

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

POLIANA LAÍS ZANETTI ANDRADE

USO DE FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS NA
IDENTIFICAÇÃO HUMANA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA

CURITIBA,

2023

POLIANA LAÍS ZANETTI ANDRADE

USO DE FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS NA
IDENTIFICAÇÃO HUMANA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Francinete Ramos Campos

CURITIBA,

2023

Andrade, Poliana Laís Zanetti

Uso de ferramentas analíticas modernas na identificação humana [recurso eletrônico]: uma revisão sistemática / Poliana Laís Zanetti Andrade – Curitiba, 2023.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Francinete Ramos Campos

1. Antropologia forense. 2. Restos mortais. 3. DNA-Análise. I. Campos, Francinete Ramos. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 614.17



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **POLIANA LAIS ZANETTI ANDRADE** intitulada: **Uso de ferramentas analíticas modernas na identificação humana: uma revisão sistemática.**, sob orientação da Profa. Dra. FRANCINETE RAMOS CAMPOS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua *Aprovação* no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 23 de Fevereiro de 2023.

FRANCINETE RAMOS CAMPOS

Presidente da Banca Examinadora

DANIELLE MALHEIROS FERREIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me abençoado durante a minha trajetória com saúde, amor e bênçãos sem limites, à abertura de portas inimagináveis e ainda, pela capacidade e coragem de conquistá-las. Agradeço, ainda por poder dividir este momento com pessoas tão maravilhosas, em especial Juliane, Eric, Danielle e Luciane.

Aos meus pais, palavras nunca serão suficientes para expressar toda minha eterna gratidão, mas, principalmente por acreditarem em mim. Obrigada por todo apoio, palavras de conforto e incentivo nos bons e maus momentos de tribulações.

Agradeço a orientadora Prof^a Dra. Francinete Ramos Campos, por aceitar de prontidão uma biotecnologista em seu laboratório e vida. Obrigada professora, por me conduzir magistralmente neste projeto, me ensinando com orientações, motivações e muitos aconselhamentos, sou grata a Deus pela sua vida e saúde. Agradecimento aos revisores que fizeram parte dessa dissertação Juliane Miranda e Luciana Noli.

Ao corpo docente por tantos ensinamentos técnico-científicos e moral repassados e ainda, pela dedicação e compromisso. Meu agradecimento especial aos que marcaram a minha trajetória acadêmica Profa. Dra. Ana Carolina Melchior, Profa. Dra. Danielle, Profa. Yasmine, Dra. Josiane, Polícia Científica do Paraná e a toda equipe da Central Analítica e a Universidade federal do Paraná. Vocês foram essenciais em minha formação, contribuíram de formas positivas, me formando um ser humano melhor e apaixonada pela ciência. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – pela disponibilização da bolsa.

“Consagre ao SENHOR tudo o que você faz e os seus planos serão bem-sucedidos.”

Provérbios 16:3

RESUMO

A identificação humana sempre foi alvo de muitas pesquisas, no entanto, existem amostras que tornam a rotina laboratorial dos especialistas designados a este ofício, um desafio. Na identificação de vítimas de inúmeros crimes contra a vida, desastres, acidentes e desaparecimentos, que na maioria das vezes encontram-se vítimas fatais, nem sempre apresentam amostras viáveis para análise de perfil genético por DNA, para a caracterização de um único indivíduo. Frente a esta realidade, as condições que os vestígios podem ser encontrados trazem ainda mais dificuldades nas análises de rotinas laboratoriais. Por tanto, o objetivo desse trabalho foi explorar e avaliar um conjunto de conceitos de estudos que usaram ferramentas analíticas modernas, a fim de contribuir na identificação de restos mortais humanos. Para isso, a estratégia empregada foi o levantamento bibliográfico dos últimos dez anos, entre 2012 e 2022, em relação ao uso de ferramentas analíticas promissoras na identificação humana, utilizando as bases de dados PubMed, Web of Science e Scopus; palavras-chave e operadores booleanos (AND, OR e NOT) para nortear e fundamentar essa pesquisa. A pergunta a ser respondida pelo estudo foi: “Qual ferramenta analítica possui a capacidade de identificação conclusiva e/ou parcial um resto mortal humanos?”. Os estudos aqui explorados apresentaram aplicabilidade na identificação de restos mortais humano. Os resultados apontaram a necessidade de progressão em estudos nas áreas de identificação humana em países em desenvolvimento como o Brasil. Os estudos selecionados com resultados positivos, confiáveis e reproduzíveis que correspondem as ferramentas analíticas modernas para a utilização na identificação humana, são a Reação em Cadeia da Polimerase (37%), Espectrometria de Massas (23%), Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (11%), Imagem Hiperespectral (11%), Espectroscopia RAMAN (9%) e Ressonância Magnética Nuclear (9%).

Palavras-chave: identificação humana; ferramentas analíticas; análises forenses; restos mortais humanos.

ABSTRACT

Human identification has always been the target of much research, however, there are samples that make the laboratory routine of the specialists assigned to this office, a challenge. In the identification of victims of numerous crimes against life, disasters, accidents and disappearances, which in most cases are fatal victims, not always present viable samples for analysis of genetic profile by DNA, for the characterization of a single individual. Faced with this reality, the conditions under which the remains can be found make routine laboratory analysis even more difficult. Therefore, the objective of this work was to explore and evaluate a set of concepts from studies that used modern analytical tools in order to contribute to the identification of human remains. To this end, the strategy employed was a bibliographic survey of the last ten years, between 2012 and 2022, regarding the use of promising analytical tools in human identification, using the PubMed, Web of Science and Scopus databases; keywords and Boolean operators (AND, OR and NOT) to guide and ground this research. The question to be answered by the study was, "Which analytical tool possesses the ability to conclusively and/or partially identify a human leftover mortal?" The studies explored here presented applicability in the identification of human remains. The results pointed out the need for progression in studies in the areas of human identification in developing countries such as Brazil. The selected studies with positive, reliable and reproducible results that correspond to modern analytical tools for use in human identification are Polymerase Chain Reaction (37%), Mass Spectrometry (23%), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (11%), Hyperspectral Imaging (11%), RAMAN Spectroscopy (9%), and Nuclear Magnetic Resonance (9%).

Keywords: human identification; analytical tools; forensic analysis; human remains.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ETAPAS DA REVISÃO SISTEMÁTICA SEGUNDO O PRISMA PARA O USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA IDENTIFICAÇÃO HUAMNA ..	38
FIGURA 2 – ESTRATÉGIA DA REVISÃO SISTEMÁTICA PARA O USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS E METODOLOGIAS ALTERNATIVAS DE PREPARO DE AMOSTRAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA.....	46

LISTA DE GRÁFICO

GRÁFICO 1 – QUANTIDADE DE ARTIGOS REFERENTES A IDENTIFICAÇÃO HUMANA POR FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS ENCONTRADOS NAS BASES DE DADOS.....	47
GRÁFICO 2 - PORCENTAGEM DE PUBLICAÇÕES DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA PRESENTES NOS ESTUDOS SELECIONADOS.....	64
GRÁFICO 3 - PUBLICAÇÕES DE ARTIGOS RELATIVOS À IDENTIFICAÇÃO HUMANA NÍVEL MUNDIAL, ENTRE OS ANOS 2012 A 2022	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DESCRIÇÃO DA ESTRATÉGIA PICO UTILIZADA NA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	40
TABELA 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS USADAS NA IDENTIFICAÇÃO HUAMANA.....	49
TABELA 3 - METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA AUXÍLIO DAS ROTINAS LABORATORIAIS DE PROFISSIONAIS DA ÁREA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA	59
TABELA 4 - FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS MAIS USADAS NA IDENTIFICAÇÃO DE RESTOS MORTAIS HUMANOS.....	67

LISTA DE APÊNDICE

APÊNDICE 1 ESTRATÉGIAS DE BUSCAS USADAS NAS BASES DE DADOS	
.....	103

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

DNA - do inglês, *deoxyribonucleic acid* (ácido dexossirribonucleico)

mtDNA - do inglês, *Mitochondrial DNA* (DNA mitocondrial)

ABSP - Anuário Brasileiro de Segurança Pública

MP - Ministério Público

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MVI - Mortes Violentas Intencionais

CNM - Confederação Nacional de Municípios

EUA - Estados Unidos da América

FBI - do inglês, *Federal Bureau of Investigations* (Agência Federal de Investigações)

CODIS - do inglês, *Combined DNA Index System* (Sistema de índice de DNA combinado)

RIBPG - Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos

PRISMA - do inglês, *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (Itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises)

UFPR - Universidade Federal do Paraná

PCP - Polícia Científica do Paraná

NMR - do inglês, *Nuclear Magnetic Resonance* (Ressonância Magnética Nuclear, RMN)

ATR FT-IR- do inglês, *Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance* (Infravermelho por Transformada de Fourier com acessório de Reflectância Total Atenuada)

PCR - do inglês, *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia Polimerase)

qPCR - do inglês, *Polymerase Chain Reaction Real-Time* (Reação em Cadeia Polimerase em Tempo Real)

MS - do inglês, *Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massas)

nLC-ESI/OrbitrapMS – do inglês, *nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization Orbitrap Mass Spectrometry* (Sistema nano Cromatografia à Líquido acoplado a Sistema nano de Espectrometria de Massas, equipado com fonte de ionização por electrospray e analisador do tipo Orbitrap)

nLC-ESI/QTOFMS – do inglês, *nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization Time of Flight Mass Spectrometry* (Sistema nano Cromatografia à Líquido acoplado a Sistema nano de Espectrometria de Massas, equipado com fonte de ionização por electrospray e analisador híbrido quadrupolo com tempo de voo)

HI - do inglês, *Hyperspectral Imaging* (Imagem hiperespectral)

MALDI/TOFMS - do inglês, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massas equipado com fonte de ionização do tipo dessorção à laser assistido por matrix e analisador por tempo de voo)

STR – do inglês, *Short Tandem Repeats* (repetições curta em Tandem)

LC-MS – do inglês, *Mass Spectrometry Coupled to Liquid Chromatography* (Cromatografia à Líquido acoplada a Espectrometria de Massas)

nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS - do inglês, *nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization - hybrid linear ion trap Orbitrap Mass Spectrometry* (Sistema nano Cromatografia à Líquido acoplado a Sistema nano de Espectrometria de Massas, equipado com fonte de ionização por electrospray e analisador híbrido ion trap Orbitrap)

nLC-ESI/Q-OrbitrapMS - do inglês, *OrbitrapMS - do inglês, nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization –Q-Orbitrap Mass Spectrometry* (Sistema nano Cromatografia à Líquido acoplado a Sistema nano de Espectrometria de Massas, equipado com fonte de ionização por electrospray e analisador híbrido Quadrupolo-Orbitrap)

API – do inglês, *atmospheric pressure ionization* (ionização à pressão atmosférica)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. JUSTIFICATIVA	20
3. OBJETIVOS	23
1.1 Objetivo geral.....	23
1.2 Objetivos específicos.....	23
4. REVISÃO DE LITERATURA	24
1.3 Crimes contra a vida.....	24
1.4 Amostras Biológicas	27
1.5 Bancos de Dados.....	29
1.6 Identificação humana parcial e/ou conclusiva do indivíduo	31
1.6.1 Identificação humana parcial	31
1.6.2 Identificação humana conclusiva	33
1.7 Avanço no desenvolvimento de novas metodologias no preparo de amostras e aplicações de ferramentas analíticas modernas na identificação humana	34
5. MÉTODOS	36
1.8 Visão geral	37
1.8.1 Passo 1: Formulação da questão de revisão.	39
1.8.2 Passo 2: Critérios de elegibilidade.....	41
1.8.3 Passo 3: Estratégia de busca.	42
1.8.4 Passo 4: Escolha das bases de dados e as respectivas buscas.	43
1.8.5 Passo 5: Leitura dos títulos e resumos.....	43
1.8.6 Passo 6: Leitura na íntegra dos estudos selecionados.....	44
1.8.7 Passo 7: Extração dos dados.	44
1.8.8 Passo 8: Interpretação dos resultados.	45
1.9 Estudos selecionados.....	45

6. ANÁLISE E APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS	48
1.10 Uso de ferramentas analíticas modernas na identificação humana	48
7. Metodologias alternativas para o auxílio das rotinas laboratoriais.....	57
8. DISCUSSÃO	63
9. USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA	70
1.11 Reação em Cadeia da Polimerase - PCR	70
1.12 Espectrometria de Massas – MS	74
1.12.1 Espectrometria de massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS, nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS e nLC-ESI/Q-OrbitrapMS	75
1.12.2 Espectrometria de Massas do tipo MALDI-TOFMS	77
1.12.3 Espectrometria de Massas do tipo LC-QTOFMS.....	78
1.13 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear – NMR.....	79
1.14 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – ATR FT-IR	80
1.15 Espectroscopia Raman.....	82
1.16 Espectroscopia de Imagem Hiperespectral – HI	84
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
11. CONCLUSÃO	87
12. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	87
13. REFERÊNCIAS	88

1. INTRODUÇÃO

A identificação humana é o processo que determina e estabelece a identidade de uma pessoa viva ou morta. O ácido desoxirribonucleico (DNA - do inglês, *Deoxyribonucleic acid*) fornece dados específicos de variabilidade de uma pessoa, sendo que cada indivíduo tem um conjunto único de variabilidade que o diferencia de outras pessoas. O material biológico rico em DNA é o fundamental fornecedor de provas materiais na resolução de questões criminais e civis graves, como a elucidação de casos de crimes contra a vida (CUBERO *et al.*, 2012).

Os métodos ou as técnicas de análise atualmente utilizados que são capazes de identificar uma pessoa, são a identificação genética, sexagem, datiloscopia (impressões digitais) e odontologia legal. Entretanto, a escolha do melhor método ou técnica vai de acordo com as condições de preservação do material biológico em análise, do tempo e do custo para a identificação (SCHUTKOWSKI *et al.*, 1987).

Nesse contexto, as técnicas de análise ou ferramentas analíticas modernas podem contribuir com a análise de material biológico degradado, redução de desperdícios de reagentes e do tempo de análise, alta sensibilidade de detecção de diferentes tipos de materiais, melhora no processo de análise, rotina laboratorial facilitada.

O perfil biológico de um indivíduo, especialmente nas etapas preliminares de uma investigação é extremamente relevante no processo de identificação do indivíduo. Os restos mortais são as principais fontes para a análise de perfil genético, sendo esta, a prática mais comum na identificação humana. No entanto, existe uma relação importante entre o tipo de amostra e o quanto é possível identificá-la, ou seja, o quanto um determinado equipamento é capaz de fornecer informação precisa desta determinada amostra (STEWART *et al.*, 2016).

As fontes dos materiais biológicos são: (I) ossada, cabelos, unhas e dentes, sendo estes o material mais durável, e (II) fluidos biológicos e impressão digital,

os materiais mais degradáveis do corpo humano. Ambos, I e II representam fontes potenciais únicas para investigação da identidade de um indivíduo, seja esta a vítima ou o suspeito (PILLI *et al.*, 2018).

As limitações encontradas nos restos mortais humanos são, a quantidade e a qualidade da amostra que dificultam o diagnóstico pelas técnicas e metodologias convencionais usadas pelos profissionais da área. Contudo, o uso das ferramentas analíticas modernas, pode possibilitar a esses diagnósticos resultados mais assertivos, quanto ao reconhecimento da identificação de sexo biológico, estimativa de idade e perfil genético dos indivíduos. Desta forma, pode-se também, auxiliar não apenas na identidade de vítimas e criminosos, mas também na elucidação de crimes não resolvidos (WATHERSTON *et al.*, 2018).

Os primeiros estudos datados desde 1980 na identificação humana, buscam encontrar metodologias e ferramentas analíticas confiáveis a serem aplicadas para este fim (HUNT; GLEISER, 1955). A confiabilidade em um estudo deve ser expressa acima de 80%, porém, para fornecer discriminação absoluta na prática forense, resultados abaixo dessa porcentagem devem ser seguidos por outra análise confirmatória (CAPITANEANU *et al.*, 2017).

Diante do exposto, o desenvolvimento de metodologias e o emprego de ferramentas analíticas modernas na identificação do indivíduo ou do sexo biológico, mostra-se cada vez mais necessário. Ainda que, estudos apresentem bons resultados com a taxa de sucesso satisfatória, por outro lado, também revelam ser necessárias novas metodologias e técnicas atualizadas que auxiliem no diagnóstico de resultados definitivos e seguros (MURUGANANDHAN *et al.*, 2009).

Muitos esforços têm sido empregados pelos órgãos governamentais, como Departamentos de Polícias e Academias Científicas, face ao universo científico de países detentores de técnicas analíticas modernas, estrutura tecnológica, em estágio progressista no sentido de melhores condições de acesso e recursos humanos, destinados à identificação de restos mortais (RODRIGUES *et al.*, 2021).

2. JUSTIFICATIVA

Estudos sobre a identificação humana estão recebendo maior atenção nos últimos anos, devido principalmente aos casos de desastres naturais e crimes contra a vida. A geração de perfis genéticos confiáveis a partir de amostras biológicas desconhecidas, torna a prática laboratorial e o fornecimento dos resultados, um programa robusto de identificação por DNA forense. Portanto, mais estudos são necessários, para contribuir na elucidação dos milhares de casos de restos mortais humanos não identificados (CUBERO *et al.*, 2012).

Considerando as limitações quanto ao reconhecimento da identidade do indivíduo, existe a necessidade de maiores investimentos e/ou novas estratégias para obter resultados com maior rapidez e precisão na investigação de crimes contra a vida (MASON *et al.*, 2019). O perfil biológico de um indivíduo, especialmente nas etapas preliminares de uma investigação é extremamente importante no processo de identificação humana. Neste contexto, geralmente as metodologias utilizadas atualmente no Brasil são: antropologia, datiloscopia e análise por DNA, sendo a datiloscopia a metodologia mais utilizada no mundo (CUBERO *et al.*, 2012).

