense (FOLTRAN; SHIBATTA, 2011).

#### 4.1.4. MICROBIOLOGIA FORENSE

A área da biologia utilizada em investigações forenses tem um importante papel na coleta e análise de vestígios biológicos. A qualidade dos procedimentos utilizados para a coleta de material pode determinar o grau de viabilidade da análise de vestígios, e, por tal motivo, os peritos na área da criminalística devem ter em sua base de formação acadêmica a biologia e a química. É a partir do correto recolhimento e preservação de provas que investigações de homicídios e outros tipos de crimes se tornam possíveis (DUARTE, 2009).

Microbiologistas forenses têm, entre suas diversas funções, a análise de vestígios de evidências para colocar suspeitos ou vítimas nas cenas de crimes, a investigação de crimes de bioterrorismo e determinação de causa e hora de morte. Embora a microbiologia forense já existisse, foram os eventos de bioterrorismo ocorridos nos Estados Unidos em 2001, em que a bactéria *Bacillus anthracis* foi utilizada, que trouxeram essa área da ciência para a linha de frente das investigações criminais (LEHMAN, 2014).

Em situações de biocrime, um microbiologista forense tem a possibilidade de utilizar diferentes métodos para a análise de agentes envolvidos. A análise de “impressões digitais do DNA” de bactérias e vírus tem sido utilizada. Apesar do estudo do DNA de bactérias ser mais difícil do que o de humanos, uma vez que as bactérias se reproduzem rapidamente e primariamente de forma assexuada, resultando em recombinação e transferência horizontal de genes, o uso de DNA de bactérias pode servir como importante evidência em investigações e estabelecer ligações entre o



responsável pelo ataque e a vítima. Foi através do uso de tais métodos que conexões puderam ser estabelecidas entre vítimas e perpetradores de crimes, em casos ocorridos nos Estados Unidos, em que dentistas infectaram pacientes com hepatite e HIV, e em casos de transmissão intencional de HIV-1, levando à condenação subsequente dos responsáveis (LEHMAN, 2014).

A microbiologia forense pode atuar também na determinação de causas de morte, como nas mortes difíceis de serem identificadas, a exemplo de casos de síndrome da morte súbita infantil e afogamentos, através da análise de agentes infecciosos, bactérias e microalgas, como as diatomáceas. Também na determinação da hora da morte, a partir da análise de fungos e outros microrganismos coletados do cadáver ou local de morte (LEHMAN, 2014).

#### 4.1.5. BACTÉRIAS

Um marco importante para a microbiologia forense foram os ataques de bioterrorismo ocorridos em 2001, no qual cartas contendo o bacilo *Bacillus anthracis*, enviadas para senadores americanos e pessoas ligadas à mídia dos Estados Unidos, acarretaram 22 casos de infecção e 5 mortes. O primeiro ataque identificado aconteceu quando um trabalhador da mídia americana foi internado com sintomas como febre, vômitos e confusão mental. O bacilo foi identificado em seu sangue e no líquido cefalorraquidiano. Evidências do bacilo também foram encontradas no teclado utilizado no local de trabalho do indivíduo, levantando suspeitas de terrorismo, principalmente pela ocorrência próxima aos ataques de 11 de Setembro. Equipes de saúde, de segurança e da indústria começaram imediatamente, em um trabalho de equipe, o reconhecimento de evidências (KEIM et al., 2011).

A investigação forense do caso das cartas contaminadas fez uso de variadas abordagens, entre elas as análises física, química e molecular. A investigação dependeu fortemente das análises genéticas e genômica comparativa. A análise de DNA para identificação microbiana não era novidade em 2001, porém, as tecnologias utilizadas na época eram ainda incipientes, trabalhosas, caras e demoradas. Outros fatores que estavam presentes na investigação e poderiam ser possíveis complicadores para a análise de evidências era o vasto número de microrganismos e as rápidas mutações pelas quais esses organismos passam, levando a incertezas a

respeito do seu uso em investigações. Para solucionar o caso, o trabalho da perícia microbiana e da investigação da polícia tradicional foi indispensável (KEIM et al., 2011).

O *B. anthracis* é um patógeno que está presente em todo o mundo, mas é altamente homogêneo geneticamente. O caso de bioterrorismo envolvendo o *B. anthracis* foi o que levou ao desenvolvimento do VNTR (variable number tandem repeat ou repetição em tandem de número variável), (KEIM et al., 2011).

Anthrax é a doença causada pelo *B. anthracis*, e seus esporos são resistentes à desidratação, calor, radiação ultravioleta e alguns desinfetantes, permanecendo viáveis no solo por muitos anos. A doença geralmente se desenvolve em animais selvagens e tem pouca ocorrência em seres humanos. Os quadros clínicos causados pela doença são cutâneos, gastrointestinais e pulmonares, apresentando uma alta taxa de mortalidade nos últimos dois casos (CARDOSO; VIEIRA, 2015).

O pó de antraz utilizado nos ataques foi avaliado, e 29 laboratórios governamentais, universitários e comerciais foram investigados. As técnicas de análise envolveram microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, microscopia ótica, dispersão de raio x, cromatografia gasosa, espectrometria de massa e isótopos. Os resultados mostraram que os esporos de *B. anthracis* usados eram inconsistentes com os produzidos por programas para servirem como armas biológicas patrocinados pelo Estado, e a concentração de esporos era extremamente elevada e de alta pureza, indicando que teria sido feito em laboratório e o suspeito deveria ser uma pessoa bastante especializada. O antraz usado foi identificado como sendo da linhagem Ames. Análises de sequenciamento genético foram feitas usando o isolado Ames original para comparação com o material de evidência, e 4 mutações foram encontradas. Após a análise do material, observação das mutações do bacilo e do trabalho conjunto com diversos setores de investigação americana, as cartas foram traçadas até o cientista Edwards Bruce Ivens, que mantinha os esporos derivados da linhagem Ames e foi considerado o responsável pelos ataques (U.S. DEPARTMENT OF JUSTICE, 2010).

Um novo campo de atuação proporcionado pela microbiologia forense é o estudo da composição da comunidade de bactérias associadas à pele que são deixadas em objetos após o contato, para fins forenses.

Em um estudo de 2010, realizado por Fierer et al., foi levantada a hipótese de que o padrão bacteriano individual pudesse servir como um tipo de impressão digital

na investigação forense. A partir disso, foi desenvolvido um estudo que visou à análise comparativa de culturas de bactérias encontradas em teclados e *mouses* de computador de uso pessoal e as comunidades de bactérias encontradas na palma da mão de seus respectivos donos. Foi demonstrado que as culturas de bactérias pertencentes aos donos dos respectivos teclados eram substancialmente mais similares do que as amostras coletadas de teclados diversos. As semelhanças entre as culturas de bactérias do teclado, *mouse* e da palma da mão do indivíduo a quem o teclado pertencia sugere a transferência entre pele e objeto, e tais culturas podem servir como um tipo de impressão digital (FIERER et al., 2010).

Outro estudo que ressaltou a interação entre o microbioma humano, e os resquícios deste, deixados em objetos, foi realizado por Lax et al., (2015). No referido estudo, foram comparadas amostras de culturas de bactérias retiradas de telefones celulares e solas de sapatos de participantes, com o intuito de demonstrar a possível ligação entre a sola de sapato e o chão que esses indivíduos haviam caminhado, assim como a relação entre o microbioma pessoal dos participantes e os resquícios deixados em seus respectivos telefones celulares (LAX et al., 2015).

Tendo sido recolhidas amostras de telefones celulares, sapatos, do chão e dos participantes, dois métodos diferentes foram realizados para a análise e comparação das amostras. Os resultados encontrados permitiram inferir que as colônias de bactérias encontradas nos telefones celulares podem ser relacionadas aos seus respectivos donos. Porém, os resultados encontrados na análise de bactérias retiradas de sapatos e dos locais onde os indivíduos tinham pisado se mostraram insuficientes para produzir relações, devido à influência sofrida pelas trocas rápidas de bactérias que acontecem com as superfícies (LAX et al., 2015).

A relação entre o microbioma humano e sua presença reconhecível em sapatos também foi objeto de pesquisa de Goga (2012), em um estudo que buscou a relação entre as bactérias da sola do pé e da parte interna de sapatos. Uma vez que as amostras de DNA encontradas em ambos podem estar degradadas e não serem suficientes para uma ligação eficiente, que aponte a relação entre o dono do sapato e o objeto, o estudo buscou analisar, então, se as características do DNA bacteriano de um indivíduo poderiam ser utilizadas para determinar uma ligação efetiva em uma investigação (GOGA, 2012).

Para o estudo foram utilizados 14 pares de sapatos de 14 voluntários diferentes, e amostras foram recolhidas dos voluntários e dos objetos. Os resultados

apontaram para uma maior similaridade entre o DNA bacteriano dos donos dos respectivos sapatos e os mesmos. Mesmo as diferenças entre pé esquerdo e pé direito ainda se mostravam menos significativas do que as diferenças com os outros integrantes do estudo e seus sapatos. No geral os resultados 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, por exemplo, entretanto, há uma flutuação considerável no grau de semelhanças, pois o sapato direito pode ser corretamente ligado com o pé direito do dono do sapato, comparado com perfis bacterianos de outros sujeitos. Entretanto, o interior dos sapatos esquerdos mostrou uma similaridade significante entre o pé do dono do sapato e o sapato, com perfis bacterianos da sola do pé de outros sujeitos. Tal problemática, segundo o estudo, pode ser devida a uma possível contaminação dos sapatos com outras bactérias presentes no chão, quando os indivíduos tiram os sapatos em casa, sendo que o andar pode causar a contaminação com outras bactérias do ambiente. Outros fatores possíveis apontados foram a transferência de bactérias de outras pessoas, quando os indivíduos andam descalços, carregando assim essas bactérias em seus pés e sapatos, infecções microbianas e o método de análise bacteriano utilizado (GOGA, 2012).

A relação entre o DNA bacteriano de um indivíduo e os resquícios deixados em superfícies tocadas pelo mesmo indivíduo também foi demonstrada por Lee et al. (2016). Em estudo realizado para determinar se era possível estabelecer ligação entre sujeito-objeto através da análise de DNA bacteriano deixado em peças de roupa, tecidos como algodão 100%, algodão 55% e poliéster 45%, e 100% poliéster foram utilizados. Voluntários agarraram firmemente as amostras de tecido e DNA bacteriano foi retirado dos tecidos, da palma da mão e da ponta dos dedos dos participantes da pesquisa. Os microrganismos encontrados nas amostras de cada voluntário diferiram significativamente entre eles, e apesar do estudo dever ser considerado com cautela devido ao baixo número de participantes e amostras, foi possível confirmar a relação entre as bactérias presentes nas mãos de cada voluntário e dos tecidos analisados (LEE et al., 2016).