Nos métodos antropológicos são utilizadas medições de ossos para estimativa de idade e estimativa de sexo, por meio de variáveis métricas, não métricas e análises bioquímicas. Este método, envolve medições nas dimensões máximas e mínimas que se baseiam em detalhes arqueológicos para avaliar as diferenças de tamanho e formas entre o sexo biológico e idade. As diferenças são vistas baseadas em padrões gerais, dependendo do grau e da qualidade do dimorfismo sexual naquele osso ou região anatômica. Durante o ensaio o profissional deve determinar o sexo biológico, estimar a idade, estatura e o biótipo, sendo uma metodologia limitada, quanto a identidade do indivíduo (STEWART *et al.*, 2016; TURINGAN *et al.*, 2016).

A datiloscopia é o método que utiliza a impressão digital, que tem como objetivo encontrar o padrão único do indivíduo, sendo este padrão capaz de obter a identidade de uma pessoa. Esta metodologia se torna útil quando as digitais do indivíduo estão em perfeito estado, dessa forma, é possível realizar a leitura

dos padrões e determinar a identidade. A leitura das digitais é realizada por meio de um software e encaminhada a um banco de dados que contém informações das impressões digitais das pessoas que possuem Registro de Identificação (RG) no Brasil (SHARMA *et al.*, 2020).

Contudo, quando se tem à disposição, apenas, fragmentos de materiais biológicos desconhecidos, não é possível analisar a identidade do indivíduo por meio de antropologia e dactiloscopia. Sendo necessário então, a utilização de ferramentas analíticas modernas para chegar à identificação por DNA ou sexagem do indivíduo (WATHERSTON *et al.*, 2018). Portanto, são extremamente requeridas ferramentas que estejam aliadas a baixo custo e facilidade de inclusão nas rotinas laboratoriais, para a resolução célere de casos de identificação de pessoas (CUBERO *et al.*, 2012).

A relação entre o tipo e a quantidade da amostra, é de extrema importância para a identificação humana. A capacidade que o equipamento tem de fornecer informações precisas e detalhadas da amostra, são fatores que devem ser levados em consideração, pois, poderão auxiliar nas rotinas laboratoriais dos profissionais atuantes nas áreas de identificação humana (FREITAS, 2004).

Frente a esta realidade, as condições que os vestígios podem ser encontrados trazem ainda mais dificuldades nas análises de rotinas dos laboratórios. Portanto, a escolha mais assertiva da ferramenta e metodologias podem tornar a investigação ainda mais promissora, na busca do perfil de DNA ou na estimativa do sexo biológico, feminino ou masculino (STEWART *et al.*, 2016).

Nesse sentido, esta Revisão Sistemática apresenta fortes justificativas, uma vez que os órgãos responsáveis pela identificação humana, dispõe das ferramentas promissoras para fornecerem resolução aos milhares de crimes contra a vida. As contribuições relacionadas à pesquisa estão embasadas na proposta de indicar novos rumos para futuras investigações na identificação humana. Sendo assim, promover o auxílio por meio das ferramentas analíticas modernas e novos métodos de preparo de amostras, com o propósito de auxiliar e compor a rotina laboratorial dos profissionais da área de identificação humana.

Nesse contexto, na atual Revisão Sistemática, abordamos assuntos relacionados às ferramentas analíticas modernas para a identificação humana, e também ao auxílio da elucidação de crimes contra a vida. Sendo então, o principal objetivo desta revisão, a utilização de ferramentas analíticas conclusivas, que sejam capazes de identificar o indivíduo ou a sexagem com apenas um resto mortal. Este estudo tem também por objetivo, difundir as ferramentas analíticas mais versáteis, facilitando o emprego nas rotinas laboratoriais, a fim de contribuir no auxílio da identificação de restos mortais humanos aos profissionais da área.

3. OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Explorar e avaliar um conjunto de conceitos de estudos que usaram ferramentas analíticas modernas, com a finalidade de demonstrar a capacidade que estas desempenham na identificação de restos mortais humanos.

1.2 Objetivos específicos

- Reunir e avaliar aspectos de ferramentas analíticas modernas e metodologias de preparo de amostras na identificação de restos mortais humanos;
- Indicar quais ferramentas analíticas modernas são capazes de realizar a identificação de restos mortais de humanos;
- Demonstrar a necessidade de pesquisas futuras para a identificação humana no Brasil.

4. REVISÃO DE LITERATURA

1.3 Crimes contra a vida

Os crimes contra a vida conforme a Lei 8072/1990, da Constituição Federal são: crimes hediondos (tortura; tráfico de drogas; terrorismo; homicídio; homicídio qualificado; latrocínio; extorsão qualificada pela morte; extorsão mediante sequestro e na forma qualificada; estupro; atentado violento ao pudor; epidemia com resultado morte; genocídio; falsificação; corrupção ou alteração de produto destinado a fins terapêuticos ou medicinais e genocídio), desastres naturais e desaparecimentos (BRASIL, 2016)

A Política Nacional de Busca de Pessoas Desaparecidas na Lei 13.812/2019 define pessoa desaparecida como *“todo ser humano cujo paradeiro é desconhecido, não importando a causa de seu desaparecimento, até que sua recuperação e identificação tenham sido confirmadas por vias físicas ou científicas”*. Segundo o Anuário Brasileiro de Segurança Pública (ABSP), cerca de 203 pessoas desaparecem todos os dias no Brasil (BRASIL, 2019)

Os desaparecimentos são classificados de três formas: voluntário (fuga do lar devido a desentendimentos familiares, violência doméstica ou outras formas de abuso dentro de casa); involuntário (afastamento do cotidiano por um evento sobre o qual não se possui controle, como acidentes ou desastres naturais) e forçado (sequestros realizados por civis ou agentes de Estados autoritários). Este último é o mais assustador para as famílias e entre os motivos para este tipo de desaparecimento estão as redes de pedofilia, tráfico de órgãos, prostituição e escravidão moderna (NEUMANN *et al.*, 2010).

O número de desaparecimentos em todo o Brasil no ano de 2017, de acordo com dados do Fórum Brasileiro de Segurança Pública, foi de 82.684 desaparecimentos, um aumento significativo se comparado ao ano de 2016 que foram registrados 81.176 desaparecidas (ABSP, 2018). Em 2018, foram 82.094 casos, sendo contabilizados 39,4% desaparecimentos para cada grupo de 100 mil pessoas. Em 2019 foram registrados 76.608 casos de desaparecidos e

62.852 casos em 2020. Somente no estado de São Paulo, foram registrados 24.368 desaparecimentos, de acordo com o Ministério Público (MP). Desse total, 215 eram crianças de 0 a 7 anos, 1.035 eram crianças de 8 a 12 anos e 7.255 eram adolescentes. Isso representa 8.505 crianças e adolescentes, um terço do total de desaparecidos no estado (ABSP, 2022). De acordo com o ABSP em 2021, a taxa de desaparecimento aumentou 3,2%, totalizando 65.225 boletins de ocorrência, sem contar os dados subnotificados. No Brasil, ao menos 369.737 casos de desaparecimentos foram notificados nos últimos cinco anos, sendo em média 203 ocorrências diárias. O ABSP se baseia em informações fornecidas pelas Secretarias de Segurança Públicas Estaduais, Tesouro Nacional, Polícias Civil, Militar e Federal, entre outras fontes oficiais da Segurança Pública (ABSP, 2022).

Os Estados com maior taxa de desaparecimento por 100 mil habitantes no ano de 2021, foram: Distrito Federal (67,2%), Rio Grande do Sul (55,6%), Rondônia (54,2%), Mato Grosso (53,7%), Paraná (49,0%), Mato Grosso do Sul (43,0%), Espírito Santo (42,4%), São Paulo (37,2%). Estes dados são baseados nas Secretarias Estaduais de Segurança Pública e/ou Defesa Social; Secretarias Estaduais de Justiça e/ou Cidadania; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); Fórum Brasileiro de Segurança Pública (ABSP, 2022).

O Brasil atingiu o ápice de Mortes Violentas Intencionais (MVI) em 2017 chegando à 30,9% casos de MVI para cada grupo de 100 mil habitantes. No ano de 2021, foram registrados no Brasil 22,3% de MVI, redução de 6,5% dessa taxa em relação ao ano de 2020. As MVIs incluem, latrocínios (roubo seguida de morte), lesão corporal seguida de morte, homicídio doloso e mortes decorrentes de intervenções policiais, sendo definidas por fenômenos multicausais (ABSP, 2022).

O estupro é um dos tipos de violências sexual, sendo um dos mais brutais atos de violência, humilhação e controle do corpo de outro indivíduo. Conforme as atualizações do Anuário de Segurança Pública do Brasil, houveram 60.926 registros de violência sexual em 2020, sendo que 16.047 são de estupro e 44.879 de estupro de vulnerável, esses dados são provenientes das ocorrências registradas pela Polícia Civil no ano de 2020. O percentual de vítimas com 0 a 9

anos foi registrado com 32,5% em 2018 e 40% em 2019. As vítimas com 13 anos ou menos subiu de 70% em 2019, para 77% em 2020, ou seja, as vítimas de estupro no Brasil crescem anualmente. Além da violência sexual, a violência física é uma problemática que atinge crianças e adolescentes diariamente; podendo levar a morte. No Brasil, mais de 170 crianças de 0 a 4 anos foram mortas de forma intencional (ABSP, 2022).

Os registros de desastres naturais no Brasil causaram muitos prejuízos, ultrapassando R\$ 341,3 bilhões, segundo a Confederação Nacional de Municípios (CNM). Os danos causados não são apenas financeiros, mas também de registros de milhares de casos de vítimas fatais. Nos últimos anos o Brasil registrou várias tragédias como, os deslizamentos de terras ocorridos no litoral paranaense em 2022, Brumadinho (2019) e Mariana (2015).

1.4 Amostras Biológicas

As amostras e os vestígios coletados são o conjunto de processos que envolve a investigação criminal. As etapas devem ser criteriosamente documentadas para garantir a idoneidade e a rastreabilidade. A amostra biológica humana proveniente das investigações criminais, podem ser: dentes, ossada, manchas de sangue, unha, pelos e fluido corporal (sêmen, secreções vaginais e saliva) e podem ser provenientes de crimes hediondos, desaparecimentos e desastres naturais. As amostras do tipo fluídos corporais, podem ser analisadas por diferentes testes, e alguns deles são testes de confirmação que irão identificar de forma conclusiva a sua presença, e ainda existem os testes presuntivos (VIRKLER *et al.*, 2009). Os marcadores epigenéticos (alterações não genéticas, herdáveis e reversíveis que ocorrem na expressão genica,) produzem padrões únicos e específicos de metilação do DNA, que pode ser usado para identificar os tipos de fluidos corporais (FRAGA *et al.*, 2005; CORDERO *et al.*, 2015; LARDENOIJE *et al.*, 2015)

As circunstâncias nas quais a identificação humana se faz necessária são: catástrofes (guerras, incêndios, acidentes aéreos, naufrágios e inundações), homicídios com secção de partes corpóreas, sepultamentos em covas rasas e clandestinas (JOBIM, 2018). Na maioria das vezes, quando a amostra é localizada já se passaram meses desde o crime ocorrido, gerando amostras complexas. Nessa situação, a identificação é dificultada, pois o material biológico pode ter sofrido diversas perdas, devido a diferentes fatores (MATOS *et al.*, 2017).

Os fatores que podem levar a degradação da amostra biológica em cenas de crimes e/ou desaparecidos estão associados à exposição solar, temperatura, iluminação, solo, ar, poluição, sujidades, água, produtos químicos e o fator de exposição (tempo). Em casos de desastres naturais os maiores fatores relacionados aos danos às amostras biológicas são, lama, água, destroços, temperatura e o tempo (ANDERUNG *et al.*, 2008; WADSWORTH *et al.*, 2017).

As cenas dos crimes na maioria das vezes apresentam situações extremas, devido à exposição das amostras à contaminação e degradação. Portanto, a

atenção no manejo e no armazenamento da amostra é de fundamental importância na garantia da confiabilidade dos resultados (STRYCHALSKI *et al.*, 2013). Sendo, o DNA o material mais requerido nas investigações, pois pode fornecer as características genéticas do indivíduo, portanto, a cautela se faz necessária para a preservação do material (CARVALHO *et al.*, 2009).

Nesse sentido, as ferramentas analíticas modernas e implementação de novas metodologias poderão auxiliar também na resolução de casos que não podem ser resolvidos, devido às dificuldades e limitações relacionadas às análises de amostras complexas por meio das metodologias convencionais.

1.5 Bancos de Dados

Os bancos de dados nas áreas investigativas são ferramentas que armazenam informações de vítimas e de criminosos, e possibilitam o gerenciamento de dados e identificação dos indivíduos cadastrados. A utilização dos bancos de dados como recursos de bioinformática na investigação criminal, é atualmente utilizada em diversos países, destacando-se os bancos de dados, europeu, canadense e estadunidense (BONACCORSO *et al.*, 2010).

A Espanha foi o primeiro país a introduzir o sistema de bancos de DNA para identificação de pessoas desaparecidas. O Canadá introduziu o banco nacional de DNA, que utiliza dois principais arquivos, o perfil de DNA de cenas de crimes e o perfil de indivíduos condenados. O Estados Unidos da América (EUA) introduziu o CODIS - do inglês, *Combined DNA Index System*, sendo este, o banco de dados genético que permite a comparação de perfis entre laboratórios oficiais, monitorado pelo *Federal Bureau of Investigations* (FBI) (BONACCORSO *et al.*, 2010; IWAMURA *et al.*, 2003). O Brasil, introduziu o sistema CODIS no ano de 2010, a Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos (RIBPG), foi criada para manter, compartilhar e comparar perfis genéticos, com a finalidade de ajudar na apuração criminal e/ou na instrução processual.

As ferramentas mais promissoras para fornecer resolução aos milhares de casos de crimes contra a vida estão relacionados aos bancos de dados genéticos. A identificação de pessoas desaparecidas é um exemplo das utilizações dos bancos de dados. Neste contexto, perfis de restos mortais não identificados são confrontados com perfis de familiares ou de objetos pessoais do desaparecido. O banco de dados é descrito e registrado na LEI Nº 12.654/12 da Constituição Federal, descrita a seguir (BRASIL, 2022).

“Art. 5º Os dados relacionados à coleta do perfil genético deverão ser armazenados em banco de dados de perfis genéticos gerenciado por unidade oficial de perícia criminal.

§ 1º As informações genéticas contidas nos bancos de dados de perfis genéticos não poderão revelar traços somáticos ou comportamentais das

peessoas, exceto determinação genética de gênero, consoante as normas constitucionais e internacionais sobre direitos humanos, genoma humano e dados genéticos.

§ 2º Os dados constantes dos bancos de dados de perfis genéticos terão caráter sigiloso, respondendo civil, penal e administrativamente aquele que permitir ou promover sua utilização para fins diversos dos previstos nesta Lei ou em decisão judicial.

§ 3º As informações obtidas a partir da coincidência de perfis genéticos deverão ser consignadas em laudo pericial firmado por perito oficial devidamente habilitado.

“Art. 9º-A Os condenados por crime praticado, dolosamente, com violência de natureza grave contra pessoa, ou por qualquer dos crimes previstos no art. 1º da Lei no 8.072, de 25 de julho de 1990, serão submetidos, obrigatoriamente, à identificação do perfil genético, mediante extração de DNA -- ácido desoxirribonucleico, por técnica adequada e indolor”.

§ 1º A identificação do perfil genético será armazenada em banco de dados sigiloso, conforme regulamento a ser expedido pelo Poder Executivo.”

A implementação dos bancos de dados genéticos torna possível a comparação entre o perfil do indivíduo e as amostras biológicas provenientes dos restos mortais humanos (MATOS *et al.*, 2012). Este sistema, o qual serve para realizar buscas, cruzamento e armazenamento de informações, é considerado uma ferramenta eficaz, uma vez que, pode ser composto por diferentes tipos de arquivos, como dados de criminosos, desaparecidos, desastres naturais, entre outros. Os bancos de dados genéticos são de fundamental importância, devido ao fornecimento de provas cientificamente confiáveis, que auxiliam na elucidação de casos (MENEZES *et al.*, 2012; MATTANA *et al.*, 2012).

1.6 Identificação humana parcial e/ou conclusiva do indivíduo

1.6.1 Identificação humana parcial

A identificação humana parcial pode ser realizada a nível de sexagem e estimativa de idade do resto mortal do indivíduo. Os estudos relacionados às identificações parciais envolvem amostras complexas, que nem sempre permitem identificar o perfil de um indivíduo (ESPÍDURA *et al.*, 2006).

Nesse contexto, Black (1978) analisou vinte medidas mesodentais e bucolinguais de 133 coroas de dentes decíduos de crianças para obter características dimórficas sexuais e poder realizar a discriminação do sexo. A análise trouxe resultados entre 63,9 a 67,7% para a possibilidade de diferenciação biológica, em que apenas 15 das 20 medições mostrou a possibilidade de discriminação.

Loth e Henneberg (2001), usaram a mandíbula de sete amostras masculinas e 12 femininas, entre a idade do nascimento até os 19 anos. Nessa pesquisa foram atribuídos alguns critérios que puderam definir apenas para indivíduos acima da faixa de seis anos, devido às alterações notadas na fase transitória para a idade adulta. Pode se concluir, que a estimativa do sexo das amostras obteve taxa de 89%.