Durante séculos a utilização de fios de cabelos em investigações limitou-se a comparações entre a cor do fio de cabelo e pigmentação. Foi somente na metade dos anos 80 que a técnica PCR – *polymerase chain reaction*- proporcionou uma mudança importante na análise de fios de cabelo, contribuindo com o estudo de DNA realizados

nos fios. Contudo, a realização da análise do fio só poderia se dar com fios de cabelos que estivessem em sua fase anágena, fase na qual são ricos em DNA nuclear (TRIDICO et al., 2014). Uma alternativa de investigação favorecida pela análise metagenômica, abordagem independente de cultura bacteriana, é a impressão digital microbiana que pode ser coletada dos fios (PARKHILL, 2013; TRIDICO et al., 2014).

Sendo uma das evidências mais presentes em cenas de crimes, Tridico et al. (2014) realizaram um estudo visando determinar o possível uso da análise de bactérias presentes em fios de cabelo para fins forenses. Amostras de fios do couro cabeludo e pelos pubianos foram coletadas de sete voluntários, dois dos quais eram um casal, em três meses diferentes. Os resultados demonstraram a relação de diferentes tipos de bactérias em diferentes partes do corpo, sendo que não foram notadas dessemelhanças significativas entre sexos no que tange às amostras de fios retirados do couro cabeludo. Já a partir das amostras de pelos pubianos é 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 (TRIDICO et al., 2014).

Outro tipo de análise que tem se mostrado importante nos meios de investigação criminal é a análise bacteriana de fluidos, como no caso de secreção vaginal e saliva (GIAMPAOLI, 2014).

Atualmente o número de casos de abuso sexual e estupro que foram realizados com o uso de camisinha ou luvas cresceram, dificultando, assim, o recolhimento de material biológico do perpetrador do crime, na vítima. Uma medida encontrada, então, é a de recolher e identificar fluidos da vítima em pertences do suspeito (GIAMPAOLI, 2014).

Para que sejam recolhidas amostras de material biológico relevantes na investigação de crimes é importante lembrar que a natureza das manchas encontradas e o contexto da cena do crime devem ser considerados (VIRKLER; LEDNEV, 2009). Sendo a identificação de fluidos vaginais, muitas vezes, uma necessidade dentro de investigações criminais, um estudo de Giampaoli et al. (2014) buscou observar a eficácia do ForFLUID kit na identificação de tais fluidos. Amostras homogêneas de fluidos vaginais foram distribuídas para diferentes institutos de biologia forense para a análise e identificação de DNA bacteriano presentes, que pudessem ser caracterizadas como sendo de fluidos vaginais, uma vez que diferentes partes do corpo humano possuem diferentes tipos de bactérias. Os resultados obtidos

no estudo permitem considerar o kit como uma ferramenta confiável em investigações criminais, e assim, abrir a possibilidade de se obter um protocolo confiável para a análise forense de fluidos (GIAMPAOLI et al., 2014).

A importância da análise de fluidos para investigações forenses também foi observada por Fleming e Harbison (2010). Buscando um método confiável para a identificação de fluidos vaginais, o principal objeto de estudo foram as bactérias pertencentes ao grupo dos lactobacilos, sendo que o *L. crispatus* e o *L. gasseri*, bactérias predominantes na genitália feminina, foram os objetos de maior atenção no estudo. Para tal, o estudo contou com voluntárias que forneceram amostras de secreções vaginais que ficaram em temperatura ambiente por, pelo menos, uma noite. A partir de tais 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 das bactérias *L. crispatus* e *L. gasseri* foram identificadas nas secreções vaginais e no sangue menstrual utilizados no estudo, não aparecendo em outros fluidos supracitados. Tais resultados permitem considerar a análise de bactérias como um método promissor na identificação e secreções vaginais (FLEMING; HARBISON, 2010).

A microbiologia forense é também utilizada na estimativa de intervalo de morte e na identificação de agentes infecciosos em procedimentos *post mortem*, sendo uma das maneiras de confirmar ou descartar a causa de morte. O uso de calendários tanatológicos tem sido realizado como um dos meios para a estimativa de intervalo de morte. Durante a perícia são observados fatores como o *rigor mortis* (rigidez cadavérica), *livor mortis* (manchas de hipóstase) e outras alterações presentes nos cadáveres. Duas dessas alterações, a distensão gasosa e a fauna cadavérica, funcionam como marcadores biológicos do processo de degradação cadavérica e envolvem a atuação de microrganismos (MOREIRA FILHO, 2008).

A identificação da causa de morte envolvendo microrganismos pode ser difícil de ser realizada mediante autópsia, por falta de informação *ante mortem*. As mudanças que ocorrem no corpo após a morte dificultam a identificação e separação de microrganismos que podem ser a causa de morte, microrganismos comuns à microbiota que se tornam fonte de patologias quando estão em circunstâncias propícias, e os microrganismos que podem contaminar o cadáver antes ou durante a autópsia (CHRISTOFFERSEN, 2015).

Métodos como a cultura de bactérias em placas de ágar e a PCR (*polymerase chain reaction*), são utilizados para tais fins e demonstram bons resultados na identificação de bactérias (CHRISTOFFERSEN, 2015).

Apesar de não haver consenso entre pesquisadores sobre local no corpo de onde é possível retirar a melhor amostra para a identificação e análise da presença de bactérias no sangue, visando compreender se a infecção se deu antes ou após a morte, a coleta de sangue deve ser feita em dois locais diferentes (CHRISTOFFERSEN, 2015). Estudos mais antigos de Lobmaier et al (2009) sugerem que as amostras sejam retiradas do sangue, pulmões, baço ou do fluído cérebro espinhal. Já Tuomisto et al. (2013) sugerem a retirada, em até cinco dias após a morte, de amostras do fígado e do pericárdio (CHRISTOFFERSEN, 2015).

Algumas considerações devem ser feitas sobre a cultura de bactérias das amostras recolhidas. Diferentes fatores podem levar à presença de bactérias nas amostras, tais como a invasão durante a vida, o que pode atestar a causa de morte por infecção; a propagação agonal, na qual seria possível que bactérias invadissem uma superfície do corpo durante procedimentos de ressuscitação ou então por problemas na circulação sanguínea; a translocação pós-morte, na qual bactérias que estão presentes naturalmente no corpo podem atravessar as barreiras das mucosas e causar a proliferação de diferentes bactérias; e contaminação, a qual poderia ocorrer durante a retirada das amostras (CHRISTOFFERSEN, 2015).

Colocados os possíveis entraves no processo de identificação de bactérias que estariam presentes antes ou após a morte, grande parte dos estudos realizados para compreender como tais fatores podem atrapalhar na identificação de microrganismos como causa de morte, apontam para a segurança dos achados acerca de microrganismos em autópsias, desde que o corpo tenha sido devidamente refrigerado e não se trate de autópsias de crianças menores de 2 anos, pois como várias bactérias são possíveis patógenos, a infecção não pode ser totalmente descartada devido ao fato de que um sistema imunológico que ainda não é totalmente desenvolvido pode ser responsável pela falta de resposta inflamatória e aumento dos valores de proteína c-reativa. De modo geral devem ser observados os níveis de proteína c-reativa, uma lista de microrganismos que podem ser considerados patógenos oportunistas quando há alguma doença subjacente, histologia e problemas relacionados à imunidade. Apesar de alguns microrganismos como *Escherichia coli* e *Candida albicans* fazerem parte da nossa microbiota e poderem se tornar patogênicos em circunstâncias

específicas, uma lista completa de patógenos verdadeiros não é possível de ser concluída, sendo recomendado procurar literatura para cada tipo de microrganismo encontrado, uma vez que as outras informações citadas anteriormente tenham sido consideradas (CHRISTOFFERSEN, 2015).

#### 4.1.6. FUNGOS

O estudo de fungos em investigações forenses, a micologia forense, ainda é uma área que possui pouca literatura disponível, sendo então os estudos publicados até o momento uma base para futuras investigações sobre suas possíveis contribuições para as ciências forenses. A análise de fungos pode ser utilizada para a estimativa do tempo de morte, tempo de decomposição, no fornecimento de evidências residuais e na determinação de causa de morte em casos de intoxicações (BARBOSA et al., 2012).

A utilização da análise de fungos para o estabelecimento do intervalo *post mortem* tem sido a maior contribuição do estudo de fungos na área forense. 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 *post mortem*. A sucessão do crescimento fúngico e o uso de nitrogênio permitem estabelecer uma estimativa do intervalo. Ainda são necessários mais estudos para estabelecer uma base confiável de fungos, sua presença nos estágios de decomposição cadavérica e a interação com o tipo de ambiente onde se encontram, mas segundo Tibbett e Carter (2003), fungos de grupos como os Zygomycetos, Ascomycetos e mitosporicos, de frutificação precoce, e os Basidiomycetos, de frutificação tardia, são destacados para a análise de decomposição. Grupos de fungos que formam corpos de frutificação em condições naturais após a decomposição cadavérica podem ser chamados de fungos *post putrefaction*, enquanto fungos que formam corpos de frutificação no solo após tratamento com amônia são os chamados fungos ammonia (BARBOSA et al, 2012).

Um exemplo da análise de fungos em investigações para o estabelecimento do intervalo de morte vem de Voorde e Van Dijck (1982), onde fungos encontrados no corpo de uma baronesa assassinada foram isolados e incubados a fim de reproduzir o ambiente exato no qual o cadáver foi encontrado. Através da análise do crescimento



dos fungos foi possível estabelecer o intervalo de tempo de 18 dias da ocorrência do crime até a descoberta do corpo, informação posteriormente confirmada quando o responsável pelo crime foi descoberto (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011).

Outro caso semelhante, citado por Lehman (2014), é o da investigação de um corpo encontrado com múltiplas marcas de esfaqueamento em um apartamento fechado, o que impediu a entrada de moscas. Os cientistas forenses no caso notaram a presença de fungos nas manchas de sangue no carpete onde o corpo estava. Uma parte do carpete sem manchas de sangue foi removido pela equipe forense e foi mantido em laboratório sob condições de umidade e temperatura semelhantes ao do apartamento onde ocorreu o crime, após ser manchado de sangue bovino. As colônias de *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium citrinum* e *Mucor plumbeus* encontradas na cena do crime foram comparadas com as resultantes do carpete mantido em laboratório, o que possibilitou a estimativa do tempo de morte em 5 dias. A estimativa foi confirmada quando o suspeito de ter cometido o crime confessou (LEHMAN, 2014).

Em uma análise de fungos realizada em 1996, os fungos identificados como *Penicillium* e *Mucor* foram coletados do corpo de uma mulher morta em seu apartamento, e estudados em ambientes artificiais por 28 dias. Esse tempo permitiu estabelecer o intervalo de morte da vítima e contribuir para a condenação do assassino. Em mais uma contribuição para a área forense, a análise de fungos em restos de comida deixadas em um apartamento pôde ser utilizada para delimitar o intervalo de tempo em que crianças foram deixadas sozinhas em um apartamento pela mãe, que acabou sendo acusada da morte de um dos filhos por negligência (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2015).

Um caso no qual uma vítima de estupro afirmava ter sofrido abuso sexual próximo a determinadas árvores, enquanto o suspeito afirmava ter tido relações sexuais consensuais com a vítima em um parque a 200 metros de distância, foi esclarecido com a comparação dos fungos característicos de madeira e folhas mortas encontrados nas roupas e sapatos da vítima e do suspeito. Apesar da proximidade entre os locais, a análise dos fungos se mostrou significativa o bastante para corroborar a denúncia da vítima. Confrontado com as evidências, o suspeito confessou (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011).

Em Dundee, na Escócia, o corpo de uma mulher que fora estuprada e morta, foi cremado antes que um micologista pudesse examiná-lo. Porém, com as anotações realizadas sobre o estado do corpo e do crescimento extensivo de fungos que o corpo

da mulher apresentava, foi possível estimar que a mulher estivera no local por pelo menos duas semanas e, somado ao pólen encontrado e esporos de fungos, estabeleceu-se uma ligação também com o suspeito e o local onde o corpo foi encontrado. Outras evidências, como a filmagem de câmeras com os envolvidos e uma extensa ficha criminal, acabou acarretando na condenação do suspeito (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2015).

No Japão, o corpo de um homem de aproximadamente 71 anos foi encontrado em um poço aberto, sua face coberta com colônias de fungos brancos. A identificação dos fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus terreus* ajudaram a corroborar a estimativa do tempo de morte, pois o homem havia sido visto pela última vez doze dias antes de ser encontrado (HITOSUGI et al., 2006).

Em estudo realizado no Ceará, Brasil, com a coleta de amostras retiradas de 60 cadáveres em diferentes estágios de decomposição (período gasoso: caracterizado pelo acúmulo de gases no corpo que cria um enfisema putrefativo, com bolhas epidérmicas de conteúdo hemoglobínico; período coliquativo: é caracterizado pela dissolução das partes moles do cadáver, reduzido pela desintegração dos tecidos; e período de esqueletização: onde o corpo encontra-se composto completamente por ossos, presos apenas por ligamentos articulares e vestes), os resultados de isolamento de fungos mitospóricos mostraram a prevalência da forma filamentosa nos períodos gasoso e de esqueletização, e de leveduras no período coliquativo. No que diz respeito às ordens fúngicas avaliadas, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, da ordem Eurotiales, apareceram nos períodos gasoso e de esqueletização. De modo geral, os resultados encontrados nas amostras apontam para a prevalência dos gêneros *Aspergillus* e *Candida* no período gasoso, *Candida* sp. no período coliquativo, e *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. e *Mucor* spp. no período de esqueletização (MOREIRA FILHO, 2008).

Em estudo realizado por Goebel et al. (2013), a análise de fungos na decomposição cadavérica de suínos durante o verão resultou na predominância dos fungos *Candida* spp. e *Penicillium* spp.

Apesar dos bons resultados demonstrados em diversas investigações, os métodos para a análise de fungos utilizados como evidência ainda não são robustos o suficiente para terem ampla aceitação em tribunais de justiça (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011).

Sendo os fungos em cadáveres passíveis de serem reconhecidos como causa de morte e possibilitando estabelecer o intervalo de morte, Schwarz et al. (2015) realizam a análise de 23 cadáveres em diferentes estados de putrefação para tentar identificar algumas das espécies fúngicas presentes e seu potencial infeccioso para os indivíduos que realizam as autópsias. Dentre as espécies identificadas, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* estavam entre os fungos que podem causar complicações de saúde para os analistas em caso de contaminação, principalmente para aqueles que possuem doenças subjacentes, como problemas pulmonares e diabetes mellitus. Os autores colocam ainda a importância dos equipamentos para a realização de autópsias, e que mesmo com as diferenças entre países, todas as autópsias deveriam incluir luvas de dupla camada, com uma camada interposta à prova de corte, vestimenta impermeável e máscaras faciais para impedir a contaminação pelo ar (SCHWARZ et al., 2015).

A análise de fungos psicotrópicos e tóxicos é uma importante área nos estudos forenses que está em crescimento, pois o número de fungos identificados que podem se mostrar maléficos para o ser humano vem aumentando. Em um caso onde um homem faleceu quatro dias após ingerir o chá de Ayahuasca, feito a partir de uma infusão de plantas que geralmente contém *Psychotria viridis* e *Banisteriopsis caapi*, foi possível determinar através da análise dos conteúdos de estômago, íleo e cólon que o indivíduo teria ingerido também *Psilocybe semilanceata*, além de outras drogas, o que possibilitou estabelecer a causa da morte e fez com que o xamã da cerimônia não fosse acusado de homicídio culposo (WILTSHIRE; HAWKSWORTH; EDWARDS, 2015).

A análise fisiológica de fungos pode também ser utilizada para a localização de túmulos e para a estimativa do tempo decorrido desde o enterro de cadáveres (TIBBETT; CARTER, 2003). Sendo alguns fungos causadores de doenças, além de causas de morte, análises forenses de fungos que colonizam construções também devem ser consideradas (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2015).

O uso do solo como traço de evidência e como meio de identificar locais onde restos humanos foram enterrados, tem ganhado espaço ao lado da entomologia nas investigações criminais (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2015). Os fungos encontrados no solo podem servir como lápides acima do solo, segundo Tranchida et al. (2014), e seu estudo no solo onde restos humanos foram encontrados apontaram, assim como estudos anteriores, a presença de fungos amônia e os chamados fungos

*postputrefaction*. Chimutsa et al. (2015), em estudo utilizando a carcaça de um suíno enterrada para realização de análise do solo, encontraram maior diversidade de fungos presentes no solo no período gasoso de decomposição, seguido de um menor número encontrado no período de apodrecimento, causado pela maior competição microbiana e de outros insetos (CHIMUTSA et al., 2015).

#### 4.1.7. VÍRUS

Em situações de biocrime, ação na qual uma pessoa ou um grupo de pessoas causa danos intencionais a outra determinada pessoa ou grupo, o estabelecimento da relação entre o agente infeccioso e a amostra individual retirada da vítima deve provar uma associação entre ambos, o que demonstra que a análise molecular do genoma é de extrema importância. O microbiologista forense pode escolher entre diferentes métodos para a análise de DNA de vírus e bactérias, de acordo com as circunstâncias em que um ataque ocorre. Fluidos corporais e evidências ambientais são recolhidas de suspeitos de bioterrorismo e biocrime, e tais amostras passam então para a análise e estudo filogenético de bactérias e vírus, para então se tornarem evidência durante um julgamento (LEHMAN, 2014).

Casos ocorridos nos Estados Unidos exemplificam o uso de tais técnicas para fins forenses. Em 2012, um cientista de laboratório norte americano foi preso por infectar pacientes com o vírus da hepatite C, deliberadamente. No incidente o cientista, HCV positivo, utilizou seu próprio sangue para contaminar equipamentos e seringas que seriam utilizados em paciente nos hospitais em que trabalhava, 18 no total. Devido ao grande número de hospitais em que o suspeito trabalhava, não foi possível estabelecer um número total de vítimas do biocrime, mas somente no hospital em New Hampshire 32 pacientes foram infectados (LEHMAN, 2014).

Ainda nos Estados Unidos, um dentista entregou voluntariamente sua licença profissional e foi alvo de diversos processos após descobrirem suas práticas insalubres e não estéreis em cirurgias. O dentista possuía 7.000 pacientes, dos quais 4.000 foram testados. Mais de 70 pacientes testaram positivo para vírus da hepatite C, cinco para hepatite B e quatro para HIV (LEHMAN, 2014).

Em Lafayette, em 1994, uma importante investigação ocorreu no caso de um gastroenterologista que deliberadamente infectou sua ex-namorada com uma mistura

contendo o sangue de um paciente seu, que era HIV positivo. Durante uma briga, o gastroenterologista aplicou uma injeção intramuscular em sua então namorada. Juntamente com a colaboração da força policial que conduziu entrevistas com antigos parceiros da vítima e outras buscas, foram realizados exames de sangue da vítima, do paciente e de amostras de sangue de uma população local, HIV positiva. A utilização da PCR e a transcriptase reversa do HIV isoladas da vítima, mostraram que a linhagem do HIV da vítima era a que estava mais intimamente ligada ao paciente, apontando para a direção da transmissão do paciente para a vítima. O caso levou à condenação do gastroenterologista por tentativa de homicídio de segundo grau (METZKER, 2002).

Os coronavírus, nome dado à família que compreende diversos tipos de vírus, vírus zoonóticos que são transmitidos de animais para seres humanos, são considerados patogênicos desde os anos sessenta. O nome dado ao vírus responsável pela pandemia de 2020 resulta da estrutura do vírus quando visto através do microscópio eletrônico, que parece ter uma coroa em sua superfície. Causadores de grande número de mortes em diversas partes do mundo, os coronavírus já foram responsáveis por outros surtos de síndromes respiratórias graves anteriormente, como no caso do SARS-CoV em 2003, e o MERS-CoV em 2013 (FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

A COVID- 2019, causada pelo vírus SARS-CoV-2, provoca sintomas leves na maioria das pessoas, como febre, tosse, e outras manifestações similares a uma gripe comum. Porém, em cerca de 20% dos casos, o desenvolvimento da doença pode avançar e provocar maiores complicações que podem levar a morte, especialmente em pessoas idosas ou com problemas de saúde subjacentes (HANLEY et al., 2020).

O teste para a detecção da COVID-19 é realizado a partir de amostras retiradas da fossa nasal, onde se encontra maior parte da carga viral em comparação a orofaringe. Técnicas de amplificação do ácido nucleico, como a PCR, são geralmente realizadas para o diagnóstico na fase aguda da doença. Testes rápidos também são utilizados e podem fornecer um resultado em dez ou quinze minutos, detectando a presença de anticorpos (FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

A microbiologia forense também tem sido importante para compreender como age o novo coronavírus e suas possíveis consequências para o ser humano. Por se tratar de um novo tipo de infecção, seus mecanismos ainda não são completamente conhecidos, o que faz com o que a realização de autópsias seja imprescindível para

uma melhor compreensão dos efeitos do vírus no corpo humano. Até o momento, sabe-se que o vírus causa não somente sintomas respiratórios, mas também tem efeitos sobre o sistema nervoso (BARRANCO; VENTURA, 2020), e danos ao miocárdio (GONZÁLEZ-ARNAY et al., 2020).

A investigação da origem do vírus também pode ajudar a compreender o surgimento do vírus e o contágio animal-humano. Segundo Andersen et al. (2020), a probabilidade de que o SARS-CoV-2 tenha sido criado em laboratório é muito pequena, uma vez que os estudos acerca das mutações do COVID-19, em comparação com outros vírus já conhecidos, mostra que o genoma do SARS-CoV-2 não teve origem de um vírus já existente, tornando mais provável a teoria de que as mutações ocorridas tenham ocorrido ao acaso (ANDERSEN et al., 2020).

## 5. A ANÁLISE DO DNA NA MICROBIOLOGIA FORENSE

A análise de DNA foi uma das ferramentas forenses que mais revolucionou a realização de investigações e se tornou indispensável ao longo dos anos. É através dela que é possível ligar um suspeito à cena do crime, a partir de DNA encontrado em amostras tão simples como uma bituca de cigarro ou pelo de animal. Sendo comumente utilizado para testes de paternidade, a análise do DNA pode ajudar a resolver casos de abuso sexual, na identificação de vítimas em casos onde o corpo está de outra forma irreconhecível, dentre diversas outras situações, ultimamente sendo realizada inclusive a análise de DNA de microrganismos em investigações forenses (JOBBLING; GILL, 2004).