Luna e colaboradores (2017), avaliaram a superfície do osso ilíaco subdoto de 34 indivíduos, sendo, 21 do sexo feminino e 13 do sexo masculino, com idades entre sete e 18 anos, da Universidade de Coimbra, especificadamente da coleção de Esqueletos de Identificação de Coimbra. Concluiu-se que, a forma da área anterior da superfície auricular do osso ofereceu dados mais dimórficos, obtendo 82,35% das amostras femininas e 88,23% das amostras masculinas. Entretanto, para que possa aumentar a sensibilidade dessa análise é necessária avaliar outros indicadores, para se obter resultados mais próximos a 100%.

Stewart e colaboradores (2016), defendem a possibilidade de identificar vários peptídeos da sequência de amelogeninas por espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS, do inglês *nanoLiquid Chromatography*

nanoelectrospray ionization – linear ion trap - Orbitrap Mass Spectrometry, usando apenas cromossomo X ou cromossomo Y, através de um acondicionamento com ácido no esmalte de dentes de forma individual, possibilitando desta forma a identificação do sexo biológico do indivíduo.

Lin (2018), avaliou os efeitos da idade da mancha de sangue, usando a Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR FT-IR - *do inglês, Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance*). Dois modelos de classificação de análise discriminatória por mínimos quadrados parciais foram aplicadas. Estes modelos demonstraram discriminação total entre as classes de: humanos, mamíferos e aves, e ainda, informações a sobre a idade e o sexo. Os resultados das manchas de sangue, por meio dessa ferramenta analítica aliada a análises multivariadas, foram possíveis a identificação de forma parcial.

Thornton e colaboradores (2021) usaram a ferramenta de PCR para analisar amostras ósseas de restos mortais fetais. Este estudo, demonstrou que a técnica é aplicável para a identificação a nível de sexo biológico de bebês que foram abandonados na África do Sul, a partir de 25 mg de fragmentos ósseos.

Scano e colaboradores (2013), usaram a Ressonância Magnética Nuclear (NMR - *do inglês, Nuclear Magnetic Resonance*), para a avaliação da impressão digital de metabólitos de fluidos corporais em ciências forenses. Esta é uma ferramenta analítica considerada válida, rápida e não destrutiva, utilizada com o objetivo de enfrentar os desafios da identificação humana. Este estudo se mostrou reprodutível na identificação de indivíduos.

1.6.2 Identificação humana conclusiva

A identificação humana conclusiva pode ser entendida como o conjunto de informações que individualizam uma pessoa. Os estudos relacionados são o processo que se determina a identidade de uma pessoa, ou um conjunto de características com a finalidade de estabelecer a identidade do indivíduo. A identificação no âmbito criminal pode ser determinada através da íris, impressão digital ou o DNA, ou ainda não conclusivas como tatuagens e marcas (SIEGEL, J., KNUPFER, G. e SUUKKO, 2000). Sendo que a identificação conclusiva pode ser realizada por arcada dentária, impressões labiais, desenho dos seios faciais, íris, impressões papilares (digitais, plantares e palmares), desenho do palato, DNA (ESPÍDURA *et al.*, 2006).

Nesse contexto, Stepanov e colaboradores (2016), propuseram um painel de marcadores polimórficos para identificação de DNA com base em genotipagem multiplex, utilizando a Reação em Cadeia Polimerase (PCR - do inglês, *Polymerase Chain Reaction*) e a Espectrometria de Massas com fonte de ionização do tipo dessorção à laser assistido por matriz e analisador por tempo de voo (MALDI/TOFMS - do inglês, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry*). Este estudo utilizou ferramentas analíticas convenientes para a identificação de DNA individual, o painel proposto pode ser utilizado não apenas para identificação individual, mas também em casos de parentesco.

1.7 Avanço no desenvolvimento de novas metodologias no preparo de amostras e aplicações de ferramentas analíticas modernas na identificação humana

As metodologias de análise atualmente utilizadas na identificação humana passaram por diversas atualizações, com a finalidade de facilitar a análise e potencializar a confiabilidade do método. No entanto, a escolha do melhor método, técnica e ferramenta, vão de acordo com, o custo de análise, das condições de preservação do material biológico e do tempo para alcançar a identificação (SCHUTKOWSKI, 1987).

O método preliminar mais utilizado no Brasil atualmente é a datiloscopia, este, fornece a identificação humana por meio das impressões digitais. Entretanto, em casos que não é possível a coleta da impressão digital, os métodos alternativos são, a odontologia legal (análises métricas e visuais) ou métodos genéticos por DNA (SHARMA *et al.*, 2020).

O desenvolvimento dos métodos genéticos utilizados para identificar humanos foi marcado pelo uso de ferramentas analíticas individuais. Dentre elas, destaca-se a análise de Polimorfismos de Minissatélites, por Alec Jeffreys, em 1985; o Sequenciamento de moléculas de DNA, por Frederick Sanger, em 1977; e a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR - do inglês *Polymerase Chain Reaction*), de Kary B. Mullis, em 1983 (MULLIS, 1983; SAIKI *et al.*, 1985).

A PCR consiste na amplificação “*in vitro*” de uma região específica do DNA com a finalidade de aumentar o número de cópias a fim de reproduzir diferentes tipos de análises. Esta técnica evoluiu para a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo-Real (qPCR - do inglês, *Polymerase Chain Reaction Real-Time*) a qual permite que a amplificação e a detecção ocorram de forma simultânea, ou seja, permite que os resultados sejam observados durante a amplificação da sequência de interesse (MULLIS, 1983).

A utilização de métodos confiáveis para a identificação humana, sempre foi uma necessidade dos órgãos governamentais e um apelo da sociedade. As ferramentas analíticas citadas tornaram a identificação humana mais

promissora, se comparada a métodos de impressão digital e identificações por antropologia. Estes, que geralmente usam análises métricas de ossada (pelve, crânio, sacro, escápula, clavícula, esterno, úmero e fêmur), para estimativa de idade e de sexo, não são capazes de identificar o indivíduo a nível genético (ARAÚJO *et al.*, 2007).

Nesse contexto, existe a necessidade de usar ferramentas analíticas que sejam capazes de identificar restos mortais humanos, minimizando os danos ao meio ambiente, obtendo resultados de análise em tempo reduzido, e ainda, que possuam fácil implementação nas rotinas laboratoriais (JOBIM *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2022).

5. MÉTODOS

A Revisão Sistemática deste estudo foi baseada nas normas internacionais da colaboração da Cochrane, do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). A pesquisa foi realizada de acordo com os passos a seguir:

Passo 1: Formulação da questão de revisão.

Passo 2: Critérios de elegibilidade.

Passo 3: Estratégia de busca.

Passo 4: Escolha das bases de dados e as respectivas buscas.

Passo 5: Leitura dos títulos e resumos.

Passo 6: Leitura na íntegra dos estudos selecionados.

Passo 7: Extração dos dados.

Passo 8: Interpretação dos resultados.

1.8 Visão geral

A ligação triangular entre, propósito-conteúdo-efetividade serve como referencial teórico deste estudo. Esta, irá corroborar em futuras pesquisas como, no avanço do desenvolvimento de metodologias no uso de Ferramentas Analíticas modernas, para o avanço na identificação humana. Assim como, auxiliar na identificação humana para a resolução de problemas públicos que afetam a sociedade.

As ferramentas analíticas vão além do propósito de elucidar casos de desaparecidos e crimes hediondos. Sendo então, o primeiro objetivo desta revisão sistemática, a busca pelo uso de ferramentas analíticas conclusivas, capazes de identificar um indivíduo com apenas restos mortais.

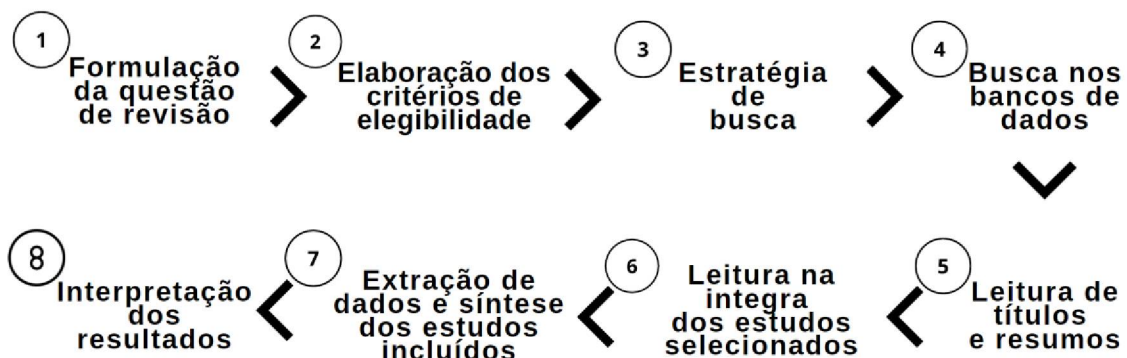
O conteúdo deve difundir o maior número de metodologias na identificação humana através das ferramentas analíticas modernas, versáteis e promissoras. Estas, podem possibilitar as seguintes vantagens fácil inclusão nas rotinas laboratoriais; menores quantidades de reagentes tóxicos produzidos no preparo das amostras e laudos coerentes, independentemente da quantidade ou qualidade das amostras, bem como custo benefício.

A efetividade é o grau em que um objetivo identificado é alcançado e, portanto, a finalidade desta revisão sistemática foi buscar protocolos de estudos assertivos por meio do uso das ferramentas analíticas modernas e promissoras. As ferramentas permitirão identificar amostras complexas, a fim de fortalecer os recursos já existentes nos laboratórios dos profissionais especialistas e tornar célere a resolução dos casos de identificação humana.

Esta Revisão Sistemática é caracterizada por estratégias de busca estruturada que poderá permitir outros pesquisadores reproduzirem a pesquisa de estudos, cuja finalidade é discutir e desenvolver um cenário de conhecimento para enriquecimento de um assunto específico. No caso desta pesquisa abordamos a necessidade de políticas públicas para auxílio na investigação da identificação de restos mortais humanos.

O processo da revisão sistemática envolve identificar todos os estudos de forma criteriosa e também avaliar criticamente a síntese dos achados. Para o desenvolvimento desta revisão sistemática, levou-se em consideração as recomendações do documento PRISMA, que estabelece os critérios e a forma de tratamento correto dos dados obtidos pelas buscas. A figura 1 a seguir ilustra as etapas dessas recomendações e em seguida, as devidas considerações de cada uma delas (VOSGERAU *et al.*, 2014).

FIGURA 1 - ETAPAS DA REVISÃO SISTEMÁTICA SEGUNDO O PRISMA PARA O USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA IDENTIFICAÇÃO HUAMNA



Fonte: Autor 2023, adaptado de *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA)* (VOSGERAU *et al.*, 2014).

1.8.1 Passo 1: Formulação da questão de revisão.

Na construção desta revisão sistemática, foram utilizados artigos e teses acadêmicas especializadas no assunto exposto. O levantamento bibliográfico foi realizado através das seguintes bases de dados, PubMed, Scopus e Web of Science, entre os anos de 2012 a 2022. Também foram utilizados materiais bibliográficos publicados anteriormente a esse período (ano de 2012 a 2022) no corpo desta dissertação, com a justificativa de se tratarem de trabalhos importantes na fundamentação do tema em questão. Os critérios para estratégia da pesquisa seguem a declaração PICO, uma metodologia auxiliadora para construção dos vieses de pesquisa, expostos na tabela 1 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A pergunta da pesquisa, consiste na problemática apresentada pela sociedade, onde o autor se propõe a responder, e, portanto, é o centro que guiará os demais passos deste estudo. Conforme recomendado pela Colaboração da Cochrane é necessário delinear a identificação do problema ou questão de pesquisa, sendo uma das estratégias inicial para a construção da revisão sistemática (<https://brazil.cochrane.org/>).

No auxílio da formulação da pergunta, usou-se a estratégia PICO (TABELA 1), que consiste na seguinte sugestão: P (População ou problema de interesse); I (intervenção/indicador); C (comparação ou controle); O (desfecho/*outcome*). A presença desses elementos conduziu a elaboração da pergunta que guiou esta revisão, de modo que, a intervenção e o controle, não se aplicaram na mesma, pois não se trata de um estudo com participantes vivos (VOSGERAU *et al.*, 2014).

TABELA 1 - DESCRIÇÃO DA ESTRATÉGIA PICO UTILIZADA NA REVISÃO SISTEMÁTICA

Acrônimo	Critério	Descrição do critério
P	População	Vítimas de crimes, desaparecimentos e desastres naturais ou não naturais.
I	Intervenções	Ferramentas analíticas modernas capazes de identificar restos mortais humanos.
C	Controle ou comparação	Estudos experimentais de intervenção; Taxas de identificação.
O	Desfecho/ <i>outcomes</i>	(i) Quantidade e qualidade da amostra, (ii) Ferramenta analítica utilizada; (iii) Identificação da sexagem ou perfil do DNA; (iv) Protocolos que não comprometem a integridade da amostra.

Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: Na TABELA 1 estão descritas as estratégias para elaboração desta revisão sistemática segundo o PICO.

As perguntas que nortearam esta revisão foram, “Qual ferramenta analítica possui a capacidade de identificação conclusiva e/ou parcial um resto mortal humanos?”.

1.8.2 Passo 2: Critérios de elegibilidade.

A pesquisa incluiu toda literatura internacional sem exclusões geográficas. Apenas os artigos empíricos foram selecionados para esta revisão sistemática, artigos de opinião foram excluídos. No entanto, não foram introduzidas restrições de metodologias ou desenho do estudo, para oferecer uma visão mais ampla, permitindo apresentar uma variedade de estudos extensivos, abrangendo a eficácia na identificação humana. Uma vez que foram incluídos apenas as ferramentas analíticas modernas, expostas em estudos publicados entre os anos de 2012 e 2022.

Estudos de inclusão são aqueles que introduziram ensaios com diversos tipos de amostras de restos mortais humanos, abrangendo as diferentes metodologias e ferramentas analíticas aliadas ou não a ferramenta estatística, utilizadas para analisar amostras forenses, desde a mais específica até a mais multifuncional.

Os estudos excluídos foram publicações que apresentavam caráter de relato de casos; a identificação de animais; a identificação de drogas e a identificação de composições químicas presentes em cadáveres. Os artigos de critérios de exclusão, como estudos de opinião, foram desconsiderados por meio de filtros adaptados na estratégia de busca.

Apesar do uso desses critérios de inclusão e exclusão foram encontrados artigos relacionados, tais como, (i) a identificação da causa da morte e não a identificação do indivíduo em si, (ii) identificação de substâncias químicas e tóxicas presentes em vítimas e (iii) outros artigos fora do escopo, (diferenciação de animais e humanos) que se fizeram presentes nos resultados das buscas, o que explica o número de artigos excluídos (8.122) na primeira fase da seleção.

As etapas que constituem a seleção dos estudos identificados, seguem o processo de triagem dos critérios pré-estabelecidos. Os estudos que não obedeceram aos critérios de elegibilidade foram excluídos, enquanto, os estudos incluídos, foram indicados e lidos.

1.8.3 Passo 3: Estratégia de busca.

A estratégia de busca foi desenvolvida de acordo com as características de cada banco de dados, utilizando-se descritores relacionados à identificação humana e ferramentas analíticas, vinculando-os aos operadores booleanos, quando necessário. A elaboração dessas estratégias, considerou os termos definidores relacionados a siglas, sinônimos e ortografia, que foram combinados a operadores booleanos como: "OR" (um ou outro descritor), "AND" (contêm apenas determinados descritores) e "NOT" (exclui descritores), com o intuito de eliminar ou ampliar a busca (ATALLAH, *et al.*, 2002).

As seguintes palavras-chave e operadores booleanos foram usados para pesquisar artigos relevantes: [forensic medicine OR body remains OR person identification] AND [analytical tools]. Como esta pesquisa teve o foco na identificação de restos mortais humanos, decidimos adotar ressalvas nas palavras-chave para evitar estudos de identificação por mediação. Por exemplo, especificamos "forensic analysis" e "forensic medicine" e excluímos "anthropology", "toxicology" e "electrophoresis", uma vez que os artigos estavam associados a toxicologia forense e não à identificação dos restos mortais humanos.

1.8.4 Passo 4: Escolha das bases de dados e as respectivas buscas.

A criação da estratégia de busca, iniciou com a escolha das bases de dados por serem ferramentas de pesquisa unificadora que permite adquirir, analisar e disseminar informações, que oferece acesso às publicações nas áreas biomédicas e forenses.

Os estudos científicos foram identificados por meio das estratégias de busca, nas seguintes bases de dados: PubMed, Scopus e Web of Science. Estas bases de dados foram escolhidas por apresentarem recursos disponíveis por 24 horas por dia, e pelo fato de serem acessadas gratuitamente de qualquer lugar, desde que se tenha acesso à internet.

O gerenciamento das referências e extração de dados foi realizado com o auxílio do Microsoft Excel (2019) e gerenciador de referências o Mendley®, na versão atualizada do ano de 2022.

1.8.5 Passo 5: Leitura dos títulos e resumos.

Após o levantamento dos resultados das bases de dados, seguiu-se pela leitura prévia dos títulos e resumos, a fim de eliminar os estudos que não foram significativos e selecionar os artigos que estavam de acordo com os critérios de elegibilidade. Nessa etapa foram cortados 207 estudos, dos 8.145 artigos encontrados, estes foram excluídos através da leitura dos títulos, pois não corresponderam aos critérios estabelecidos.

Na seleção por meio da leitura dos resumos, o resultado foi de 601 artigos indicados, nessa fase foi considerado, o tipo de amostras analisadas, a finalidade da análise das amostras, o tipo de estudo e os respectivos resultados.

1.8.6 Passo 6: Leitura na íntegra dos estudos selecionados.

A avaliação dos termos de qualidade e extração dos dados de forma independente, foram realizados por dois avaliadores. Nessa etapa, os 601 artigos lidos na íntegra pelos três revisores de forma individual, foram avaliados quanto a qualidade metodológica com o objetivo de analisar as ferramentas analíticas e metodologias empregadas na pesquisa, bem como, os seus respectivos resultados propostos, ou seja, avaliar a confiança e a robustez dos dados apresentados pelos estudos. Nessa etapa, o resultado foi de 43 artigos selecionados.