Amostras de DNA extraídas do ambiente são um novo modo de conseguir evidências em investigações que refletem a diversidade, identidade e até mesmo a função de diversos microrganismos. A utilização da PCR (*polymerase chain reaction* ou “reação em cadeia polimerase”) comumente tem como alvo o gene RNA ribossomal 16S (rRNA), que é uma parte do ribossomo, estrutura celular que é responsável por fazer proteínas. A 16S rRNA, apesar de ser muito semelhante em diversas formas de vida, possui pequenas variações entre e dentro das mesmas espécies de microrganismos. São estas pequenas diferenças que permitem usar o DNA amplificado para distinguir entre diferentes populações dentro de comunidades microbianas, e tal técnica já tem desempenho comprovado na perícia criminal (PETRISOR; KITTS, 2004).

A PCR foi inventada por Kary Mullis, que recebeu um prêmio Nobel em 1993 pela invenção. A técnica possibilita a amplificação seletiva de uma sequência-alvo de DNA específica, e envolve três etapas: desnaturação, hibridização e polimerização (DA SILVA LEITE et al., 2013).

A técnica de PCR permite diagnósticos muito sensíveis e específicos em comparação com outras técnicas disponíveis, devido à sua alta sensibilidade, especificidade e facilidade para a realização de um grande número de amostras simultaneamente (OLIVEIRA, 2007).

Marcadores moleculares que funcionam como impressão digital no genoma de cada indivíduo, e são utilizados em investigações forenses, são o SSLP (*single sequence length polymorphism* ou polimorfismo de sequência única) que englobam

os VNTR, repetições consecutivas de número variável, e os STR, repetições consecutivas curtas (DA SILVA LEITE et al., 2013).



## 6. PANORAMA DOS ARTIGOS ANALISADOS

Foram utilizados neste trabalho 51 artigos publicados entre 2000 e 2020. Os anos com maior número de publicações foram 2015 e 2020 (Figura 1), indicando o aumento do interesse da comunidade científica sobre o tema microbiologia forense, bem como seu desenvolvimento.

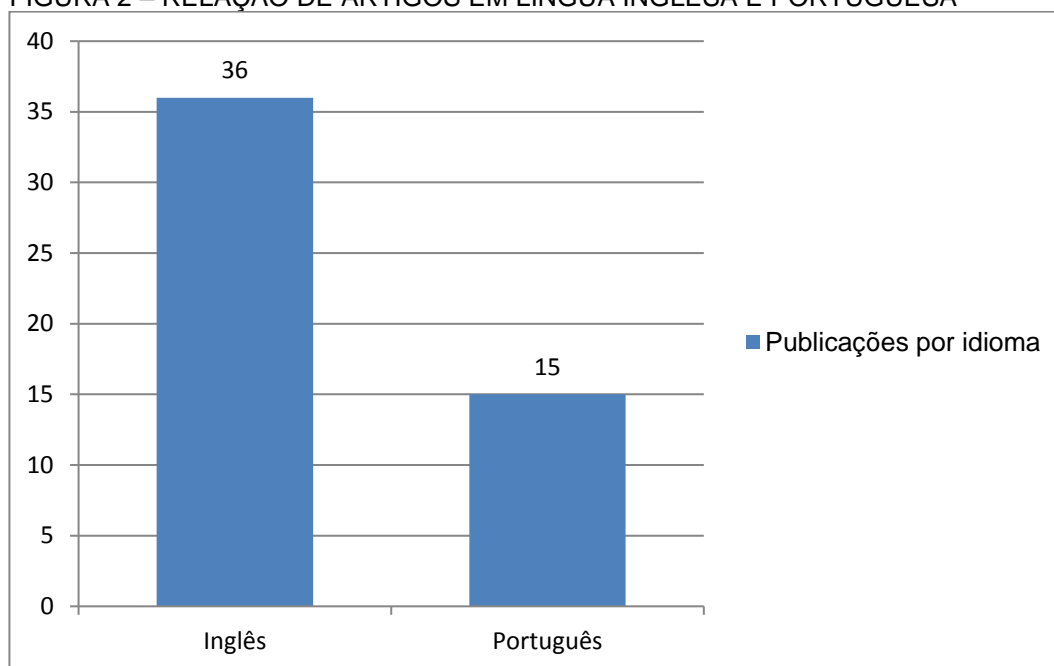
FIGURA 1 – ARTIGOS PUBLICADOS ENTRE 2000-2020



FONTE: O Autor (2020).

Dentre os artigos encontrados, 36 foram publicados em inglês e 15 em português (Figura 2), mostrando que as publicações sobre este assunto no Brasil ainda são escassas e que existe a necessidade de desenvolvimento da microbiologia forense no país. Os artigos de origem brasileira, em sua maioria, foram produzidos para comentar a história das ciências forenses ao longo do tempo, assim como sobre áreas a respeito da biologia forense, entomologia e protocolos de investigação. Os artigos selecionados são de origem brasileira (14), americana (12), britânica (7), italiana (3), portuguesa (2), australiana (2), japonesa (2), espanhola (2), argentina (1), neozelandesa (1), coreana (1), finlandesa (1), norueguesa (1), alemã (1) e indiana (1).

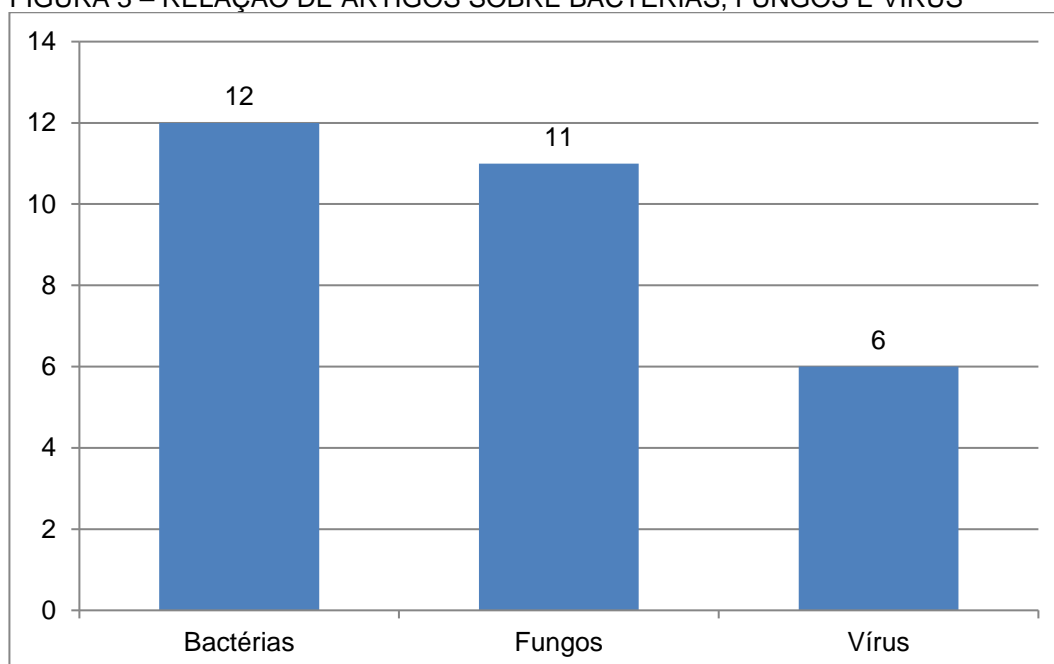
FIGURA 2 – RELAÇÃO DE ARTIGOS EM LÍNGUA INGLESA E PORTUGUESA



FONTE: O Autor (2020).

Os microrganismos mais abordados nos artigos analisados foram bactérias e fungos, seguidos pelos vírus (Figura 3).

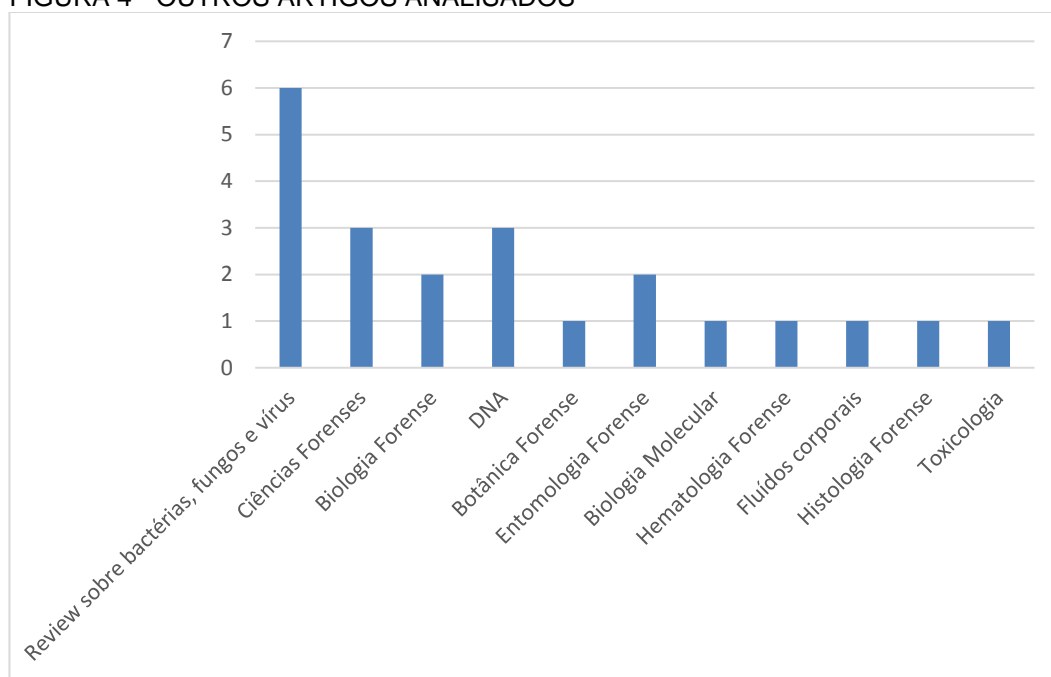
FIGURA 3 – RELAÇÃO DE ARTIGOS SOBRE BACTÉRIAS, FUNGOS E VÍRUS



FONTE: O Autor (2020).

Outros artigos analisados, que se encaixam em outras categorias, são listados na Figura 4. Foram utilizados artigos que versavam sobre outras áreas da ciência forense, como a biologia molecular, botânica, toxicologia, fluídos corporais, entomologia, hematologia, histologia e DNA.

FIGURA 4 - OUTROS ARTIGOS ANALISADOS



FONTE: O Autor (2020).

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da revisão bibliográfica realizada, foi possível perceber o crescente interesse nos estudos de microbiologia forense em diferentes partes do mundo nos últimos 20 anos.

Foi produzido um artigo de revisão, o qual será submetido para publicação no periódico Revista Brasileira de Criminalística (Apêndice 1).

O uso da microbiologia forense na identificação da causa de morte, casos de intoxicação, estabelecimento do intervalo de morte, identificação de microrganismos no solo em locais de crime, contaminação proposital ou acidental de indivíduos com agentes infecciosos, e evidências de transferência de bactérias que podem ajudar a estabelecer o suspeito de um crime foram os casos mais encontrados na literatura.

Fica evidente a importância da microbiologia forense para auxiliar os outros métodos de investigação na compreensão do que ocorreu em cenas de crime, morte acidental e outros tipos de casos, visando o esclarecimento dos fatos e obtenção de justiça.

Desse modo, um maior número de estudos pode auxiliar na construção de uma base de dados robusta e segura a ser utilizada em investigações. A partir dos estudos realizados, é possível perceber que a microbiologia forense tem potencial para ser utilizada em diversos casos de investigações, abrindo cada vez mais o leque de aplicações dessa ciência na resolução de crimes.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S. R. et al. **Toxicologia forense e saúde pública: Desenvolvimento e avaliação de um sistema de informações como potencial ferramenta para a vigilância e monitoramento de agravos decorrentes da utilização de substâncias químicas**. 151f. Tese (Doutorado em Ciências), FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2005.
- ANDERSEN, K.G. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. **Nature Medicine**, v. 26, n. 4, p. 450-452, 2020.
- BARBOSA, M.A. et al. Aplicação de fungos em estudos forenses no processo de degradação cadavérica. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.7, n.1, p.10-18, 2012.
- BARRANCO, R.; VENTURA, F. The role of forensic pathologists in coronavirus disease 2019 infection: The importance of an interdisciplinary research. **Medicine, Science and the Law**, v.60, p.237-238, 2020. Letter.
- CALAZANS, C H.; CALAZANS, S. M. Ciência forense: das origens à ciência forense computacional. **Anais do 15º Seminário Regional de Informática**, Santo Ângelo: Universidade Regional Integrada, 2005. p. 1-14.
- CARDOSO, T A. de O.; VIEIRA, D. N. Bacillus anthracis como ameaça terrorista. **Saúde em Debate**, v. 39, n. 107, 2015. Ensaio.
- CHIMUTSA, M. et al. Soil fungal community shift evaluation as a potential cadaver decomposition indicator. **Forensic science international**, v. 257, p. 155-159, 2015.
- CHRISTOFFERSEN, S. The importance of microbiological testing for establishing cause of death in 42 forensic autopsies. **Forensic Science International**, v. 250, p. 27-32, 2015.
- CIÊNCIA. In: Michaelis. Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa. Disponível em: <https://michaelis.uol.com.br/moderno-portugues/busca/portugues-brasileiro/ciencia>. Acesso em: 9 ago. 2020.
- COYLE, H. M. et al. Forensic botany: using plant evidence to aid in forensic death investigation. **Croatian Medical Journal**, v. 46, n. 4, p. 606, 2005.
- CRISÓSTOMO, H. C.; GOMES, L.; PREZOTO, F. Análise de artigos relacionados à entomologia forense publicados em periódicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 14, n. 1, 2, 3, 2012.
- DA SILVA LEITE, V. et al. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, v. 10, n. 34, p. 21, 2013.
- DOS SANTOS, A. E. As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 7, n. 3, p. 12-20, 2018.

DUARTE, G. de L. **O papel da ciência forense na investigação dos crimes de homicídio**. 126f. Dissertação (Mestrado em Medicina Legal e Ciências Forenses), Universidade de Coimbra, Portugal, 2009.

FACHONE, P.; VELHO, L. Ciência forense: Interseção justiça, ciência e tecnologia. **Revista Tecnologia e Sociedade**, v. 3, n. 4, p. 139-161, 2007.

FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A. et al. COVID-19 and post-mortem microbiological studies. **Spanish Journal of Legal Medicine**, v. 46, n.3, p. 127-138, 2020.

FIERER, N. et al. Forensic identification using skin bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 14, p. 6477-6481, 2010.

FLEMING, R. I.; HARBISON, S. The use of bacteria for the identification of vaginal secretions. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 5, p. 311-315, 2010.

FOLTRAN R. K SHIBATTA L. S. A Ciência Forense e as principais áreas auxiliares. In: Atenção ao Idoso: Ação Multiprofissional em Saúde. Londrina: **Unifil**, 2011.

FONSECA, J. J. S. Metodologia da pesquisa científica. Fortaleza: **UEC**, 2002. Apostila.

GIAMPAOLI, S. et al. Forensic interlaboratory evaluation of the ForFLUID kit for vaginal fluids identification. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 21, p. 60-63, 2014.

GOEBEL, C. S. et al. Análise micológica durante a decomposição cadavérica. **Revista de ciências médicas e biológicas**. Salvador, v. 12, n. 1, p. 28-32, 2013.

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**, v. 126, n. 5, p. 815-823, 2012.

GOMES, M. R. **Da breve análise criminológica do transgressor à classificação das manchas de sangue por meio da hematologia forense reconstrutora**. 74f. Monografia (Pós-Graduação em Ciências Forenses), Centro Universitário de Lavras, Minas Gerais, 2019.

GONZÁLEZ-ARNAY, E. et al. Proposal for a harmonized protocol for COVID-19 screening and necropsy in forensic sciences facilities. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 76, p. 102067, 2020.

HANLEY, B. et al. Autopsy in suspect COVID-19 cases. **Journal of clinical pathology**, v. 73, n. 5, p. 239-242, 2020.

HAWKSWORTH, D. L.; WILTSHIRE, P. E. J. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. **Forensic Science International**, v. 206, n. 1-3, p. 1-11, 2011.

HAWKSWORTH, D. L.; WILTSHIRE, P. E. J. Forensic mycology: current perspectives. **Research and Reports in Forensic Medical Science**, v. 5, p. 75-83, 2015.

HITOSUGI, M. et al. Fungi can be a useful forensic tool. **Legal Medicine**, v. 8, n. 4, p. 240-242, 2006.

JOBLING, M. A.; GILL, P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 10, p. 739-751, 2004.

JOSEPH, I. et al. The use of insects in forensic investigations: An overview on the scope of forensic entomology. **Journal of forensic dental sciences**, v. 3, n. 2, p. 89, 2011.

KEIM, P. S.; BUDOWLE, B.; RAVEL, J. Microbial forensic investigation of the anthrax-letter attacks. In: **Microbial forensics**. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, 2011. p. 15-25.

LAX, S. et al. Forensic analysis of the microbiome of phones and shoes. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2015.

LEE, S. et al. Forensic analysis using microbial community between skin bacteria and fabrics. **Toxicology and Environmental Health Sciences**, v. 8, n. 3, p. 263-270, 2016.

LEHMAN, D. C. Forensic microbiology. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 36, n. 7, p. 49-54, 2014.

LOBMAIER, I. V. K. et al. Bacteriological investigation—significance of time lapse after death. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 28, n. 10, p. 1191-1198, 2009.

MADEA, B. **Histology in forensic practice**. Forensic Science, Medicine, and Pathology, v. 8, n. 1, p. 64-65, 2012. Commentary.

METZKER, M. L. et al. Molecular evidence of HIV-1 transmission in a criminal case. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 22, p. 14292-14297, 2002.

MOREIRA FILHO, R. E. **Micologia forense: a dinâmica da microbiota fúngica na investigação do período post mortem**. 133f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2008.

NEVES, M. F.; ROSADO, F. **Sobre a crescente importância da estatística na ciência forense**. CEAUL, 2008. Relatório Técnico

OLIVEIRA, M.C. de S. et al. Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase. **Embrapa Pecuária Sudeste**, São Carlos, 2007.

OLIVEIRA, M.; AMORIM, A. Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 24, p. 10377-10391, 2018.

PARKHILL, J. What has high-throughput sequencing ever done for us? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 664-665, 2013.

PETRISOR, I.; KITTS, C. Advances in forensic microbiology. **Environmental Forensics**, v. 5, n. 2, p. 59-60, 2004.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta paulista de enfermagem**, v. 20, n. 2, p. 5-6, 2007.

SCHWARZ, P. et al. Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in forensic autopsy cases. **International journal of legal medicine**, v. 129, n. 4, p. 785-791, 2015.

SPAGNOLO, E. V. et al. Forensic microbiology applications: A systematic review. **Legal Medicine**, v. 36, p. 73-80, 2019.

TIBBETT, M.; CARTER, D. O. Mushrooms and taphonomy: the fungi that mark woodland graves. **Mycologist**, v. 17, n. 1, p. 20-24, 2003.

TRANCHIDA, M. C.; CENTENO, N. D.; CABELLO, M. N. Soil fungi: their potential use as a forensic tool. **Journal of forensic sciences**, v. 59, n. 3, p. 785-789, 2014.

TRIDICO, S. R. et al. Metagenomic analyses of bacteria on human hairs: a qualitative assessment for applications in forensic science. **Investigative genetics**, v. 5, n. 1, p. 16, 2014.

TUOMISTO, S. et al. Evaluation of postmortem bacterial migration using culturing and real-time quantitative PCR. **Journal of forensic sciences**, v. 58, n. 4, p. 910-916, 2013.

U.S. Department of justice. **Amerithrax investigative summary**. 2010. Disponível em: < <https://www.justice.gov/archive/amerithrax/docs/amx-investigative-summary.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2020.

VIRKLER, K.; LEDNEV, I. K. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. **Forensic science international**, v. 188, n. 1-3, p. 1-17, 2009.

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**, v. 34, p. 73-80, 2015.



**APÊNDICE 1 – ARTIGO DE REVISÃO PRODUZIDO PARA SER SUBMETIDO AO  
PERIÓDICO REVISTA BRASILEIRA DE CRIMINALÍSTICA**

**MICROBIOLOGIA FORENSE: UMA REVISÃO**

D. Weçoski.; P. Dalzoto

*\*Endereço de e-mail para correspondência: [deborahalinew@gmail.com](mailto:deborahalinew@gmail.com) Tel.: +55-41-987908004.*

*Recebido em 00/00/2000; Revisado em 00/00/2000; Aceito em 00/00/2000*

---

**Resumo**

A microbiologia forense é um ramo das ciências forenses que está ganhando crescente atenção como ferramenta investigativa. Atuando em conjunto com outras ciências forenses, a microbiologia forense visa à análise e ao estudo de microrganismos que possam fornecer explicações sobre a ocorrência de crimes e servir como evidência em julgamentos. Visando fornecer um panorama sobre a microbiologia forense no mundo e no Brasil, foi realizada uma revisão de artigos publicados sobre o tema dos últimos 20 anos (2000-2020), abordando o emprego de bactérias, fungos e vírus como ferramentas forenses. Foram encontrados 51 artigos, dentre os quais 36 foram publicados em inglês e 15 em português, evidenciando a escassez de publicações sobre o tema no Brasil. Por meio da compilação dos artigos encontrados, esta revisão aborda preferencialmente bioterrorismo, o uso de bactérias da pele como forma de identificação humana, o emprego de fungos na determinação do intervalo *post-mortem* e biocrimes.

*Palavras-chave:* investigação, bactéria, fungos, vírus.