Nos casos de discordância sobre quais estudos deveriam ser incluídos e quais deveriam ser excluídos, houveram reuniões de consenso com o terceiro avaliador, com o objetivo de decidir pela inclusão ou não do estudo em questão (BRENNERA *et al.*, 2003). Para medir o grau de concordância entre os avaliadores, foi elaborada uma tabela com as informações que deveriam constar nos artigos, em que os estudos foram resumidos e analisadas de forma breve e descritiva, a fim de padronizar e qualificar as metodologias e resultado dos estudos (VOSGERAU *et al.*, 2014).

1.8.7 Passo 7: Extração dos dados.

A extração dos dados foi realizada por meio de uma tabela discutida pelos revisores, com o objetivo de abordar os assuntos primordiais para a sintetização das informações apresentadas nos artigos selecionados. Nesta fase, foi levando em consideração a metodologia, o tipo de amostra, a qualidade e quantidade da amostra, a ferramenta analítica utilizada e o protocolo de preparo da amostra. Sendo então, realizada por cada um dos três revisores separadamente e, posteriormente, foram unificadas e discutidas para que se pudesse reunir os resultados encontrados.

1.8.8 Passo 8: Interpretação dos resultados.

Os 43 artigos selecionados, foram avaliados em termos de qualidade e foi realizada a extração dos dados pelos avaliadores. Nessa etapa os artigos lidos na íntegra, foram avaliados quanto às propriedades metodológicas, com o intuito de especificar as ferramentas analíticas modernas capazes de identificar ou propor a sexagem do indivíduo e resultados propostos, ou seja, avaliar a confiança e robustez dos dados apresentados.

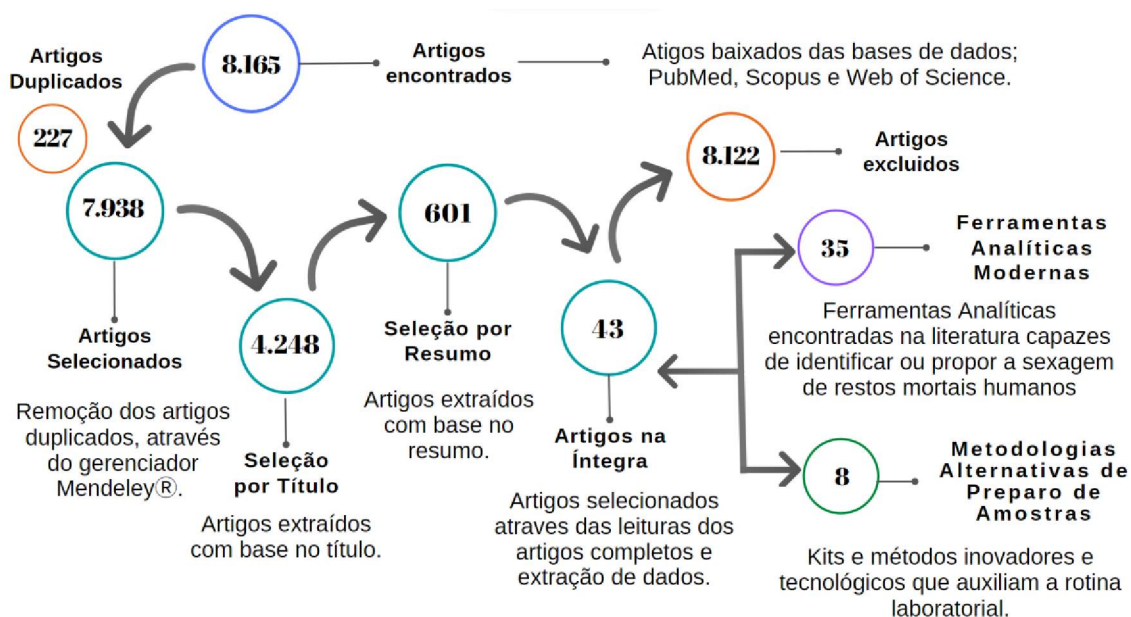
Nesta fase, os dados e resultados das pesquisas de cada um dos 43 estudos selecionados, foram expostos em forma de tabela, com o objetivo de unificar e sintetizar as principais características dos artigos e demonstrar o uso das ferramentas analíticas nas diversas amostras analisadas pelos autores.

1.9 Estudos selecionados

Os estudos encontrados apresentaram o total de 8.165 artigos, referentes aos resultados das três bases de dados. A remoção da duplicata foi realizada por meio da utilização do gerenciador de referências o Mendley®, na versão atualizada do ano de 2022. A ferramenta também possibilitou, a organização e o compartilhamento dos artigos baixados com os avaliadores, a realização de anotações e considerações no texto, e por último, permitiu remover as duplicatas provenientes da reunião dos resultados das bases de dados.

Os estudos foram baixados e lidos por três revisores, que seguiram os critérios de elegibilidade e indicaram qual pesquisa deveria fazer parte dos estudos selecionados. Os revisores fizeram discussões por intermédio de reuniões, a fim de abordar os pontos cruciais das pesquisas, e por fim selecionadas. A Figura 2, ilustra o resumo desse processo.

FIGURA 2 – ESTRATÉGIA DA REVISÃO SISTEMÁTICA PARA O USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS E METODOLOGIAS ALTERNATIVAS DE PREPARO DE AMOSTRAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA

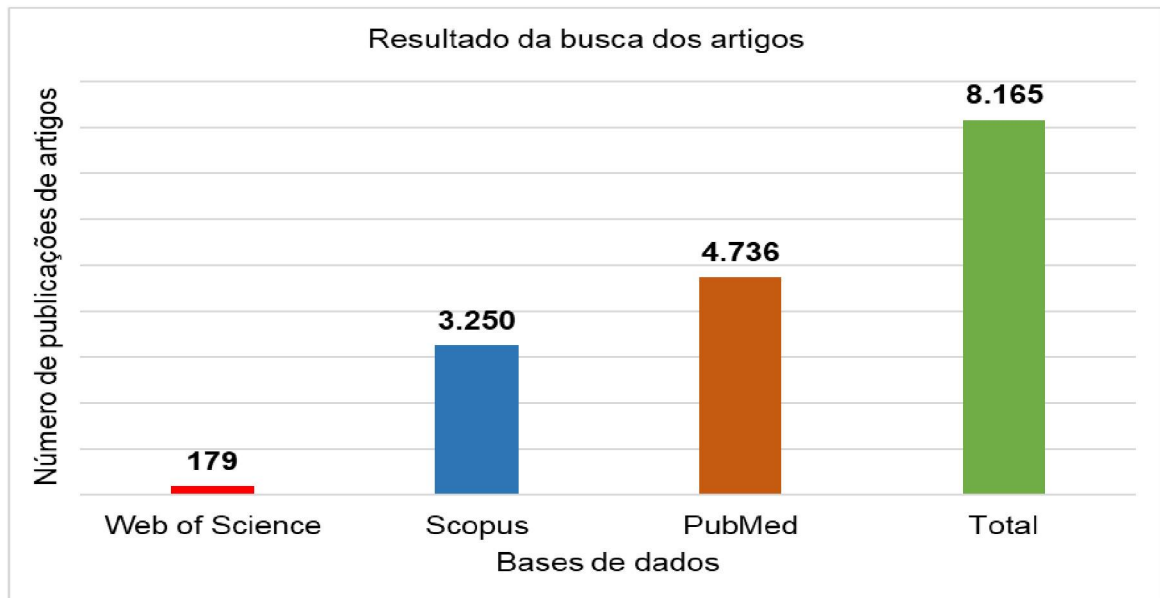


Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: FIGURA 2 – Descrição das etapas realizadas pelos três revisores durante a revisão sistemática.

No Gráfico 1 é detalhada a quantidade de artigos encontrados em cada uma das bases de dados. Após a eliminação das duplicatas, a busca resultou em 7.938 artigos, que foram gerenciados em planilhas com o auxílio do programa Microsoft® Excel (2019). A seleção dos artigos passou por algumas etapas que estão ilustradas na figura 2.

GRÁFICO 1 – QUANTIDADE DE ARTIGOS REFERENTES A IDENTIFICAÇÃO HUMANA POR FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS ENCONTRADOS NAS BASES DE DADOS



Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: GRÁFICO 1 – Número de publicações de artigos encontrados nas bases de dados, PubMed, Web of Science e Scopus, que foram formadas pelas estratégias de busca, compostas pelas palavras-chave, utilizando operadores booleanos, AND, OR e NOT. Os respectivos resultados foram: Web of Science com cento e setenta e nove artigos encontrados, Scopus com três mil duzentos e cinquenta artigos encontrados PubMed com quatro mil setecentos e trinta e seis artigos encontrados, totalizando oito mil cento e sessenta e cinco artigos encontrados nas respectivas bases de dados.

6. ANÁLISE E APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

1.10 Uso de ferramentas analíticas modernas na identificação humana

Os 43 estudos selecionados foram separados em dois grupos: Grupo 1, representado pelos artigos que apresentam ferramentas analíticas mais promissoras na identificação de restos mortais humanos [(Espectroscopia Imagem Hiperespectral (HI), Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR), Ressonância Magnética Nuclear (NMR), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Espectroscopia RAMAN e Espectrometria de Massas (MS)], apresentados na Tabela 2; Grupo 2, representado pelos artigos relacionados aos novos protocolos de preparo de amostras, que incluem kits e métodos inovadores e tecnológicos para auxiliar nas rotinas laboratoriais, apresentados na Tabela 3.

A descrição dos estudos apresentados, é referente aos artigos selecionados, comentados e discutidos pelos avaliadores, sendo, os resultados apresentados, a seguir, na forma de tabelas (TABELAS 1, 2 e 3). A construção das tabelas foi discutida pelos avaliadores, com a finalidade de expor nesta pesquisa, as informações e os resultados positivos presentes nas pesquisas que foram capazes de obter identificação humana conclusiva e/ou parcial.

Na Tabela 2, os estudos são explorados e descritos com a finalidade de especificar as ferramentas analíticas mais modernas, inovativas e promissoras, com potencial de detecção, e ainda, apresentar o desempenho da detecção da mesma na identificação dos restos mortais humanos. Apresentamos nesta seção, os estudos que foram selecionados de acordo com o objetivo do estudo, as amostras analisadas e as ferramentas analíticas modernas utilizadas para identificação dos restos mortais humanos.

TABELA 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS USADAS NA IDENTIFICAÇÃO HUAMANA

Nº	Autor, Ano	Proposta/Finalidade	Amostra	Ferramentas Analíticas
REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE - PCR				
01	Danaher <i>et al.</i> , 2015	Identificação forense de fluido/tecido corporal com base na hibridização, através do perfil de mRNA das amostras forenses	Sangue, sêmen, saliva, secreções vaginais e pele	Reação em cadeia da polimerase em Tempo-Real (qPCR)
02	Xu <i>et al.</i> , 2014	Desenvolvimento de sistema multiplex de mRNA, para identificação forense	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal e tecidos	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo-Real (qPCR)
03	Tao <i>et al.</i> , 2019	Desenvolvimento e validação de um painel de marcadores capazes de fornecer o perfil detalhado da amostra analisada	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, ossada, dentes	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
04	Kulstein <i>et al.</i> , 2018	Avaliação do perfil de DNA de pedaços de pano lavado com manchados de sangue e saliva	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo-Real (qPCR)

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

05	Foster <i>et al.</i> , 2012	Desenvolvimento de um protocolo de qPCR rápido que permite a geração de perfis de genotipagem de DNA	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, suor, saliva	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
06	DuVall <i>et al.</i> , 2017	Extração de DNA para identificação humana por métodos convencionais.	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, suor, ossos, dentes, cabelos e unhas	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
07	Satoh <i>et al.</i> , 2020	Detecção de antígenos presentes em amostras de sêmen para identificação	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, suor	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo-Real (qPCR)
08	Eskandarion <i>et al.</i> , 2019	Comparação entre métodos convencionais com métodos mais baratos, rápidos, altamente precisos e mais acessíveis	Sangue	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
09	Thornton <i>et al.</i> , 2021	Método de estimativa molecular do sexo otimizado para amostras ósseas	Ossada	Reação em cadeia da polimerase (PCR)
10	Pilli <i>et al.</i> , 2018	Investigação da possibilidade de usar ossos petrosos como elementos esqueléticos	Ossada	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

11	Kulstein <i>et al.</i> , 2018	Avaliação de ossos petrosos para a identificação humana de restos esqueléticos em trabalhos de casos forenses	Ossada	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
12	Gaballah <i>et al.</i> , 2013	Estimativa do sexo, comparação entre métodos métricos e genéticos	Ossada	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE - PCR e ESPECTROMETRIA DE MASSAS - MS				
13	Stepanov <i>et al.</i> , 2016	Análise de perfil de DNA e diversidade populacional	Material biológico	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), análise de tamanho de fragmento e Espectrometria de massas do tipo MALDI-TOFMS
14	Kamanna <i>et al.</i> , 2018	Apresentação de estratégia analítica que envolve duas técnicas complementares para exame de traços de fluidos biológicos coletados debaixo das unhas	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal	Espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/QTOFMS/MS e Reação em Cadeia da Polimerase (qPCR)

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

ESPECTROMETRIA DE MASSAS - MS				
15	Mason <i>et al.</i> , 2019	Uso da combinação de calor, ultrassom e surfactantes para dissolver o fio do cabelo humano, para obtenção de peptídeos geneticamente variantes (GVP)	Cabelo	Espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/Q-OrbitrapMS
16	Brown <i>et al.</i> , 2021	Detecção de fluido seminal que elimina a necessidade de digestão de tripsina, em casos de crimes sexuais	Sêmen	Espectrometria de Massas do tipo LC/ESI-QTOFMS
17	Mason <i>et al.</i> , 2018	Uso de peptídeos geneticamente variantes em osso humano	Ossada	Espectrometria de massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS
18	Brown <i>et al.</i> , 2016	Identificação por meio da impressão digital de colágeno e análise de DNA mitocondrial	Ossada	Espectrometria de Massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS
19	Stewart <i>et al.</i> , 2016	Análise de peptídeos para a identificação de sexagem	Dentes	Espectrometria de Massas do tipo nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS
20	Zhang <i>et al.</i> , 2020	Análise de peptídeos para a identificação de sexagem	Dentes	Espectrometria de Massas do tipo nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR - NMR				
21	Scano <i>et al.</i> , 2013	Abordagem combinada a ferramenta válida, rápida e não destrutiva para identificação de material biológico	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR)
22	Wei <i>et al.</i> , 2012	Identificação dos picos de um metabólito específico de amostras biológicas de humanos	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, suor, saliva	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR)
23	Schmidt <i>et al.</i> , 2014	Identificação e determinação de tempo de morte	Tecido	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR)
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER - ATR FT-IR				
24	Zapata <i>et al.</i> , 2016	Identificação de manchas de fluidos corporais em tecidos	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR)
25	Mistek <i>et al.</i> , 2021	Identificação não destrutiva na discriminação de vestígios de sangue menstrual e periférico	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal	Espectroscopia de infravermelho por

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

				Continuação
				transformada de Fourier (ATR FT-IR)
26	Lin <i>et al.</i> , 2018	Identificação de manchas de sangue semelhantes às evidências obtidas em cenas de crimes reais	Sangue	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR)
27	Wei <i>et al.</i> , 2021	Investigação do potencial de identificação de espécies de manchas de sêmen	Sêmen	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier - (ATR FT-IR)
28	Sharma <i>et al.</i> , 2020	Identificação e discriminação não destrutivas, automatizada de fluídos corporais	Sêmen e fluidos vaginais	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR)
ESPECTROSCOPIA RAMAN				
29	Freema <i>et al.</i> , 2018	Método de detecção de composição de DNA livre de marcadores.	Mancha de sangue, sêmen, secreção vaginal, suor,	Espectroscopia Raman

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

			ossos, dentes, cabelos e unhas	
30	Reese <i>et al.</i> , 2021	Fornecer assinaturas vibracionais altamente específicas que identificam sangue seco	Sangue	Espectroscopia Raman
31	Shaine <i>et al.</i> , 2020	Identificação confirmatória rápida, portátil, altamente sensível e específica para aplicações forenses	Sangue	Espectroscopia Raman
ESPECTROSCOPIA DE IMAGEM HIPERESPECTRAL - HI				
32	Zulfiqar <i>et al.</i> , 2021	Método não destrutivo para identificação de manchas de sangue	Sangue	Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI)
33	Li <i>et al.</i> , 2014	Detecção e identificação de manchas de sangue sem danificar a amostra	Sangue	Espectroscopia de Imagem hiperespectral (HI)
34	Cad <i>et al.</i> , 2016	Análise não destrutiva para a detecção e identificação de impressões digitais manchadas de sangue em uma variedade	Sangue	Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI)

Tabela 2 - ESTUDOS SELECIONADOS DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS CAPAZES DE FAZER IDENTIFICAÇÃO CONCLUSIVA E/OU PARCIAL DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Continuação

		de substratos coloridos de porosidades variadas		
35	Crowther <i>et al.</i> , 2016	Detecção e identificação de marcas de calçados manchados de sangue, de diferentes diluições	Sangue	Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI)

Conclusão

Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: Na TABELA 2 foram descritos os estudos que foram selecionados das bases de dados, PubMed, Web of Science e Socpus, relacionados ao uso das ferramentas analíticas modernas capazes de identificar restos mortais humanos.