---

**Abstract**

Forensic microbiology is a branch of forensic science that is gaining increasing attention as an investigative tool. Acting in conjunction with other forensic sciences, forensic microbiology aims to analyze and study microorganisms that can provide explanations about the occurrence of crimes and serve as evidence in trials. In order to provide an overview of forensic microbiology in the world and in Brazil, a review of articles published on the topic of the last 20 years (2000-2020) was carried out, addressing the use of bacteria, fungi and viruses as forensic tools. 50 articles were found, of which 35 were published in English and 15 in Portuguese, showing the scarcity of publications on the subject in Brazil. Through the compilation of the articles found, this review preferably addresses bioterrorism, the use of skin bacteria as a means of human identification, the use of fungi in determining the post-mortem interval and biocrimes.

*Keywords:* investigation, bacteria, fungi, virus.

---

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as ciências que possibilitam a análise de vestígios e fazem parte de investigações forenses, a biologia tem contribuído por meio de diferentes áreas, como a entomologia forense [1], entomotoxicologia [2] e genética e biologia molecular, em que a análise de DNA de resíduos encontrados em um local de crime possibilita a identificação do autor do ato ou da vítima, e segundo um dos princípios fundamentais da ciência forense, o Princípio de Locard, “cada contato deixa um rastro” [3].

Outras áreas da biologia forense são a botânica [4], a toxicologia forense [5], a histologia forense [6], e a hematologia forense e seus estudos de manchas de sangue [7].

A microbiologia forense é um ramo relativamente novo da biologia e tem sido alvo de interesse crescente por parte de pesquisadores que buscam aumentar os meios de reconhecimento de provas e investigação de crimes [8].

Por meio de novas tecnologias, como o sequenciamento paralelo maciço de DNA [9], e outras técnicas moleculares como a PCR [10] a microbiologia forense pode fornecer importantes informações sobre crimes, auxiliando a clarificar a análise das provas.

Através do crescente avanço nos estudos de microrganismos é possível agora que a microbiologia forense auxilie na análise de evidências criminais para a identificação de causas de morte, identificação humana, geolocalização e nas estimativas de intervalo pós-morte, tudo a partir da análise de fungos, vírus e bactérias [9]. Para determinar a causa de morte como afogamento, por exemplo, o estudo de microrganismos presentes na água e em diferentes partes do cadáver pode auxiliar na investigação, uma vez que em casos de afogamento é difícil determinar a causa da morte e esta muitas vezes é feita através da exclusão de outras causas nos exames realizados por patologistas [8].

O presente trabalho teve como intuito realizar uma revisão de artigos nacionais e internacionais de diferentes áreas da microbiologia forense, criando, assim, um panorama do que já foi produzido dentro desse ramo de investigação criminal nos últimos 20 anos (2000 – 2020), evidenciando a importância e o potencial da microbiologia forense.

## 2. METODOLOGIA

Optou-se pela utilização da revisão narrativa como meio para identificação e descrição dos estudos já realizados sobre microbiologia forense. A revisão narrativa é um tipo de estudo apropriado para descrever e discutir o desenvolvimento de determinado assunto a partir do ponto de vista teórico [11].

Para a escolha de artigos produzidos sobre o tema foi realizada uma busca no banco de dados Google scholar, no período compreendido entre os anos 2000 e 2020. As seguintes palavras chaves foram utilizadas: “forensic microbiology”, “forensic microbiology and bacteria”, “forensic microbiology and fungi”, “forensic microbiology and virus”, “microbiologia forense”, “microbiologia forense e bactéria”, “microbiologia forense e fungos”, “microbiologia forense e vírus”.

## 3. HISTÓRICO DA CIÊNCIA FORENSE

A ciência forense relaciona questões de justiça e ciência, tratando-se de um sistema complexo que é composto por diferentes saberes [12]. A perícia criminal é aquela que tem como finalidade indicar aos operadores do Direito, explicações e provas sobre o que e como uma situação ocorreu.

Os primeiros registros acerca da ciência forense datam do século VII, na China, onde já se buscava fazer uso de vestígios e da lógica para a resolução de crimes. Mas somente no século XIII o primeiro compêndio de medicina legal seria produzido pelo juiz Song Ts’Eu no campo do Direito. No compêndio eram descritas maneiras de identificar sinais de estrangulamento e afogamento, também constava o modo como a análise de ferimentos poderia levar a inferências sobre as armas utilizadas em um crime [3].

Momentos históricos do início da ciência forense foram a criação das leis por Carlos Magno, primeiro esboço do que seria um laudo pericial; as Decretais do Papa Gregório IX, no século XIII, que indicavam a necessidade de perícia médica em casos de mortes violentas e lesões corporais; o Código Carolíngio de 1532, que estipulou a obrigatoriedade de exames realizados por peritos médicos nos corpos de vítimas de mortes violentas e a seguinte manifestação por escrito sobre os resultados dos exames, estabelecendo, assim, o início do que conhecemos como necropsia e laudo pericial [3].

Outros movimentos que modificariam a ciência forense para o modo como a conhecemos atualmente ocorreram também na França, Inglaterra e Portugal.

Nesse último país, em 1602, a criação da função de peritos separada do órgão judiciário, ainda que auxiliar deste, foi o primórdio do que conhecemos hoje como Instituto de Criminalística, apesar de não ter essa denominação à época [3].

Entre os séculos XI e XIII surgiram os primeiros métodos e instrumentos forenses, e o aperfeiçoamento de tais técnicas através dos anos tornou possível a investigação de crimes do modo como ocorrem atualmente. Entre os momentos importantes de descobertas que possibilitaram a investigação e análise de vestígio, estão a invenção do microscópio em 1590, por Zacharias Jansen; o trabalho do médico italiano Marcelo Malphigi de 1664, onde tratava sobre o que seria a origem da pilosopia; o início da produção de armas com almas raiadas e a possibilidade de se estabelecer a relação entre uma arma utilizada e um crime, no século XIX; a invenção da fotografia em 1826 e a primeira coletânea de fotos de criminosos produzida em 1886 por Thomas Byrnes; e a publicação do livro de Mathieu Orfila, em 1815, em que foi feita uma classificação dos venenos mais utilizados em crimes. Mais tarde, seriam produzidas técnicas e instrumentos para auxiliar em investigações, como o assinalamento antropométrico, fotografia judiciária e a criação de manuais para juízes e peritos responsáveis pela investigação e julgamento de crimes [3].

Após muitos movimentos de transformações nas ferramentas e modos de se investigar um crime, um dos últimos marcos históricos no campo da ciência forense, e talvez um dos mais utilizados atualmente, foi a análise de DNA para a identificação de indivíduos. O primeiro método de análise foi desenvolvido por Alec Jeffreys em meados dos anos 80, e, posteriormente, as técnicas de análise foram aperfeiçoadas para que não somente células nucleadas fossem passíveis de extração de DNA. Atualmente diversos espécimes de material biológico passaram a servir à análise, tais como amostras de sangue, saliva, sêmen, dente, unha, urina e outros fluidos. É papel da biologia molecular, dentro dos laboratórios, a análise das amostras de material biológico recolhido de cenas de crimes, atuando de forma imprescindível na identificação de criminosos e de outros aspectos dentro da investigação [13].

#### 4. MICROBIOLOGIA FORENSE

A ciência forense é uma ciência multidisciplinar, podendo muitas vezes promover a interação entre

áreas de diferentes ciências para embasar seus achados. A utilização de conhecimentos e técnicas de diferentes áreas é responsável pela composição de conjuntos de análises que proporcionam o exame de todos os componentes envolvidos na investigação criminal, sendo então, ampla a variedade de ciências que podem contribuir para a perícia na área forense [3].

A biologia em investigações forenses tem um importante papel na coleta e análise de vestígios. Microbiologistas forenses têm, entre suas diversas funções, a análise de vestígios de evidências para colocar suspeitos ou vítimas nas cenas de crimes, a investigação de crimes de bioterrorismo e determinação de causa e hora de morte. Embora a microbiologia forense já existisse, foram os eventos de bioterrorismo ocorridos nos Estados Unidos em 2001, em que a bactéria *Bacillus anthracis* foi utilizada, que trouxeram essa área da ciência para a linha de frente das investigações criminais [8].

Cartas contendo esporos de *B. anthracis* foram enviadas para senadores americanos e pessoas ligadas à mídia dos Estados Unidos e acarretaram 22 casos de infecção e 5 mortes [14].

A investigação forense do caso das cartas contaminadas fez uso de variadas abordagens, entre elas as análises física, química e molecular. A investigação dependeu fortemente das análises genéticas e genômica comparativa. A análise de DNA para identificação microbiana não era novidade em 2001, porém, as tecnologias utilizadas na época eram ainda incipientes, trabalhosas, caras e demoradas. Outros fatores que estavam presentes na investigação e poderiam ser possíveis complicadores para a análise de evidências era o vasto número de microrganismos e as rápidas mutações pelas quais esses organismos passam, levando a incertezas a respeito do seu uso em investigações. Para solucionar o caso, o trabalho da perícia microbiana e da investigação da polícia tradicional foi indispensável [14].

O *B. anthracis* é um patógeno que está presente em todo o mundo, mas é altamente homogêneo geneticamente. O caso de bioterrorismo envolvendo o *B. anthracis* foi o que levou ao desenvolvimento do VNTR (variable number tandem repeat ou repetição em tandem de número variável), [14].

Após a análise do material, observação das mutações do bacilo e do trabalho conjunto com diversos setores de investigação americana, as cartas foram traçadas até o cientista Edwards Bruce Ivens, que foi considerado o responsável pelos ataques [15].

Um novo campo de atuação proporcionado pela microbiologia forense é o estudo da composição da comunidade de bactérias associadas à pele que são deixadas em objetos após o contato, para fins forenses. Em um estudo de 2010 [16], foi levantada a hipótese de que o padrão bacteriano individual pudesse servir como um tipo de impressão digital na investigação forense. A partir disso, foi desenvolvido um estudo que visou à análise comparativa de culturas de bactérias encontradas em teclados e *mouses* de computador de uso pessoal e as comunidades de bactérias encontradas na palma da mão de seus respectivos donos. Foi demonstrado que as culturas de bactérias pertencentes aos donos dos respectivos teclados eram substancialmente mais similares do que as amostras coletadas de teclados diversos. As semelhanças entre as culturas de bactérias do teclado, *mouse* e da palma da mão do indivíduo a quem o teclado pertencia sugere a transferência entre pele e objeto, e tais culturas podem servir como um tipo de impressão digital.

Outro estudo que ressaltou a interação entre o microbioma humano, e os resquícios deste, deixados em objetos, foi realizado por [17]. No referido estudo, foram comparadas amostras de culturas de bactérias retiradas de telefones celulares e solas de sapatos de participantes, com o intuito de demonstrar a possível ligação entre a sola de sapato e o chão que esses indivíduos haviam caminhado, assim como a relação entre o microbioma pessoal dos participantes e os resquícios deixados em seus respectivos telefones celulares.