7. Metodologias alternativas para o auxílio das rotinas laboratoriais

Nos casos extremos de identificação humana, o cenário pode apresentar restos mortais de mais de uma vítima, e o processo de retirada dessas amostras de cenas dos crimes ou desastres, pode expor as amostras à contaminação e degradação. O preparo preliminar ou a coleta e armazenamento das amostras é de extrema importância (SCHMIDT *et al.*, 2014). Dito isso, o auxílio às rotinas de coleta e armazenamento das amostras, pode ser chamada de “vias alternativas”. Essas vias, apresentam forte justificativa na composição de materiais complementares às análises de identificação humana (STRYCHALSKI *et al.*, 2013; LOS *et al.*, 2019; WATTHANAPANPITUCK *et al.*, 2014; PHILIPS *et al.*, 2016).

As vias alternativas, podem tornar as análises dos restos mortais mais viáveis e disponíveis, no ponto de vista da qualidade da amostra. O objetivo dessas vias alternativas, é minimizar os erros na fase pré-analítica, utilizando tecnologia inovadoras para as coletas, armazenamentos e pré-preparo das amostras (STRYCHALSKI *et al.*, 2013; LOS *et al.*, 2019; WATTHANAPANPITUCK *et al.*, 2014; PHILIPS *et al.*, 2016). Na Tabela 3, estão apresentados os estudos que foram considerados vias alternativas para identificação humana nas áreas forenses.

TABELA 3 - METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA AUXÍLIO DAS ROTINAS LABORATORIAIS DE PROFISSIONAIS DA
ÁREA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Nº	<i>Autor, Ano</i>	Objetivo e desenho do estudo	Amostra	Método	Benefícios
1	Uerlings <i>et al.</i> , 2013	Purificação de DNA representadas por <i>swabs</i> bucais sujos, com preparação mínima da amostra, antes da identificação humana usando análise de <i>Short Tandem Repeats</i>	Amostras brutas	Isotacoforese de eluição de gradiente	Evitar que partículas sejam incrustadas ou obstruídas no capilar e ainda, reduzir ou eliminar a contaminação do DNA por inibidores de qPCR
2	Kim <i>et al.</i> , 2012	Determinar a quantidade e a qualidade do DNA extraído de uma pastilha de impressão de mordida	Impressão digital	Pastilhas de impressão	Podem ser úteis para coleta de DNA e identificação de crianças, o método ainda era reproduzível após meses de coleta

TABELA 3- METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA AUXÍLIO DAS ROTINAS LABORATORIAIS DE PROFISSIONAIS DA
 ÁREA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Continuação

		dentária imediatamente após a moldagem e após 12 meses de armazenamento domiciliar			
3	Los <i>et al.</i> , 2019	Demonstração de um fluxo de trabalho compatível com DNA mitocondrial para identificação de peptídeos geneticamente variantes	Cabelo	Extração de proteínas à base de ureia do cabelo, seguida de troca de tampão e digestão de protease	Informações genéticas de DNA mitocondrial
4	Watthanapanet <i>al.</i> , 2014	Teste para detectar a presença de DNA humano em evidências forenses	Amostras biológicas	Amplificação isotérmica mediada por <i>loop</i> e sonda de hibridização colorimétrica de nanopartículas de ouro	Um método simples de extração de DNA foi desenvolvido para agilizar o processo de teste, também se mostrou uma ferramenta robusta, específica e econômica para a identificação forense de espécimes humanos

TABELA 3- METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA AUXÍLIO DAS ROTINAS LABORATORIAIS DE PROFISSIONAIS DA
ÁREA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Continuação

5	Frascione <i>et al.</i> , 2013	Explorar uma série de mecanismos prospectivos de biossensor e detecção de analitos específicos de fluidos biológicos humanos	Fluidos corporais	Biossensores fluorescentes	Permitir a detecção altamente específica e não destrutiva de deposições de fluidos biológicos por meio da interação com vários biomarcadores endógenos de fluido
6	Phillips <i>et al.</i> , 2016	Identificar as posições e características genômicas relatadas na sequência da referência humana	Cinzas	<i>Short Tandem Repeats</i>	Delineamento de uma estrutura de dados genômicos mínimos simples e eficaz que fornece identificação inequívoca de qualquer novo <i>locus</i> em uma posição única no genoma humano
7	Kim <i>et al.</i> , 2020	Método para separar efetivamente as células espermáticas em crimes sexuais	Sêmen	Reagente de hematoxilina	Pode ser usada para corar células espermáticas e, assim, facilitar a identificação genética subsequente

TABELA 3- METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA AUXÍLIO DAS ROTINAS LABORATORIAIS DE PROFISSIONAIS DA
 ÁREA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Continuação

8	Gin <i>et al.</i> , 2018	Integração de DNA rápido para acelerar drasticamente a identificação de vítimas, em casos de incêndio	Amostras biológicas	Identificação Rápida de DNA	Indicada para identificação em eventos de vítimas em massas
---	--------------------------	---	---------------------	-----------------------------	---

Conclusão

Fonte: Autor, 2023.

A TABELA 3 mostra as metodologias alternativas para auxílio das rotinas laboratoriais de profissionais da área de identificação humana encontradas nos estudos selecionados das bases de dados, PubMed, Web of Science e Scopus.

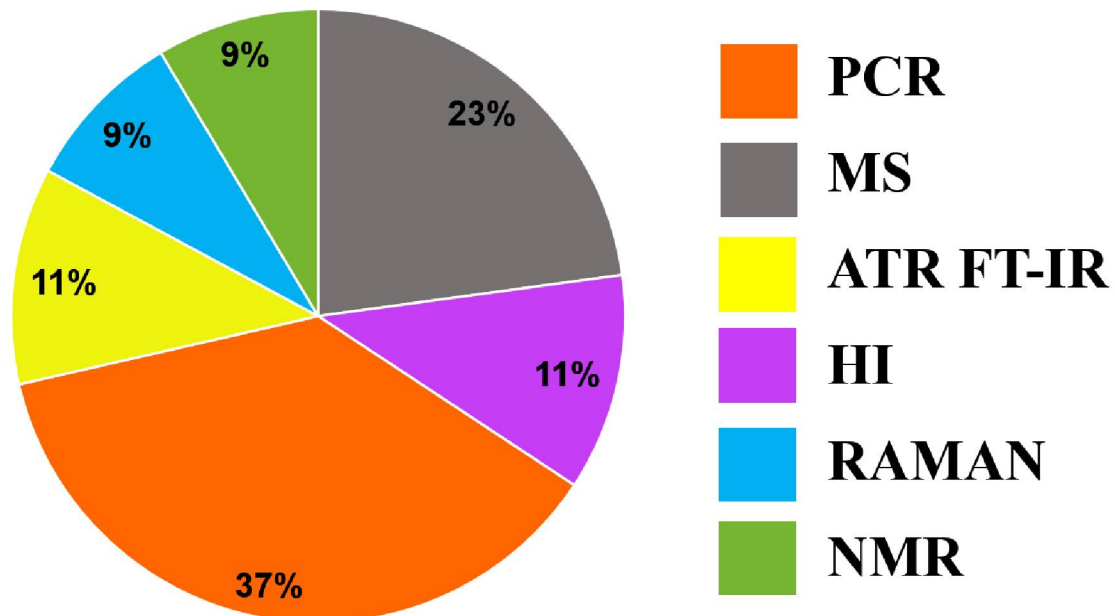
8. DISCUSSÃO

A atual revisão sistemática apresentou ferramentas analíticas modernas capazes de obterem resultados expressivos na investigação da Identificação humana conclusiva e parcial. Demonstrando que, a escolha da ferramenta analítica e a metodologia correta torna a investigação mais promissora, sendo capaz de identificar o perfil de um indivíduo bem como a sexagem. Os estudos demonstram que é possível traçar um perfil biológico ou o sexo biológico do indivíduo, através de ferramentas analíticas modernas (STEWART *et al.*, 2016, BROWN *et al.*, 2021, DUBALL *et al.*, 2017, CADD *et al.*, 2016).

No gráfico 2, podemos observar que a ferramenta analítica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), se destaca como a técnica convencional mais utilizada na identificação humana, apresentando 34% da utilização nas áreas forenses. Na sequência a Espectrometria de Massas (MS) com 22%, se mostrou muito promissora para identificação genética e sexagem humana, mesmo não sendo uma técnica convencional. A Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR), com 14%, é uma ferramenta capaz de fornecer informações relativas à presença ou ausência de amostra biológica humana.

A ferramenta de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), do inglês *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)* apresentou o total de 8%, sendo uma ferramenta completa capaz de fornecer identificação ao nível de identificação de perfil de DNA e também de sexagem. A Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI), com 11% dos artigos na área de identificação humana apresenta algumas limitações, por necessitar de outra ferramenta para auxiliar na investigação da identificação do indivíduo. A ferramenta de Espectroscopia Raman, apresentou 11% dos resultados como tecnologia promissora para a identificação de restos mortais humanos.

GRÁFICO 2 - PORCENTAGEM DE PUBLICAÇÕES DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA PRESENTES NOS ESTUDOS SELECIONADOS

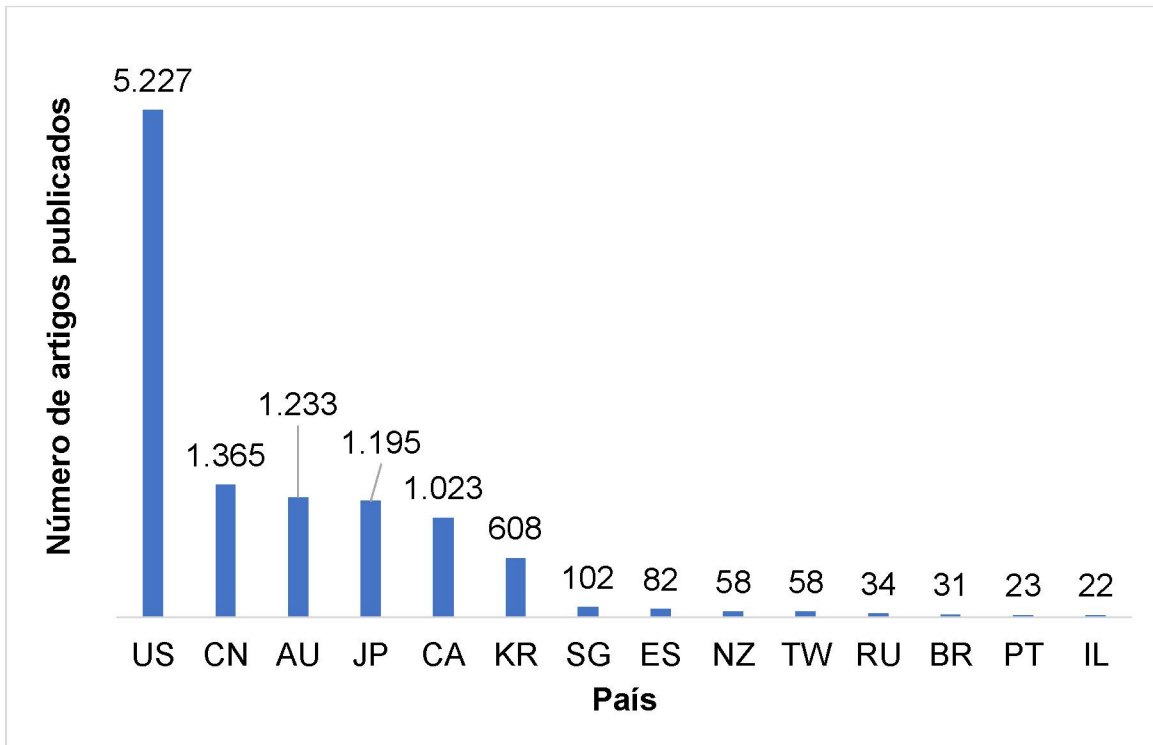


Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: GRÁFICO 2: Demonstração por ordem crescente o uso das ferramentas analíticas modernas na identificação humana, da ferramenta mais utilizada para a ferramenta menos utilizada. Correspondendo 37% do gráfico a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) evidenciando maior utilização, a Espectrometria de Massas (MS) com 23% representando a segunda maior utilização, Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR) e Imagem Hiperespectral (HI) com 11%, Espectroscopia RAMAN e Ressonância Magnética Nuclear (NMR) com 9% de utilização na identificação humana.

O gráfico 3 demonstra a quantidade de publicações de cada país individualmente nos últimos 10 anos, entre os anos 2012 a 2022. Nesse gráfico podemos observar a necessidade de investigações nas áreas da identificação humana, visto que, em alguns países a representatividade dos números de publicações são muito baixos e em alguns incipientes, se comparados a publicações em outros países, que investem em estudos e pesquisas relacionadas a casos de identificação humana.

GRÁFICO 3 - PUBLICAÇÕES DE ARTIGOS RELATIVOS À IDENTIFICAÇÃO HUMANA NÍVEL MUNDIAL, ENTRE OS ANOS 2012 A 2022



Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: GRÁFICO 3 – O gráfico demonstra o número de publicações encontradas em alguns países nessa pesquisa. Estados Unidos (US) 5.227, China (CN) 1.365, Austrália (AU) 1.233, Japão (JP) 1.195, Canadá (CA) 1.023, Coreia do Sul (KR) 608, Singapura (SG) 102, Espanha (ES) 82, Nova Zelândia (NZ) 58, Taiwan (TW) 58, Rússia (RU) 34, Brasil (BR) 31, Portugal (PT) 23 Israel (IL) 22. O Estados Unidos, China, Austrália e Japão são o país que demonstraram maiores investimentos e recursos nas publicações de novas pesquisas para identificação humana. Sendo a Rússia, Brasil, Portugal e Israel, os países que menos possuem investimento para o avanço de pesquisas nesse seguimento.

Os resultados representados no Gráfico 3, demonstram a quantidade de pesquisa e investimento realizados nos respectivos países. Os Estados Unidos da América é o país que mais apresentou investimento em recursos na identificação humana. O Brasil foi um dos países representados, que menos possui artigos científicos publicados, o que reflete menos investimentos para o avanço de pesquisas nesse segmento (Gráfico 03). A falta de dados e trabalhos oficiais efetivos, sugere que futuros estudos tenham potencial para contribuir

com tecnologias, no avanço da identificação humana no mundo (WATHERSTON *et al.*, 2018). Considerando esses fatores, existe a necessidade de maiores investimentos e novas estratégias para elucidação de casos de pessoas desaparecidas (ROSEMARY *et al.*, 2019).

As ferramentas analíticas modernas, qPCR, MS, NMR, HI, ATR FT-IR e Espectroscopia Raman, mostraram-se capazes de identificar restos mortais humanos, cada qual com suas particularidades e limitações apresentadas a seguir na tabela 4, a fim de sintetizar e resumir suas respectivas aplicações. Este estudo concluiu que Ferramentas Analíticas Modernas, podem ser grandes aliadas às investigações de crimes contra a vida, proporcionando então, a identificação de criminosos e vítimas de crimes. Sendo as ferramentas analíticas modernas, Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo-Real (qPCR), Espectrometria de Massas (MS), Ressonância Magnética Nuclear (NMR), Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI), Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier ATR FT-IR e Espectroscopia Raman, capazes de identificar restos mortais humanos, nos níveis, de perfil genético, sexagem e ainda da presença de material biológico humano ou não nas cenas de crimes.

TABELA 4 - FERRAMENTAS ANALÍTICAS MODERNAS MAIS USADAS NA IDENTIFICAÇÃO DE RESTOS MORTAIS HUMANOS

Nº	Ferramenta Analítica	Princípios da Ferramenta Analítica	Presença ou Ausência de Limitações
1	Reação em Cadeia da Polimerase em (PCR)	A PCR é uma reação que possibilita determinar uma região do genoma seja multiplicada em milhões de cópias. Esta, permite a análise genética de amostras humana e não humana, sua alta sensibilidade e especificidade a torna uma ferramenta muito robusta e muito utilizada na área forense, suas variações podem auxiliar na composição de fluidos corporais e ainda há possibilidade de identificação conclusiva de um resto mortal.	<ul style="list-style-type: none"> - Tempo de análise estendido, (necessidade de dois dias de análise). - Degradação ou perda de amostra. - Possibilidade da não detecção devido às quantidades mínimas das amostras, resultando na perda do material e a não identificação do indivíduo. - Identificação humana conclusiva e parcial.
2		A MS é a ferramenta analítica que usa a relação <i>massa/carga</i> para identificar moléculas ou	- Fácil implantação na composição da rotina laboratorial.

Tabela 4 - Ferramentas analíticas modernas mais usadas na identificação de restos mortais humanos

Continuação

	Espectrometria de Massas - MS	átomos. Atualmente, a MS é uma ferramenta de detecção altamente sensível e bem estabelecida, que pode ser acoplada a diferentes cromatografias e também é usada amplamente em vários campos de pesquisa. Nas áreas forenses pode atuar nas análises de toxicologias e drogas.	<ul style="list-style-type: none"> - Necessidade de baixíssimas quantidades de amostra. - Alto poder de detecção. - Identificação de perfil de DNA e sexagem.
3	Ressonância Magnética Nuclear - NMR	A NMR é uma ferramenta analítica que pode determinar a estrutura molecular e a composição química de uma amostra. A NMR é uma ferramenta não destrutiva, sendo aplicada a várias áreas de pesquisa.	<ul style="list-style-type: none"> - Análises de purezas, qualitativas e quantitativas. - Capaz de identificar tanto o perfil genético do indivíduo como o sexo biológico do material biológico.
4	Espectroscopia RAMAN	Ferramenta que permite a identificação da estrutura química da amostra, sendo possível obter informações química e estrutural de matérias e ainda, identificar compostos orgânicos e inorgânicos. A Espectroscopia de RAMAN é	<ul style="list-style-type: none"> - Apresenta sensibilidade nas análises de presença de material biológico de humanos. - Não permite a identificação de perfil genético, somente a nível de sexo biológico.