Tendo sido recolhidas amostras de telefones celulares, sapatos, do chão e dos participantes, dois métodos diferentes foram realizados para a análise e comparação das amostras. Os resultados encontrados permitiram inferir que as colônias de bactérias encontradas nos telefones celulares podem ser relacionadas aos seus respectivos donos. Porém, os resultados encontrados na análise de bactérias retiradas de sapatos e dos locais onde os indivíduos tinham pisado se mostraram insuficientes para produzir relações, devido à influência sofrida pelas trocas rápidas de bactérias que acontecem com as superfícies [17].

A relação entre o microbioma humano e sua presença reconhecível em sapatos também foi objeto de pesquisa de [18], em um estudo que buscou a relação entre as bactérias da sola do pé e da parte interna de sapatos.

Para o estudo foram utilizados 14 pares de sapatos de 14 voluntários diferentes, e amostras foram recolhidas dos voluntários e dos objetos. Os

resultados apontaram para uma maior similaridade entre o DNA bacteriano dos donos dos respectivos sapatos e os mesmos. Apesar dos resultados indicarem 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, por exemplo, ainda podem ser problemáticas, devido ao grau de flutuação de semelhanças das bactérias encontradas em ambas as amostras. Assim como os resultados de comparação podem não se mostrar significativos o suficiente para oferecer uma correspondência. Tal problemática, segundo o estudo, pode ser devida a uma possível contaminação dos sapatos com outras bactérias presentes no chão, quando os indivíduos tiram os sapatos em casa, sendo que o andar pode causar a contaminação com outras bactérias do ambiente. Outros fatores possíveis apontados foram a transferência de bactérias de outras pessoas, quando os indivíduos andam descalços, carregando assim essas bactérias em seus pés e sapatos, infecções microbianas e o método de análise bacteriano utilizado [18].

A relação entre o DNA bacteriano de um indivíduo e os resquícios deixados em superfícies tocadas pelo mesmo indivíduo também foi demonstrada por [19]. Em estudo realizado para determinar se era possível estabelecer ligação entre sujeito-objeto através da análise de DNA bacteriano deixado em peças de roupa, tecidos como algodão 100%, algodão 55% e poliéster 45%, e 100% poliéster foram utilizados. Voluntários agarraram firmemente as amostras de tecido e DNA bacteriano foi retirado dos tecidos, da palma da mão e da ponta dos dedos dos participantes da pesquisa. Os microrganismos encontrados nas amostras de cada voluntário diferiram significativamente entre eles, e apesar do estudo dever ser considerado com cautela devido ao baixo número de participantes e amostras, foi possível confirmar a relação entre as bactérias presentes nas mãos de cada voluntário e dos tecidos analisados.

Durante séculos a utilização de fios de cabelos em investigações limitou-se a comparações entre a cor do fio de cabelo e pigmentação. Foi somente na metade dos anos 80 que a técnica PCR – *polymerase chain reaction*- proporcionou uma mudança importante na análise de fios de cabelo, contribuindo com o estudo de DNA realizados nos fios. Contudo, a realização da análise do fio só poderia se dar com fios de cabelos que estivessem em sua fase anágena, fase na qual são ricos em DNA nuclear [20]. Uma alternativa de investigação favorecida pela análise

metagenômica, abordagem independente de cultura bacteriana, é a impressão digital microbiana que pode ser coletada dos fios [20- 21].

Sendo uma das evidências mais presentes em cenas de crimes, [20] realizaram um estudo visando determinar o possível uso da análise de bactérias presentes em fios de cabelo para fins forenses. Amostras de fios do couro cabeludo e pelos pubianos foram coletadas de sete voluntários, dois dos quais eram um casal, em três meses diferentes. Os resultados demonstraram a relação de diferentes tipos de bactérias em diferentes partes do corpo, sendo que não foram notadas dessemelhanças significativas entre sexos no que tange às amostras de fios retirados do couro cabeludo. Já a partir das amostras de pelos pubianos é 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.

A identificação da causa de morte envolvendo microrganismos pode ser difícil de ser realizada mediante autópsia, por falta de informação *ante mortem*. As mudanças que ocorrem no corpo após a morte dificultam a identificação e separação de microrganismos que podem ser a causa de morte, microrganismos comuns à microbiota que se tornam fonte de patologias quando estão em circunstâncias propícias, e os microrganismos que podem contaminar o cadáver antes ou durante a autópsia [22].

Métodos como a cultura de bactérias em placas de ágar e a PCR (*polymerase chain reaction*), são utilizados para tais fins e demonstram bons resultados na identificação de bactérias [22].

Algumas considerações devem ser feitas sobre a cultura de bactérias das amostras recolhidas. Diferentes fatores podem levar à presença de bactérias nas amostras, tais como a invasão durante a vida, o que pode atestar a causa de morte por infecção; a propagação agonal, na qual seria possível que bactérias invadissem uma superfície do corpo durante procedimentos de ressuscitação ou então por problemas na circulação sanguínea; a translocação pós-morte, na qual bactérias que estão presentes naturalmente no corpo podem atravessar as barreiras das mucosas e causar a proliferação de diferentes bactérias; e contaminação, a qual poderia ocorrer durante a retirada das amostras [22].

Colocados os possíveis entraves no processo de identificação de bactérias que estariam presentes antes ou após a morte, grande parte dos estudos realizados para compreender como tais fatores

podem atrapalhar na identificação de microrganismos como causa de morte, apontam para a segurança dos achados acerca de microrganismos em autópsias, desde que o corpo tenha sido devidamente refrigerado e não se trate de autópsias de crianças menores de 2 anos. De modo geral devem ser observados os níveis de proteína c-reativa, uma lista de microrganismos que podem ser considerados patógenos oportunistas quando há alguma doença subjacente, histologia e problemas relacionados à imunidade. Apesar de alguns microrganismos como *Escherichia coli* e *Candida albicans* fazerem parte da nossa microbiota e poderem se tornar patogênicos em circunstâncias específicas, uma lista completa de patógenos verdadeiros não é possível de ser concluída, sendo recomendado procurar literatura para cada tipo de microrganismo encontrado, uma vez que as outras informações citadas anteriormente tenham sido consideradas [22].

O estudo de fungos em investigações forenses, a micologia forense, ainda é uma área que possui pouca literatura disponível, sendo então os estudos publicados até o momento uma base para futuras investigações sobre suas possíveis contribuições para as ciências forenses. A análise de fungos pode ser utilizada para a estimativa do tempo de morte, tempo de decomposição, no fornecimento de evidências residuais e na determinação de causa de morte em casos de intoxicações [23].

A utilização da análise de fungos para o estabelecimento do intervalo *post mortem* tem sido a maior contribuição do estudo de fungos na área forense. 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 *post mortem*. A sucessão do crescimento fúngico e o uso de nitrogênio permitem estabelecer uma estimativa do intervalo. Ainda são necessários mais estudos para estabelecer uma base confiável de fungos, sua presença nos estágios de decomposição cadavérica e a interação com o tipo de ambiente onde se encontram, mas segundo [24], fungos de grupos como os Zygomycetos, Ascomycetos e mitosporicos, de frutificação precoce, e os Basidiomycetos, de frutificação tardia, são destacados para a análise de decomposição. Grupos de fungos que formam corpos de frutificação em condições naturais após a decomposição cadavérica podem ser chamados de fungos *post putrefaction*, enquanto fungos que formam corpos de frutificação no solo após

tratamento com amônia são os chamados fungos ammonia [23].

Um exemplo da análise de fungos em investigações para o estabelecimento do intervalo de morte vem de Voorde e Van Dijck (1982), onde fungos encontrados no corpo de uma baronesa assassinada foram isolados e incubados a fim de reproduzir o ambiente exato no qual o cadáver foi encontrado. Através da análise do crescimento dos fungos foi possível estabelecer o intervalo de tempo de 18 dias da ocorrência do crime até a descoberta do corpo, informação posteriormente confirmada quando o responsável pelo crime foi descoberto [25].

Outro caso semelhante, citado por [8], é o da investigação de um corpo encontrado com múltiplas marcas de esfaqueamento em um apartamento fechado, o que impediu a entrada de mosquitos. Os cientistas forenses no caso notaram a presença de fungos nas manchas de sangue no carpete onde o corpo estava. Uma parte do carpete sem manchas de sangue foi removido pela equipe forense e foi mantido em laboratório sob condições de umidade e temperatura semelhantes ao do apartamento onde ocorreu o crime, após ser manchado de sangue bovino. As colônias de *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium citrinum* e *Mucor plumbeus* encontradas na cena do crime foram comparadas com as resultantes do carpete mantido em laboratório, o que possibilitou a estimativa do tempo de morte em 5 dias. A estimativa foi confirmada quando o suspeito de ter cometido o crime confessou.

Em uma análise de fungos realizada em 1996, os fungos identificados como *Penicillium* e *Mucor* foram coletados do corpo de uma mulher morta em seu apartamento, e estudados em ambientes artificiais por 28 dias. Esse tempo permitiu estabelecer o intervalo de morte da vítima e contribuir para a condenação do assassino. Em mais uma contribuição para a área forense, a análise de fungos em restos de comida deixadas em um apartamento pôde ser utilizada para delimitar o intervalo de tempo em que crianças foram deixadas sozinhas em um apartamento pela mãe, que acabou sendo acusada da morte de um dos filhos por negligência [26].

Um caso no qual uma vítima de estupro afirmava ter sofrido abuso sexual próximo a determinadas árvores, enquanto o suspeito afirmava ter tido relações sexuais consensuais com a vítima em um parque a 200 metros de distância, foi esclarecido com a comparação dos fungos característicos de madeira e folhas mortas encontrados nas roupas e sapatos da vítima e do suspeito. Apesar da

proximidade entre os locais, a análise dos fungos se mostrou significativa o bastante para corroborar a denúncia da vítima. Confrontado com as evidências, o suspeito confessou [25].

Em Dundee, na Escócia, o corpo de uma mulher que fora estuprada e morta, foi cremado antes que um micologista pudesse examiná-lo. Porém, com as anotações realizadas sobre o estado do corpo e do crescimento extensivo de fungos que o corpo da mulher apresentava, foi possível estimar que a mulher estivera no local por pelo menos duas semanas e, somado ao pólen encontrado e esporos de fungos, estabeleceu-se uma ligação também com o suspeito e o local onde o corpo foi encontrado. Outras evidências, como a filmagem de câmeras com os envolvidos e uma extensa ficha criminal, acabou acarretando na condenação do suspeito [26].

No Japão, o corpo de um homem de aproximadamente 71 anos foi encontrado em um poço aberto, sua face coberta com colônias de fungos brancos. A identificação dos fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus terreus* ajudaram a corroborar a estimativa do tempo de morte, pois o homem havia sido visto pela última vez doze dias antes de ser encontrado [27].

Em estudo realizado no Ceará, Brasil, com a coleta de amostras retiradas de 60 cadáveres em diferentes estágios de decomposição (gasoso, coliquativo e de esqueletização), os resultados de isolamento de fungos mitosóricos mostraram a prevalência da forma filamentosa nos períodos gasoso e de esqueletização, e de leveduras no período coliquativo. No que diz respeito às ordens fúngicas avaliadas, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, da ordem Eurotiales, apareceram nos períodos gasoso e de esqueletização. De modo geral, os resultados encontrados nas amostras apontam para a prevalência dos gêneros *Aspergillus* e *Candida* no período gasoso, *Candida* sp. no período coliquativo, e *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. e *Mucor* spp. no período de esqueletização [28].