Tabela 4 - Ferramentas analíticas modernas mais usadas na identificação de restos mortais humanos

Continuação

		<p>muito utilizada na análise de obras de arte, para detecção de fraudes, na polícia.</p>	
5	<p>Imagem Hiperespectral - HI</p>	<p>O HI é usado para capturar, detectar e identificação sem contato uma imagem em comprimentos de ondas não destrutivo.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Usada no campo, em cenas de crimes para análises da presença de sangue ou fluido corporal. - Não permite a identificação de perfil genético, somente a nível de sexo biológico.
6	<p>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier – ATR FT-IR</p>	<p>A ATR FT-IR é uma técnica de espectroscopia vibracional-rotacional, que identificação e/ou determina características estruturais através de feixes de luz.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Diferenciação de material biológico humano e não humano. - Não permite a identificação de perfil genético, somente a nível de sexo biológico.

Conclusão

Fonte: Autor, 2023.

LEGENDA: Na TABELA 4 – foram demonstradas as ferramentas analíticas modernas encontradas nas buscas das bases de dados, PubMed, Web of Science e Scopus, mais usadas na identificação de restos mortais humanos.

9. USO DAS FERRAMENTAS ANALÍTICAS NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Nessa sessão discutiremos as ferramentas analíticas encontradas nos artigos selecionados, e abordaremos especificações de cada uma delas. Esse tópico serve para contextualizar os resultados encontrados nas buscas, a fim de fundamentar as discussões dessa revisão.

1.11 Reação em Cadeia da Polimerase - PCR

A genética e a biologia molecular são auxiliadoras da justiça na investigação de crimes e vestígios biológicos, teve início na década de 1980, por Alec Jeffreys. A amplificação e a detecção de ácidos nucleicos passaram por avanços nas investigações forenses (MULLIS, 1983; SAIKI et al., 1985).

A Reação em Cadeia Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) é a principal ferramenta para identificação humana. A PCR é uma metodologia que pode ser executada por *in vitro*, esta utiliza fragmento de DNA através da enzima DNA-polimerase. Esta enzima sintetiza uma sequência de DNA, são utilizados indicadores (*primers*) para indicar a sequência a ser replicada, e seus respectivos resultados são a amplificação de uma determinada sequência do DNA com bilhões de cópias (MULLIS, 1983; BRUCE *et al.*, 1999)

A Reação em Cadeia Polimerase em tempo real (qPCR, do inglês *Real-time Polymerase Chain Reaction*), é uma variação da técnica de PCR convencional, que permite que a amplificação e a detecção ocorram simultaneamente, é a ferramenta que permite analisar fluidos corporais através do RNA utilizando primers na seleção de uma sequência específica do gene (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001; GREEN *et al.*, 2005))

O ciclo da qPCR, consiste nos principais passos a seguir; o primeiro é a desnaturação da dupla-fita do DNA molde, ou seja, a separação delas. O segundo é a hibridização ou ligação dos primers no DNA molde, também

chamada de anelamento. O terceiro passo é a extensão, em que o DNA polimerase irá acrescentar nucleotídeos dos primers, ocorrendo então as cópias dos trechos selecionados do DNA. Esse ciclo se repete cerca de 30 a 40 vezes, sendo então geradas milhões de cópias do trecho de DNA, entre os primers que delineiam a sequência requerida. As milhões de cópias saem apenas de uma sequência de DNA molde que permite a geração de outras várias novas cópias da mesma sequência. As cópias do DNA molde podem ser observadas utilizando a técnica de Eletroforese Capilar (EC) (THORNTON *et al.*, 2021).

Danaher e colaboradores em 2015, propuseram a identificação de fluidos corporais por perfil de mRNA. No estudo desenvolveram um protótipo de extração gênica digital para identificar fluidos e tecidos corporais humanos, com base na hibridização da solução. O método identifica saliva, secreção vaginal, sêmen sangue menstrual e pele. A fim de investigar informações contextuais no nível da atividade de amostras forenses. O objetivo dos autores foram propor um protocolo simplificado com requisitos mínimos de mão de obra e os resultados obtidos foram reprodutíveis.

Thornton e colaboradores (2021), basearam o seu método em qPCR para estimar o sexo a partir de ossos de restos fetais sul-africanos sem identificação. Neste estudo, os autores defendem um método simples e econômico de identificação forense. Os métodos atuais de estimativa de sexo de restos fetais forenses, são limitados e muitas vezes não detectáveis. Desta forma, nesse artigo um método de estimativa molecular do sexo otimizado para amostras ósseas colaboraria com as técnicas atuais. Um protocolo de análise de qPCR, foi proposto para otimizar DNA genômico de células, e, portanto, cinco indivíduos de proveniência desconhecida e sexo conhecidos foram analisados, como esperado, o sexo estimado na autópsia foi confirmado. Diante disto, nove indivíduos foram incluídos no estudo e atribuídos sexos com base na metodologia proposta (THORNTON *et al.*, 2021).

Pilli e colaboradores (2018), utilizaram trinta e nove ossos pedrosos para fazer a identificação arqueológica de fêmur, dentes e mandíbulas. A presença de boa quantidade do material de DNA, apesar de muito degradado foi satisfatória para realização da análise, essas amostras foram analisadas por qPCR. O autor concluiu que os ossos pedrosos são o material com maior

conservação de DNA, com isso, a identificação conclusiva se mostrou reprodutível em alguns casos.

Xu e colaboradores (2014), desenvolveram um estudo utilizando a qPCR para identificação humana de amostras biológicas de fluidos e tecidos. A pesquisa se mostrou eficaz na identificar as seguintes amostras: sangue, saliva, sémen, secreção vaginal, sangue menstrual, mucosa oral, secreção nasal, suor e urina. A conclusão foi satisfatória quanto a identificação conclusiva nas amostras de casos forenses.

Kulstein e colaboradores (2018), indicaram uma abordagem de identificação de fluido corporais e perfil de DNA, em amostras de pedaços de panos lavados com manchas de sangue e saliva. A amplificação foi realizada por Endpoint PCR e eletroforese capilar, sendo os dados analisados por meio da ferramenta PowerQuant®. Os testes mostraram resultados positivos para amostras não lavada, por se tratar de amostras complexas, a identificação conclusiva e/ou parcial necessitou de mais análises para resultados satisfatórios.

Tao e colaboradores (2019), propuseram o desenvolvimento e a validação de um painel de marcadores capazes de fornecer o perfil detalhado da amostra analisada usando marcadores de inserção/deleção. Nesse estudo, os autores usaram a PCR para amplificação das regiões de interesse das amostras, o estudo foi projetado para 45 marcadores, para cromossomos X e cromossomos Y, e detectaram produtor por eletroforese capilar, os resultados confirmaram que perfis completos, ou seja, a identificação conclusiva.

Gaballah e colaboradores (2013), propuseram a determinação do sexo em amostras de fêmur de egípcios. Um total de vinte ossos humanos egípcios adultos foram selecionados e analisados por PCR e comparadas com análises métricas. Dos resultados, ao medir o fêmur foi revelado que oito de vinte eram masculinos, enquanto o restante era feminino. Portanto, através da análise de PCR todas as amostras apresentaram amplificação para masculinos e femininos. O método de PCR corrobora e confirma o sexo biológico, e ambos, PCR e análises métricas permitiram a sexagem segura de amostras humanas desconhecida.

Foster e colaboradores (2012), desenvolveram um protocolo rápido de identificação por PCR, para genotipagem de DNA humano. Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois o protocolo otimizado durou vinte e seis minutos de análise. Um total de cento e quarenta e sete amostras foram analisadas e amplificadas por PCR. O protocolo mostrou aplicabilidade altamente viável, já que foi reprodutível, rápido e confiável na rápida identificação humana de amostras biológicas não complexas.

DuVall e colaboradores (2017), realizaram a amplificação do DNA para identificação humana por PCR baseada em repetições em tandem curtas. Os resultados foram satisfatórios e demonstraram potenciais no que diz respeito ao tempo de análise satisfatório de 45 minutos utilizando microdispositivo barato na identificação humana.

Satoh e colaboração (2020), realizaram a detecção de antígenos presentes em amostras de sêmen para identificação humana. Nesse estudo a identificação foi baseada em aptâmeros de ácidos nucleicos de fluidos corporais. O autor desenvolveu uma técnica de ensaio para amostras de sêmen, que foram analisadas por qPCR. Os resultados mostraram-se com aplicabilidade como ferramentas robustas e úteis para a identificação conclusiva de amostras forenses de crimes sexuais.

Os resultados dos estudos que utilizaram a PCR, mostraram-se satisfatórios quanto à identificação conclusiva. A ferramenta analítica é reprodutível e confiável quanto a identificação do perfil de DNA do indivíduo.

1.12 Espectrometria de Massas – MS

A Espectrometria de Massas (MS) é uma ferramenta analítica usada para medir a razão *massa/carga* de átomos e/ou moléculas dos íons produzidos em fase gasosa. O princípio da MS consiste na separação destes íons e posterior detecção, e seus resultados respectivos são expressos por espectros de massas, ou seja, picos em forma de gráficos, que representam uma assinatura elementar ou isotópica de uma determinada amostra. Esta ferramenta combina a capacidade de detecção, contagem e identificação de compostos, além de permitir a elucidação estrutural, como exemplo, o uso da Espectrometria de Massas Sequencial (LANÇAS *et al.*, 2019, SILVERSTEIN *et al.*, 2006; PAVIA, *et al.*, 2010).

A MS é composta basicamente por cinco componentes: (I) Unidade da amostra, aquela que carrega a amostra para dentro do equipamento; (II) Fonte de ionização, onde as moléculas são transformadas em íons em fase gasosa; (III) Analisador de massas, local onde os íons são separados com relação a sua massa/carga (m/z); (IV) Detector, que gera o sinal onde é registrado e processado pelo (V) Sistema de dados; local onde são armazenados e tratados, via computador e representado num gráfico cartesiano bidimensional, onde a intensidade do sinal iônico é expressa em relação a sua m/z (KAMANNA *et al.*, 2018).

Além da investigação de sexagem e perfil de DNA, a MS é uma ferramenta analítica de alta sensibilidade, que pode ser utilizada em diversas áreas da ciência, como na química forense (ROMÃO *et al.*, 2011), análises de bebidas e alimentos (TOSATO *et al.*, 2018), áreas médicas (GRIFFIN *et al.*, 2021) e ciências ômicas (CANUTO *et al.*, 2017).

A MS é uma ferramenta bem estabelecida, que dispõe de variadas configurações de tipo de analisadores e fontes de ionização, o que torna a técnica extremamente versátil (HOFFMANN & STROOBANT, 2013; MASON *et al.*, 2019). Ainda, a MS pode estar hifenada a sistemas de cromatografia à líquido (LC) ou sistemas nano (nLC).

Neste contexto, a hifenação da LC-MS do inglês, *Mass Spectrometry Coupled to Liquid Chromatography*, envolve dois processos distintos: a separação via LC de substâncias presentes na amostra, utilizando diferentes tipos de fases estacionárias; enquanto que a MS, primeiramente, por meio da geração do íon, utilizando diferentes fontes de ionização (ESI, MALDI e outras), e subsequente separação e análise desses íons por diferentes analisadores de massas (quadrupolares, armadilha de íons, Orbitrap, TOF, entre outros) (HOFFMANN & STROOBANT, 2013; MASON *et al.*, 2018).

1.12.1 Espectrometria de massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS, nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS e nLC-ESI/Q-OrbitrapMS

A Espectrometria de Massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS é a ferramenta que uniu a cromatografia à líquido (LC) com a Espectrometria de Massas (MS), e a ionização da amostra, utilizando uma das fontes de ionização mais comuns a Electrospray (ESI, “Electrospray Ionization”). A ESI é uma das principais técnicas de ionização em pressão atmosférica (API – *atmospheric pressure ionization*) e também uma das mais importantes na determinação estrutural de diversas moléculas biológicas, sendo considerada uma fonte de ionização suave, permitindo a formação de íons moleculares intactos. A LC-ESI/OrbitrapMS é a ferramenta que possibilita a análise de substâncias líquidas com diferentes polaridades e identifica a estrutura molecular da amostra de maneira inequívoca (SILVERSTEIN *et al.*, 2006).

Mason e colaboradores (2018), identificaram restos ósseos comprometidos independente da presença de DNA. Os perfis genéticos foram analisados a nível individual e por povoação, sendo comparados indivíduos africanos e europeus. Os dados foram obtidos usando a espectrometria de massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS. Os marcadores genéticos oferecem apoio na identificação de restos ósseos comprometidos, e ainda foi possível identificar a frequência populacional.

Zhang e colaboradores (2020), propuseram em seu estudo o desenvolvimento de um método confiável na análise de peptídeos geneticamente variantes na queratina do cabelo humano. Nesse estudo, foi realizada uma análise de proteínas de forma detalhada que proporcionou quatro tipos de resultados, entre eles, uma biblioteca espectral de peptídeos e o método de extração das proteínas por ataque ácido. A ferramenta analítica utilizada nesta pesquisa foi a espectrometria de massas do tipo LC-ESI/OrbitrapMS.

Brown e colaboradores (2016), analisaram a possibilidade de identificar os ossos de hominídeos da Caverna de Denisova, na Sibéria, utilizando a impressão digital do colágeno e analisando o DNA mitocondrial. Os autores provaram a capacidade da ferramenta LC-ESI/OrbitrapMS, de identificar restos de hominídeos em conjuntos arqueológicos com quantidade mínima de amostra.

Stewart e colaboradores (2016), analisaram os peptídeos da sequência de amelogeninas X e Y, para identificação do sexo biológico de amostras dentárias. O autor utilizou a espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/LIT-OrbitrapMS. Os resultados foram satisfatórios e foi possível realizar a identificação do sexo biológico, feminino e/ou masculino, dos dentes.

Mason e colaboradores (2019), desenvolveram um método de identificação humana baseada no método que dissolve completamente o fio de cabelo. O perfil de peptídeos geneticamente variantes foi obtido com apenas 25 mm de cabelo, isso foi possível devido a digestão de proteínas presentes no cabelo. Os peptídeos analisados por meio da utilização da espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/Q-OrbitrapMS, do inglês, *nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization –Q-Orbitrap Mass Spectrometry*.

1.12.2 Espectrometria de Massas do tipo MALDI-TOFMS

A Espectrometria de Massas do tipo MALDI-TOFMS é uma ferramenta que permite a identificação rápida e precisa de substâncias. O analisador por TOF separa os íons através da aplicação de um campo elétrico que acelera os mesmos com uma energia cinética específica. A aplicação no modo linear permite analisar complexos moleculares de alta massa molecular, operando em modo reflexivo, permitindo caracterizar peptídeos, oligonucleotídeos, oligossacarídeos, lipídios, entre outros (SILVERSTEIN *et al.*, 2017). Os analisadores TOF possuem uma boa resolução, uma excelente sensibilidade e uma gama de massa elevada. Estes são geralmente compatíveis com fontes de ionização ESI e também com MALDI. Nesta última, a amostra é misturada a uma matriz específica que auxiliará na sua ionização que se cristaliza juntamente com o analito. A transferência de energia por MALDI ocorre através da irradiação do laser pulsado, a matriz energizada converte a energia do laser em energia para a excitação do analito, promovendo sua ionização. Este processo ocorre em uma câmara sob vácuo e os íons então formados na fase gasosa são acelerados por campos eletrostáticos em direção ao analisador (HOFFMANN e STROOBANT, 2007).

Stepanov e colaboradores (2016), utilizaram marcadores genéticos populacional para realizar a identificação humana. Nessa pesquisa, os autores utilizaram as ferramentas analíticas de PCR e a espectrometria de massas do tipo MALDI-TOFMS. A conclusão do estudo foi satisfatória, sendo possível identificar a diversidade populacional e identificação individual do DNA.

1.12.3 Espectrometria de Massas do tipo LC-QTOFMS

A espectrometria de massas do tipo LC-QTOFMS é uma das ferramentas analíticas modernas que vem sendo empregada na atualidade com ênfase na área forense. O analisador TOF pode também estar na forma híbrida com outros analisadores, como exemplo o quadrupolo (QTOF), com o intuito de melhorar o seu desempenho, unindo velocidade e sensibilidade do TOF com a alta eficiência do quadrupolo em análises de espectrometria de massas sequencial. Esta ferramenta possui capacidade de realizar a separação e detecção de amostras complexas e desafiadoras. A LC-QTOFMS permite elevado nível de precisão e confiabilidade na identificação de compostos por meio da determinação do analito (HOFFMANN e STROOBANT, 2007; SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Brown e colaboradores (2021), identificaram fluido seminal em vítimas de crimes sexuais, por intermédio da Espectrometria de Massas de Alta Resolução. A proposta indicou o uso de novas metodologias de preparo de amostra, eliminando então a necessidade de longa digestão com tripsina. Os resultados mostraram a capacidade de identificação conclusiva do fluido seminal e foram analisados por espectrometria de massas do tipo LC/ESI-QTOFMS.

Kamanna colaboradores (2018), propuseram uma abordagem proteogenômica complementar para a identificação de fluidos biológicos e unhas, utilizando a espectrometria de massas do tipo nLC-ESI/QTOFMS/MS, do inglês, *nanoLiquid Chromatography nanoelectrospray Ionization Time of Flight Mass Spectrometry*. Esta abordagem realizou a detecção de marcadores de proteínas presentes nos fluidos corporais e unhas de apenas algumas fibras arrancadas de um *microswab*. O analisador ofereceu nível de confirmação e capacidade de realizar a identificação conclusiva do indivíduo, de forma reprodutível.