Apesar dos bons resultados demonstrados em diversas investigações, os métodos para a análise de fungos utilizados como evidência ainda não são robustos o suficiente para terem ampla aceitação em tribunais de justiça [25].

Sendo os fungos em cadáveres passíveis de serem reconhecidos como causa de morte e possibilitando estabelecer o intervalo de morte, [29] realizaram a análise de 23 cadáveres em diferentes estados de putrefação para tentar identificar algumas das espécies fúngicas presentes e seu potencial infeccioso para os indivíduos que realizam as

autópsias. Dentre as espécies identificadas, *Aspergillus fumigatus* e *Candida Albicans* estavam entre os fungos que podem causar complicações de saúde para os analistas em caso de contaminação, principalmente para aqueles que possuem doenças subjacentes, como problemas pulmonares e diabetes mellitus. Os autores colocam ainda a importância dos equipamentos para a realização de autópsias, e que mesmo com as diferenças entre países, todas as autópsias deveriam incluir luvas de dupla camada, com uma camada interposta à prova de corte, vestimenta impermeável e máscaras faciais para impedir a contaminação pelo ar.

A análise fisiológica de fungos pode também ser utilizada para a localização de túmulos e para a estimativa do tempo decorrido desde o enterro de cadáveres [24]. Sendo alguns fungos causadores de doenças, além de causas de morte, análises forenses de fungos que colonizam construções também devem ser consideradas [26].

O uso do solo como traço de evidência [26], e como meio de identificar locais onde restos humanos foram enterrados, tem ganhado espaço ao lado da entomologia nas investigações criminais. Os fungos encontrados no solo podem servir como lápides acima do solo, segundo [30], e seu estudo no solo onde restos humanos foram encontrados apontaram, assim como estudos anteriores, a presença de fungos amônia e os chamados fungos *postputrefaction*. A referência [31], em estudo utilizando a carcaça de um suíno enterrada para realização de análise do solo, encontraram maior diversidade de fungos presentes no solo no período gasoso de decomposição, seguido de um menor número encontrado no período de apodrecimento, causado pela maior competição microbiana e de outros insetos.

Em situações de biocrime, ação na qual uma pessoa ou um grupo de pessoas causa danos intencionais a outra determinada pessoa ou grupo, o estabelecimento da relação entre o agente infeccioso e a amostra individual retirada da vítima deve provar uma associação entre ambos, o que demonstra que a análise molecular do genoma é de extrema importância. O microbiologista forense pode escolher entre diferentes métodos para a análise de DNA de vírus e bactérias, de acordo com as circunstâncias em que um ataque ocorre. Fluidos corporais e evidências ambientais são recolhidas de suspeitos de bioterrorismo e biocrime, e tais amostras passam então para a análise e estudo filogenético de bactérias e vírus, para então se tornarem evidência durante um julgamento [8].

Casos ocorridos nos Estados Unidos exemplificam o uso de tais técnicas para fins forenses. Em 2012, um cientista de laboratório norte americano foi preso por infectar pacientes com hepatite C deliberadamente. No incidente o cientista, HCV positivo, utilizou seu próprio sangue para contaminar equipamentos e seringas que seriam utilizados em paciente nos hospitais em que trabalhava, 18 no total. Devido ao grande número de hospitais em que o suspeito trabalhava, não foi possível estabelecer um número total de vítimas do biocrime, mas somente no hospital em New Hampshire 32 pacientes foram infectados [8].

Ainda nos Estados Unidos, um dentista entregou voluntariamente sua licença profissional e foi alvo de diversos processos após descobrirem suas práticas insalubres e não estéreis em cirurgias. O dentista possuía 7.000 pacientes, dos quais 4.000 foram testados. Mais de 70 pacientes testaram positivo para vírus da hepatite C, cinco para hepatite B e quatro para HIV [8].

Em Lafayette, em 1994, uma importante investigação ocorreu no caso de um gastroenterologista que deliberadamente infectou sua ex-namorada com uma mistura contendo o sangue de um paciente seu, que era HIV positivo. Durante uma briga, o gastroenterologista aplicou uma injeção intramuscular em sua então namorada. Juntamente com a colaboração da força policial que conduziu entrevistas com antigos parceiros da vítima e outras buscas, foram realizados exames de sangue da vítima, do paciente e de amostras de sangue de uma população local, HIV positiva. A utilização da PCR e a transcriptase reversa do HIV isoladas da vítima, mostraram que a linhagem do HIV da vítima era a que estava mais intimamente ligada ao paciente, apontando para a direção da transmissão do paciente para a vítima. O caso levou à condenação do gastroenterologista por tentativa de homicídio de segundo grau [32].

## 5. CONCLUSÕES

O uso da microbiologia forense na identificação da causa de morte, casos de intoxicação, estabelecimento do intervalo de morte, identificação de microrganismos no solo em locais de crime, contaminação proposital ou acidental de indivíduos com agentes infecciosos, e evidências de transferência de bactérias que podem ajudar a estabelecer o suspeito de um crime foram os casos mais encontrados na literatura.

Fica evidente a importância da microbiologia forense para auxiliar os outros métodos de investigação na compreensão do que ocorreu em cenas de crime, morte acidental e outros tipos de casos, visando o esclarecimento dos fatos e obtenção de justiça.

Desse modo, um maior número de estudos pode auxiliar na construção de uma base de dados robusta e segura a ser utilizada em investigações. A partir dos estudos realizados, é possível perceber que a microbiologia forense tem potencial para ser utilizada em diversos casos de investigações, abrindo cada vez mais o leque de aplicações dessa ciência na resolução de crimes.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] H. C. CRISÓSTOMO; L. GOMES; F. PREZOTO Análise de artigos relacionados à entomologia forense publicados em periódicos brasileiros. *Revista Brasileira de Zoociências*, **14**, 2012.
- [2] A.E. DOS SANTOS. As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. *Rev. Bras. Crim.* **7**: 12-20 (2018).
- [3] C.H. CALAZANS, S.M. CALAZANS. Ciência forense: das origens à ciência forense computacional. *Dissertação de mestrado*. Laboratório de Sistemas Integrados – Escola Politécnica – USP, (2005).
- [4] H. M. COYLE et al. Forensic botany: using plant evidence to aid in forensic death investigation. *Croat Med J* **46**: 606-612 (2005).
- [5] ALVES, S. R. et al. Toxicologia forense e saúde pública: Desenvolvimento e avaliação de um sistema de informações como potencial ferramenta para a vigilância e monitoramento de agravos decorrentes da utilização de substâncias químicas *Tese de Doutorado*, FIOCRUZ (2005).
- [6] B. MADEA. Histology in forensic practice. *Forensic Sci, Med and Pathology* **8**: 64–65 (2012).
- [7] M.R. GOMES. Da breve análise criminológica do transgressor à classificação das manchas de sangue por meio da hematologia forense reconstrutora. *Monografia de pós-graduação*, UNILAVRAS (2019).
- [8] D.C. LEHMAN. Forensic microbiology. *Clinical microbiology newsletter* **36**: 49-54 (2014).
- [9] M. OLIVEIRA, AMORIN, A. Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology* **102**: 10377–10391 (2018).
- [10] E. V. SPAGNOLO et al. Forensic microbiology applications: A systematic review. *Legal Medicine*, **36**: 73-80 (2019).
- [11] E.T. ROTHER. Revisão sistemática X revisão narrativa. *Acta Paulista de Enfermagem*. **20**: 5-6 (2007).
- [12] P. FACHONE, L. VELHO. Ciência forense: interseção justiça, ciência e tecnologia. *Rev tec e sociedade* **3**: 139-161 (2007).
- [13] V. DA SILVA LEITE et al. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. *Derecho y Cambio Social* **10**: 21 (2013).
- [14] P.S. KEIM, B. BUDOWLE, J. RAVEL. Microbial forensic investigation of th anthrax-letter attacks. *Microbial Forensics* 15-25 (2011).
- [15] U.S. DEPARTMENT OF JUSTICE. Amerithrax investigative summary (2010). Retirado em 08/10/2020, de <https://www.justice.gov/archive/amerithrax/docs/amerithrax-investigative-summary.pdf>
- [16] N. FIERER et al. Forensic identification using skin bacterial communities. *PNAS* **107**: 6477-6481 (2010).
- [17] S. LAX et al. Forensic analysis of the microbiome of phones and shoes. *Microbiome* **3**: 1-8 (2015).
- [18] H. GOGA. Comparison of bacterial DNA profiles of footwear insoles and soles of feet for the forensic discrimination of footwear owners. *Int J Leg Med* **126**: 815–823 (2012).
- [19] S.Y. LEE et al. Forensic analysis using microbial community between skin bacteria and fabrics. *J Toxicol environ health sci* **8**: 263-270 (2016).
- [20] TRIDICO et al. Metagenomic analyses of bacteria on human hairs: a qualitative assessment for applications in forensic Science. *Investigative Genetics* **5**: 16 (2014).
- [21] J. PARKHILL. What has high-throughput sequencing ever done for us? *Nat Rev Microbiology*, **11**:
- [22] S. CHRISTOFFERSEN. The importance of microbiological testing for establishing cause of death in 42 forensic autopsies. *Forensic Sci Int* **250**: 27-32. (2015).
- [23] M. A. BARBOSA et al. Aplicações de fungos em estudos forenses no processo de degradação cadavérica. *Saúde & Amb em Rev* **7**: 10-18 (2012).
- [24] M. TIBBETT, D. O. CARTER. Mushrooms and taphonomy: the fungi that mark woodland graves. *Mycologist* **17**: 20-24 (2003).
- [25] D.L. HAWKSWORTH, P.E. WILTSHIRE. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Sci Int* **206**: 1-11 (2011).
- [26] D.L. HAWKSWORTH, P.E. WILTSHIRE. Forensic mycology: current perspectives. *Research and Reports in Forensic Med Sci* **5**: 75-83 (2015).
- [27] M. HITOSUGI. et al. Fungi can be a useful forensic tool. *Legal Med* **8**: 240-242 (2006).
- [28] R.E. MOREIRA FILHO. Micologia Forense: a dinâmica da microbiota fúngica na investigação do período post mortem. *Dissertação de mestrado*. Universidade Federal do Ceará (2008).
- [29] P. SCHWARZ et al. Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in

forensic autopsy cases. *Int J Leg Med* **129**: 785-791 (2015).

[30] M.C. TRANCHIDA et al. Soil Fungi: Their Potential use as a Forensic Tool. *Journal of Forensic Sci* **59**: 785-789 (2014).

[31] M. CHIMUTSA et al. Soil fungal community shift evaluation as a potential cadaver decomposition indicator. *Forensic Sci Int* **257**: 155-159 (2015).

[32] M. METZKER et al. Molecular evidence of HIV-1 transmission in a criminal case. *PNAS* **99**:14292-14297 (2002).