1.13 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear – NMR

A Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) é uma ferramenta analítica amplamente utilizada para determinar a estrutura molecular e a composição química de uma determinada amostra. Esta ferramenta analisa de forma não destrutível amostras no estado líquido, sólido e/ou semi-sólido. Esta possui um campo magnético externo, onde o núcleo da molécula absorve radiofrequência, que pode quantificar pequenas quantidades de substâncias. O resultado de NMR é apresentado por espectros, os quais são representados através de gráfico de radiofrequência aplicada a absorção, sendo chamado de deslocamento químico. Este deslocamento é a posição no gráfico em que os núcleos são absorvidos (WEI *et al.*, 2012, SCANO *et al.*, 2013, SCHMIDT *et al.*, 2014).

Wei e colaboradores (2012), realizaram a identificação de metabólitos complexos de amostras biológicas desafiadoras por NMR. Neste estudo, foi utilizado dados unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), provenientes das misturas de metabólitos de vários fluidos corporais. O estudo identificou resultados expressivos do metabólito, sem a necessidade de experimentos adicionais. O método é de fácil execução e mostrou-se um potencial na identificação de metabólitos desconhecidos, em praticamente qualquer mistura de material biológico complexo (tecido, ossos, sangue, saliva, sêmen e secreções biológicas).

Scano e colaboradores (2013), propuseram a investigação da identificação de traços de fluido corporal humano, utilizando amostras de sangue, urina, saliva e sêmen. Os resultados mostraram-se reprodutíveis para identificar de forma inequívoca a identificação conclusiva do indivíduo.

Os resultados dos estudos por NMR, mostraram-se satisfatórios quanto à identificação conclusiva e parcial. A ferramenta analítica é reprodutível e confiável quanto a identificação de sexo biológico e de perfil de DNA do indivíduo.

1.14 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – ATR FT-IR

A Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier com acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR FT-IR) oferece múltiplos recursos analíticos em laboratórios. O princípio básico da ferramenta é fornecer informações sobre a composição química de uma amostra, e ainda realizar a diferenciação entre diferentes amostras com base em variações quantitativas e qualitativas (WANG *et al.*, 2019, WEI *et al.*, 2021, LIN *et al.*, 2018). O princípio da ATR FT-IR, baseia-se em um feixe de radiação que passa de um meio mais denso (cristal ATR), para um menos denso (amostra) por reflexão (Sharma *et al.*, 2019).

Wei e colaboradores (2021), propuseram a identificação de ossos humanos e não humanos usando a ATR FT-IR. Os gráficos mostraram que existe uma diferença entre os ossos humanos e não humanos, entretanto, não foi capaz de distinguir ossos cozidos e decompostos. Nesta pesquisa, o autor concluiu que esta pode servir como ferramenta confiável auxiliadora na determinação de espécies ósseas, mas que não é possível chegar ao perfil do indivíduo nem à diferenciação de sexo biológico.

Mistek e Lednev (2021), utilizaram métodos estatísticos de classificação e de análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLSDA), utilizando a ferramenta PLSDA Toolbox® e o software MATLAB®, que foram criados para diferenciar os dois tipos de sangue. O uso da ferramenta de ATR FT-IR aliado a análises multivariadas, foi utilizada por ser uma abordagem confiável na discriminação rápida e não destrutiva de manchas de sangue menstrual e periférico. Os resultados da pesquisa se mostraram reprodutíveis em 100% de distinção de sangue menstrual e periférico de crimes sexuais, porém há a necessidade de ferramentas alternativas para a identificação do agressor.

Zapata e colaboradores (2016), estudaram manchas de fluidos corporais como, sêmen, fluido vaginal e urina, em tecidos utilizando a FT-IR e análise quimiométrica. Os resultados demonstraram que as assinaturas espectrais obtidas para cada fluido corporal proporcionaram a identificação e classificação

correta de manchas desconhecidas. Entretanto, não foi possível alcançar a identificação conclusiva apenas a parcial, dependendo de análise complementar.

Lin e colaboradores (2018), estudaram os efeitos da idade da mancha de sangue, e utilizou a ATR FT-IR para analisar essas amostras. Nesse estudo foi investigado o potencial para identificação de espécies de manchas de sangue de cenas de crimes reais. Os resultados demonstram que ATR FT-IR pode ser uma ferramenta poderosa para a identificação de espécies de manchas de sangue.

Os resultados dos estudos que utilizaram a Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier FT-IR mostraram-se satisfatórios quanto à identificação parcial dos indivíduos, porém, não foi possível identificar o perfil do indivíduo a nível genético, somente a nível de sexo biológico.

1.15 Espectroscopia Raman

A Espectroscopia Raman é uma técnica usada na detecção de estados vibracionais e rotacionais capaz de investigar a composição química de um material, em um sistema molecular (SHAINÉ *et al.*, 2020). O princípio da ferramenta baseia-se na luz monocromática e consiste em medir o padrão de dispersão da luz interagindo com o analito. A luz é então coletada por uma lente e retransmitida para o monocromador, que é um dispositivo de transmissão óptica em uma faixa estreita de comprimento de onda. Os comprimentos de onda próximos da luz do laser são dispersos e a luz e a informação vibracional restante são coletadas pelo detector (SHAINÉ *et al.*, 2020).

A espectroscopia Raman é uma ferramenta analítica extremamente versátil aplicada a vários estados da matéria, sejam elas: líquido, sólido, molecular e cristalino, orgânico ou inorgânico, de alta ou baixa temperatura e/ou pressão. Pode ser utilizada ainda, em superfícies ou de matéria inclusa, com volumes e escalas analíticas de milímetros, micrómetros e nanômetros, não precisa ser trabalhada em vácuo, não necessita de revestimentos superficiais e nem da preparação da amostra, apresentando carácter não destrutivo e minimamente invasivo (REESE *et al.*, 2021; FREEMA *et al.*, 2018).

Shaine e colaboradores (2018), propuseram uma detecção robusta, sensível e identificação confirmatória de manchas de sangue secas, utilizando Espectroscopia Raman. O uso de quantidades mínimas de ataque ácido na amostra na cena do crime possibilita o fornecimento de espectro robusto, reproduzível, detecção e identificação de sexagem das amostras.

Reese e colaboradores (2021), investigaram a possibilidade de detecção e identificação de manchas de sangue secas. O autor utilizou a espectroscopia de RAMAN, onde detectou a diferença entre manchas de sangue humana e não humana e sexagem. Os resultados foram precisos e demonstrou robustez quanto aos fatores de tempo e exposição ambiental, chegando à identificação parcial apenas.

Freema e colaboradores (2018), propuseram a identificação da composição do DNA usando RAMAN. O autor detectou a composição de nucleotídeos nas fitas de DNA e gerou uma curva de calibração a partir de uma amostra de DNA padrão. Os resultados foram inovadores quanto a detecção da identificação humana parcial.

Os resultados dos estudos que utilizaram a Espectroscopia Raman mostraram-se satisfatórios quanto à identificação parcial dos indivíduos, porém, não foi possível identificar o perfil do indivíduo a nível genético, somente a nível de sexo biológico.

1.16 Espectroscopia de Imagem Hiperespectral – HI

A Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI) é um conjunto de imagens que juntas são capazes de capturar o valor de radiação espectral atribuído a cada pixel de comprimento de onda. A HI demonstra a composição química da amostra por meio de imagens realizadas a partir de informações espectrais, estas são coletadas por um espectrômetro. A HI pode proporcionar análises não destrutivas para amostras biológicas forense (CROWTHER *et al.*, 2016).

Zulfiqar e colaboradores (2021), propuseram a investigação de manchas de sangue para identificar suspeitos de crimes, e estabeleceu em sua pesquisa 100% de significância estatística de identificação de manchas de sangue humano. Os resultados revelaram que o método proposto conseguiu identificar de forma parcial o indivíduo, ou seja, a nível de sexagem.

Li e colaboradores (2014), aplicaram HI para detecção e identificação de manchas de sangue de humanos. A identificação foi determinada por intermédio da cor do sangue, que foi baseada na absorbância da hemoglobina. O resultado se mostrou reproduzível, uma vez que detectou e identificou com sucesso todas as nove amostras de mancha de sangue de humanos em uma camisa.

Cad e colaboradores (2016), propuseram a detecção e identificação de impressão digital de manchas de sangue usando HI. A nova abordagem foi utilizada de forma não destrutiva e sem contato com a impressão digital da mancha de sangue, e manchas diluídas também foram analisadas.

Crowther e colaboradores (2016), propuseram uma comparação entre as ferramentas HI e fotografia digital para a detecção e identificação de marcas de calçados com manchas de sangue. Os resultados mostraram o poder de detecção de sangue, provou fornecer resultados precisos e confiáveis na identificação parcial.

Os resultados dos estudos que utilizaram a Espectroscopia de Imagem Hiperespectral mostraram-se satisfatórios quanto à identificação parcial dos indivíduos, porém, não foi possível identificar o perfil do indivíduo a nível genético, somente a nível de sexo biológico.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão sistemática teve por objetivo, explorar e avaliar um conjunto de conceitos de estudos que usaram ferramentas analíticas modernas, com a finalidade de demonstrar que estas desempenham competências no auxílio a identificação de restos mortais humanos.

As ferramentas analíticas modernas capazes de realizar a identificação humana de forma conclusiva, ou seja, aquelas capazes de individualizar uma pessoa, são: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Espectrometria de Massas (MS). Essas ferramentas são capazes de obter a identidade do indivíduo, o que chamamos de identificação conclusiva. As ferramentas analíticas modernas capazes de realizar identificação humana de forma parcial são: Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI), Espectroscopia RAMAN, Ressonância Magnética Nuclear (NMR), Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) e Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR) aliada a ferramentas estatísticas. Essas ferramentas são capazes de obter a identidade de sexo biológico, masculino e feminino, estimativa de idade e diferenciar fluídos corporais humanos.

Neste estudo também foi possível avaliar as metodologias alternativas de preparo de amostras com o intuito de auxiliar nas rotinas laboratoriais, e com isso, ajudar a minimizar os erros pré-analíticos. As contribuições foram relevantes pois os estudos selecionados poderão servir no auxílio para minimizar perdas ou degradação do pré-preparo das amostras, tornando-as mais suscetíveis a posterior análise. Essas metodologias proporcionam também, a diminuição dos danos e perdas em casos de mínimas quantidades de amostra, garantindo então, a possibilidade do resultado reprodutível na identificação de sexo biológico ou do perfil genético do indivíduo.

As ferramentas analíticas modernas e as metodologias alternativas de preparo de amostras poderão compor as rotinas laboratoriais dos profissionais das áreas forenses, de acordo com as respectivas necessidades de investigação. Ainda, estes dados poderão corroborar com o Banco Nacional

específico de Perfis Genéticos e fornecer auxílio na resolução dos milhares de casos ainda existentes.

Os resultados dos artigos selecionados foram satisfatórios, as buscas por publicações científicas mostraram a necessidade de esforços na identificação humana, face ao universo científico de países detentores de técnicas analíticas modernas, estrutura tecnológica, em estágio progressista no sentido de melhores condições de acesso e recursos humanos, destinados à identificação de restos humanos. Recomenda-se a condução de pesquisas voltadas ao auxílio da composição dos bancos de dados genéticos, objetivando a elucidação de casos criminais, desaparecidos e desastres naturais. Também devem ser realizados estudos com a finalidade de compor o desenvolvimento de protocolos de preparo de amostra que sejam capazes de identificar restos mortais de humanos.

11. CONCLUSÃO

As ferramentas analíticas modernas e as metodologias de preparo de amostras para a identificação de restos mortais humanos, demonstraram resultados positivos e reprodutíveis.

As ferramentas analíticas modernas que individualizam um indivíduo são, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e a Espectrometria de Massas (MS), sendo estas capazes de realizar a identificação humana conclusiva. As outras ferramentas modernas demonstradas nesse estudo, (Espectroscopia de Imagem Hiperespectral (HI), Espectroscopia RAMAN, Ressonância Magnética Nuclear (NMR), Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) e Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (ATR FT-IR)), ajudam a compor as análises das evidências e as investigações, alcançando a identificação parcial dos restos mortais humanos.

O estudo apresentou a necessidade do avanço no desenvolvimento de novas ferramentas e políticas públicas na identificação humana em países como no Brasil, que apresenta poucas pesquisas nessa área. A importância de investimentos na pesquisa para a elucidação dos casos de pessoas desaparecidas, principalmente, com amostras do DNA degradado, torna-se evidente. Com isso, de forma célere e a alimentação ininterrupta aos bancos de dados de pessoas desaparecidas poderá auxiliar na resolução dos milhares de casos criminais ainda existentes.

12. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Implementação da parceria acadêmica-científica entre os pesquisadores da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e Polícia Científica do Paraná, por meio do uso das amostras da cadeia de custódia.
- Desenvolvimento de um método de análise de peptídeos e perfil de DNA por Espectrometria de Massas.
- Criação de um banco de dados, com dados de Espectrometria de Massas.

13. REFERÊNCIAS

- ABSP - FÓRUM BRASILEIRO DE SEGURANÇA PÚBLICA. Anuário Brasileiro de Segurança Pública. São Paulo 2022. Disponível em: <<https://dossies.agenciapatriciagalvao.org.br/dados-e-fontes/pesquisa/160-anuario-brasileiro-de-seguranca-publica-fbsp-2022/>>
- ALMEIDA, C. P. B. DE; GOULART, B. N. G. DE. How to avoid bias in systematic reviews of observational studies. **Revista CEFAC**, v. 19, n. 4, p. 551–555, 2017.
- ALONSO, A. et al. Challenges of DNA profiling in mass disaster investigations. **Croatian medical journal**, v. 46, n. 4, p. 540–548, 2005.
- ANSON, E. et al. Specific and sensitive mRNA biomarkers for the identification of skin in ‘touch DNA’ evidence. **Forensic science international. Genetics**, v. 6, n. 5, p. 548–558, 2012.
- ATALLAH, N. A.; CASTRO, A. A. Curso de revisão sistemática e metanálise. São Paulo: LEDDIS/UNIFESP, 2002.
- ARAÚJO, M. E. C.; PASCALI, Luiz. Dactiloscopia: a determinação dos dedos. 1. ed. **Brasília**: LABPAM, 2007.
- ANDERUNG, C. et al. Fishing for ancient DNA. **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, p. 105–107, 2008.
- BARTLETT, J. D. Dental enamel development: proteinases and their enamel matrix substrates. **ISRN dentistry**, v. 2013, p. 684607, 2013.
- BERGQUIST, J. et al. Peptide mapping of proteins in human body fluids using electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: ESI-FTICR MS PEPTIDE MAPPING. **Mass spectrometry reviews**, v. 21, n. 1, p. 2–15, 2002.
- BEYNON J. H. *et al.*, Mass Spectrometry and its Applications to Organic Chemistry, von J. H. Beynon Elsevier Publishing Co., Amsterdam-London-New York-Princeton 1960. 1. Aufl., XII, 640 S., zahlr. Abb., geb. fl. 63.—

. **Angewandte Chemie (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, v. 73, n. 17–18, p. 634–634, 1961.

BLACK, T. K. Sexual dimorphism in the tooth-crown diameters of the deciduous teeth. **American journal of physical anthropology**, v. 48, n. 1, p. 77–82, 1978.

BONACCORSO, N. S. **Aspectos técnicos, éticos e jurídicos relacionados com a criação de bancos de dados criminais de DNA no Brasil**. [s.l.] Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA), 2015.

BOSKEY, A.; PLESHKO CAMACHO, N. FT-IR imaging of native and tissue-engineered bone and cartilage. **Biomaterials**, v. 28, n. 15, p. 2465–2478, 2007.

BRASIL. CONSTITUIÇÃO DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. Texto constitucional promulgado em 5 de outubro de 1988, com as alterações determinadas pelas Emendas Constitucionais de Revisão nos 1 a 6/94, pelas Emendas Constitucionais nos 1/92 a 91/2016 e pelo Decreto Legislativo no 186/2008. Brasília 2016. Disponível em: https://www2.senado.leg.br/bdsf/bitstream/handle/id/518231/CF88_Livro_EC91_2016.pdf

BRASIL. Presidência da República Secretaria-Geral Subchefia para Assuntos Jurídicos. LEI Nº 13.812, DE 16 DE MARÇO DE 2019. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2019/lei/13812.htm

BRASIL. XVI RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS. Disponível em: <https://www.gov.br/mj/ptbr/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/ribpg>

BRENNER, C. H.; WEIR, B. S. Issues and strategies in the DNA identification of World Trade Center victims. **Theoretical population biology**, v. 63, n. 3, p. 173–178, 2003.

BRUCE, A., BRAY, D., JOHNSON, A., LEWIS, J., RASS, M., ROBERTS, K & WALTER, P. Fundamentos da Biologia Celular: Uma introdução à biologia molecular da célula. Porto Alegre: **Artes Médicas Sul**, 1999. p.

- BROWN, C. O. et al. Direct seminal fluid identification by protease-free high-resolution mass spectrometry. **Journal of forensic sciences**, v. 66, n. 3, p. 1017–1023, 2021.
- BROWN, S. et al. Identification of a new hominin bone from Denisova Cave, Siberia using collagen fingerprinting and mitochondrial DNA analysis. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 23559, 2016.
- CADD, S. et al. The non-contact detection and identification of blood stained fingerprints using visible wavelength hyperspectral imaging: Part II effectiveness on a range of substrates. **Science & justice: journal of the Forensic Science Society**, v. 56, n. 3, p. 191–200, 2016.
- CAI, S.; SINGH, B. R. A distinct utility of the amide III infrared band for secondary structure estimation of aqueous protein solutions using partial least squares methods. **Biochemistry**, v. 43, n. 9, p. 2541–2549, 2004.
- CANUTO, G. et al. METABOLÔMICA: DEFINIÇÕES, ESTADO-DA-ARTE E APLICAÇÕES REPRESENTATIVAS. **Química nova**, 2017.
- CARVALHO, H. **Extração de DNA de ossos humano, sem pulverização, para uso em identificação forense. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2009.
- CATLIN, L. A. et al. Demonstration of a mitochondrial DNA-compatible workflow for genetically variant peptide identification from human hair samples. **Forensic science international. Genetics**, v. 43, n. 102148, p. 102148, 2019.
- CAPITANEANU, et al., A systematic review of odontological sex estimation methods. **The Journal of forensic odontostomatology**, v. 2, n. 35, p. 1–19, 2017.
- Código Penal Edição: Brasília – 2017. Secretaria de Editoração e Publicações Coordenação de Edições Técnicas. Edição do Senado Federal Diretora-Geral: Ilana Trombka Secretário-Geral da Mesa: Luiz Fernando Bandeira de Mello Filho. Cap II, pag 47 – 50. Disponível em:

<https://www2.senado.leg.br/bdsf/bitstream/handle/id/529748/codigo_penal_1ed.pdf>.

Cordero P., Li J., Oben J.A., Epigenetics of obesity: beyond the genome sequence, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 18 (2015) 361-366.

CROWTHER, M. et al. A comparison between visible wavelength hyperspectral imaging and digital photography for the detection and identification of bloodstained footwear marks. *Journal of forensic sciences*, v. 66, n. 6, p. 2424–2437, 2021.

CUBERO, M. J. et al. Genetic identification of missing persons: DNA analysis of human remains and compromised samples. *Pathobiology: journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, v. 79, n. 5, p. 228–238, 2012.

DANAHER, P. et al. Facile semi-automated forensic body fluid identification by multiplex solution hybridization of NanoString® barcode probes to specific mRNA targets. *Forensic science international. Genetics*, v. 14, p. 18–30, 2015.

DAVIS, R. C. et al. The effects of legislation mandating DNA testing in sexual assault cases: Results in Texas. *Violence against women*, v. 26, n. 5, p. 417–437, 2020.

DISSING, J.; KRISTINSDOTTIR, M. A.; FRIIS, C. On the elimination of extraneous DNA in fossil human teeth with hypochlorite. *Journal of archaeological science*, v. 35, n. 6, p. 1445–1452, 2008.

DUVALL, J. A. et al. Rapid multiplex DNA amplification on an inexpensive microdevice for human identification via short tandem repeat analysis. *Analytica chimica acta*, v. 980, p. 41–49, 2017.

ECKHARDT, F. et al. DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22. *Nature genetics*, v. 38, n. 12, p. 1378–1385, 2006

ESKANDARION, M. R. et al. Optimizing denaturing HPLC as a robust technique for identification of Short Tandem Repeats (STR) in forensic

medicine. **Journal of forensic and legal medicine**, v. 61, p. 108–114, 2019.

ESPÍNDULA, A. Perícia Criminal e Cível. Uma visão completa para peritos e usuários da perícia. 2ª ed, **Millennium**, 2006.

FLEMING, R. I.; HARBISON, S. The development of a mRNA multiplex RT-PCR assay for the definitive identification of body fluids. **Forensic science international. Genetics**, v. 4, n. 4, p. 244–256, 2010.

FOSTER, A.; LAURIN, N. Development of a fast PCR protocol enabling rapid generation of AmpF ℓ STR ® Identifiler ® profiles for genotyping of human DNA. **Investigative genetics**, v. 3, n. 1, p. 6, 2012.

FRANCEZ. P. A. C.; FILHO, C.R.D.; RODRIGUES, E. L.; MALAGHINI, M.; RODRIGO GRAZINOLI GARRIDO, G. R. Introdução à Biologia Forense. Campinas, **Millennium Editora**, 2016. Cap 5,6.

FRASCIONE, N.; GOOCH, J.; DANIEL, B. Enabling fluorescent biosensors for the forensic identification of body fluids. **The Analyst**, v. 138, n. 24, p. 7279, 2013.

Fraga M., Ballestar E., Paz M., Ropero S., Setien F., Ballestart M., Heine-Suner D., Cigudosa J. C., Urioste M., Benitez J., Boix-Chornet M., Sanchez-Aguilera A., Ling C., Carlsson E., Poulsen P., Vaag A., Stephan Z., Spector T.D., Wu Y.Z., Plass C., Esteller M., Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 102 (2005) 10604-10609.

FREEMAN, L. M.; PANG, L.; FAINMAN, Y. Self-reference and random sampling approach for label-free identification of DNA composition using plasmonic nanomaterials. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, 2018.

FREITAS, M. H. DE A. Avaliação da produção científica: considerações sobre alguns critérios. **Psicologia Escolar e Educacional**, v. 2, n. 3, p. 211–228, 1998.

GABALLAH, I. F.; SHEHAB, A. M.; BAYOUMI, K. A. Sex determination in femurs of modern Egyptians: A comparative study between metric measurements

and SRY gene detection. **Egyptian journal of forensic sciences**, v. 4, n. 4, p. 109–115, 2014.

GIANNAKIS, C.; FORBES, I. J.; ZALEWSKI, P. D. Ca²⁺Mg²⁺-dependent nuclease: Tissue distribution, relationship to inter-nucleosomal DNA fragmentation and inhibition by Zn²⁺. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 181, n. 2, p. 915–920, 1991.

GIBBON, V. et al. Novel methods of molecular sex identification from skeletal tissue using the amelogenin gene. **Forensic science international. Genetics**, v. 3, n. 2, p. 74–79, 2009.

GIN, K. et al. The 2018 California wildfires: Integration of Rapid DNA to dramatically accelerate victim identification. **Journal of forensic sciences**, v. 65, n. 3, p. 791–799, 2020.

GRANT, M. J.; BOOTH, A. A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies: A typology of reviews, Maria J. Grant & Andrew Booth. **Health information and libraries journal**, v. 26, n. 2, p. 91–108, 2009.

GRIFFIN, J. H.; DOWNARD, K. M. Mass spectrometry analytical responses to the SARS-CoV2 coronavirus in review. **Trends in analytical chemistry: TRAC**, v. 142, n. 116328, p. 116328, 2021.

GREEN, R. L. et al. Developmental validation of the quantifiler real-time PCR kits for the quantification of human nuclear DNA samples. **Journal of forensic sciences**, v. 50, n. 4, p. 809–825, 2005.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. **The Cochrane Collaboration**, 2011. Disponível em: <<http://www.cochrane-handbook.org/>>.

HOFFMANN & STROOBANT - Mass Spectrometry - Principles and Applications - 3rd Ed - (Wiley, 2007)

HUNT, E. E.; GLEISER, I. The estimation of age and sex of preadolescent children from bones and teeth. **American Journal of Physical Anthropology**, 1955.

- IWAMURA, E. S. M.; MUÑOZ, D. R. Análise de DNA em medicina legal, banco de dados e controle de qualidade. **Saúde Ética & Justiça**, v. 8, n. 1–2, p. 13, 2003.
- JOBIM, L F, COSTA E, SILVA EM. Identificação Humana: identificação pelo DNA, identificação médico-legal e perícias odontológicas. Campinas. **Millenium Editora**; 2018. cap 2, 3 e 4.
- KAMANNA, S. et al. A complementary forensic “proteo-genomic” approach for the direct identification of biological fluid traces under fingernails. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 410, n. 24, p. 6165–6175, 2018.
- KIM, J.-Y. et al. Application of hematoxylin reagent for sperm cell separation in sexual crime evidence. **Forensic science international**, v. 307, n. 110114, p. 110114, 2020.
- KIM, M. et al. Identification and long term stability of DNA captured on a dental impression wafer. **Pediatric dentistry**, v. 34, n. 5, p. 373–377, 2012.
- KULSTEIN, G.; HADRY, T.; WIEGAND, P. As solid as a rock-comparison of CE- and MPS-based analyses of the petrosal bone as a source of DNA for forensic identification of challenging cranial bones. **International journal of legal medicine**, v. 132, n. 1, p. 13–24, 2018.
- KULSTEIN, G.; WIEGAND, P. Comprehensive examination of conventional and innovative body fluid identification approaches and DNA profiling of laundered blood- and saliva-stained pieces of cloths. **International journal of legal medicine**, v. 132, n. 1, p. 67–81, 2018.
- LANÇAS, M. F. et al **Espectrometria de massas: fundamentos**. 1ª edição.
- Lardenoije R., Iatrou A., Kenis G., Kompotis K., Steinbusch H.W., Mastroeni D., Coleman P., Lemere C.A., Hof P.R., van den Hove D.L., Rutten B.P., The epigenetics of aging and neurodegeneration, **Prog. Neurobiol.** 2015, in press.
- LEI Nº 12.037, DE 1º DE OUTUBRO DE 2009. Dispõe sobre a identificação criminal do civilmente identificado, regulamentando o art. 5º, inciso LVIII, da Constituição Federal. Disponível em:

https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/lei/l12037.htm#:~:text=LEI%20N%C2%BA%2012.037%2C%20DE%201%C2%BA%20DE%20OUTUBRO%20DE%202009.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20identifica%C3%A7%C3%A3o%20criminal,in%20LVIII%2C%20da%20Constitui%C3%A7%C3%A3o%20Federal.

LESSIG, R.; ROTHSCHILD, M. International standards in cases of mass disaster victim identification (DVI). **Forensic science, medicine, and pathology**, v. 8, n. 2, p. 197–199, 2012.

LI, B. et al. The application of visible wavelength reflectance hyperspectral imaging for the detection and identification of blood stains. **Science & justice: journal of the Forensic Science Society**, v. 54, n. 6, p. 432–438, 2014.

LIN, H. et al. Species identification of bloodstains by ATR FT-IR spectroscopy: the effects of bloodstain age and the deposition environment. **International journal of legal medicine**, v. 132, n. 3, p. 667–674, 2018.

LIVAK, K.; SCHMITTGEN, T. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and ddCt method, Methods 25. **Methods**, v. 25 (2001) 402–408.

LOTH, S. R.; HENNEBERG, M. Sexually dimorphic mandibular morphology in the first few years of life. **American journal of physical anthropology**, v. 115, n. 2, p. 179–186, 2001.

LUNA, L. H.; ARANDA, C. M.; SANTOS, A. L. New method for sex prediction using the human non-adult auricular surface of the ilium in the collection of identified skeletons of the university of Coimbra: Human non-adult auricular surface as sex predictor. **International journal of osteoarchaeology**, v. 27, n. 5, p. 898–911, 2017.

LUNDWALL, A. Semenogelin I and II, the predominant human seminal plasma proteins, are also expressed in non-genital tissues. **Molecular human reproduction**, v. 8, n. 9, p. 805–810, 2002.

- MASON, K. E. et al. Development of a protein-based human identification capability from a single hair. **Journal of forensic sciences**, v. 64, n. 4, p. 1152–1159, 2019.
- MASON, K. E. et al. Protein-based forensic identification using genetically variant peptides in human bone. **Forensic science international**, v. 288, p. 89–96, 2018.
- Matos MCA. A polêmica forma de investigação com a obrigatoriedade da coleta de material genético com base na lei 12.654/2012. [Monografia]. Paripiranga: Faculdade AGES; 2012.
- MATOS, E. Cadeia de Custódia na Investigação Criminal nos Limites do Processo penal. **Revista Científica do ISCTAC**, v. 3, n. 9, 2017.
- MATTANA, C. et al. Importância Pericial do DNA e a Participação do Odontologista. **Brazilian Journal of Forensic Science Medical Law and Bioethics**, v. 2, n. 1, p. 65–82, 2012.
- MCENTIRE, D.; SADIQ, A.-A.; GUPTA, K. Unidentified bodies and mass-fatality management in Haiti: A case study of the January 2010 earthquake with a cross-cultural comparison. **International journal of mass emergencies and disasters**, v. 30, n. 3, p. 301–327, 2012.
- MENEZES MAM, CHEMALE G, JACQUES GS, PARANAÍBA RTF, FAGUNDES PR. O Banco de Dados Nacional de Perfis Genéticos (DNA) de crianças e adolescentes desaparecidos no Brasil – o começo de uma realidade. **Revista Perícia Federal**, Brasília; 2012; Ano XIII, n.30: 20-23.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. DIRETRIZES METODOLÓGICAS, Elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacional comparativos sobre fatores de risco e prognóstico. Brasília – DF 2014.
- MISTEK-MORABITO, E.; LEDNEV, I. K. Discrimination of menstrual and peripheral blood traces using attenuated total reflection Fourier transform-infrared (ATR FT-IR) spectroscopy and chemometrics for forensic purposes. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 413, n. 9, p. 2513–2522, 2021.

- MURUGANANDHAN, J.; SIVAKUMAR, G. Practical aspects of DNA-based forensic studies in dentistry. **Journal of forensic dental sciences**, v. 3, n. 1, p. 38, 2011.
- Mullis, K.B (1983). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*, 4: 56-65.
- NEUMANN, MM O desaparecimento de crianças e adolescentes. 2010. 138 f. Tese (Doutorado em Serviço Social) - PUC/SP. São Paulo: [sn].
- OLIVEIRA MASCARENHAS, R. et al. Building an isoscape based on tooth enamel for human provenance estimation in Brazil. **Forensic science international**, v. 330, n. 111109, p. 111109, 2022.
- OLIVEIRA, LDB DE. **Análise proteômica do esmalte de dentes decíduos para a estimativa do sexo em crianças**. [sl] Universidade de São Paulo, Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica (AGUIA), 2020.
- PAVIA, D. L et al. INTRODUÇÃO À ESPECTROSCOPIA. Trad 4ª ed. 2010. **Cengage Learning**.
- PEREIRA, R. et al. A GHEP-ISFG collaborative study on the genetic variation of 38 autosomal indels for human identification in different continental populations. **Forensic science international. Genetics**, v. 32, p. 18–25, 2018.
- PHILLIPS, C. et al. D5S2500 is an ambiguously characterized STR: Identification and description of forensic microsatellites in the genomics age. **Forensic science international. Genetics**, v. 23, p. 19–24, 2016.
- PILLI, E. et al. Neither femur nor tooth: Petrous bone for identifying archaeological bone samples via forensic approach. **Forensic science international**, v. 283, p. 144–149, 2018.
- REESE, T. et al. Surface enhanced Raman scattering specificity for detection and identification of dried bloodstains. **Forensic science international**, v. 328, n. 111000, p. 111000, 2021.

- RENNICK, S. L.; FENTON, T. W.; FORAN, D. R. The effects of skeletal preparation techniques on DNA from human and non-human bone. **Journal of forensic sciences**, v. 50, n. 5, p. 1016–1019, 2005.
- ROMÃO, W. et al. Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. **Química nova**, 2011.
- SAKURADA, K. et al. Evaluation of mRNA-based approach for identification of saliva and semen. **Legal medicine (Tokyo, Japan)**, v. 11, n. 3, p. 125–128, 2009.
- SALIDO, E. C. et al. The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. **The American Journal of Human Genetics**, v. 50, n. 2, p. 303–316, 1992.
- SATOH, T. et al. Detection of prostate-specific antigen in semen using DNA aptamers: an application of nucleic acid aptamers in forensic body fluid identification. **Analytical methods: advancing methods and applications**, v. 12, n. 21, p. 2703–2709, 2020.
- SCANO, P. et al. ¹H NMR metabolite fingerprinting as a new tool for body fluid identification in forensic science: ¹H NMR metabolite fingerprinting of body fluid in forensics. **Magnetic resonance in chemistry: MRC**, v. 51, n. 8, p. 454–462, 2013.
- Saiki R, K.; Scharf S; Faloona F; Mullis K. B; Horn G. T; Erlich H. A.; Arnheim N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732):1350-4.
- SCHMIDT, T. M. et al. Postmortem ³¹P magnetic resonance spectroscopy of the skeletal muscle: α -ATP/Pi ratio as a forensic tool? **Forensic science international**, v. 242, p. 172–176, 2014.
- SCHUTKOWSKI, H. Sex determination of fetal and neonate skeletons by means of discriminant analysis. **International journal of anthropology**, v. 2, n. 4, p. 347–352, 1987.

- SCHUTKOWSKI, H. Sex determination of fetal and neonate skeletons by means of discriminant analysis. **International journal of anthropology**, v. 2, n. 4, p. 347–352, 1987.
- SEEB, J. E. et al. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms: INTRODUCTION. **Molecular ecology resources**, v. 11, p. 1–8, 2011.
- SHAINE, M. L. et al. Surface enhanced Raman scattering for robust, sensitive detection and confirmatory identification of dried bloodstains. **The Analyst**, v. 145, n. 18, p. 6097–6110, 2020.
- SHARMA, S.; SINGH, R. Detection and discrimination of seminal fluid using attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR FT-IR) spectroscopy combined with chemometrics. **International journal of legal medicine**, v. 134, n. 2, p. 411–432, 2020.
- SHARMA, T T., Chaitan, S. M., Somayaji, N. S., Mahajan, B., Rajguru, J. P., Hajibabaei, S., Hegde, S. The medicolegal importance of establishing human identity by using dactyloscopy and rugoscopy: A comparative study. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 9, n. 7, pág. 3236–3241, 2020.
- SHI, Y. et al. UHPLC-MS/MS method for simultaneously detecting 16 tryptamines and their metabolites in human hair and applications to real forensics cases. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 1159, n. 122392, p. 122392, 2020.
- SILVA L.L.R. **Evolução histórica Da genética forense no judiciário brasileiro**. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/14166357-Evolucao-historica-da-genetica-forense-no-judiciario-brasileiro.html>>. Acesso em: 29 jan. 2023.
- SILVERSTEIN, ROBERT M. (ROBERT MILTON). **Spectrometric identification of organic compounds**. Ed 7. p. 399 – 499, 2007.
- SIEGEL, J., KNUPFER, G. e SUUKKO, P (eds.) **Encyclopedia of Forensic Sciences**, 1-3, 1484p., 2000.

- STEPANOV, V. A. et al. A panel of single nucleotide X-linked polymorphic markers for DNA identification (XSNPid) based on multiplex genotyping using multilocus PCR and MALDI-TOF mass spectrometry. **Moleculia biologia**, v. 50, no. 3, p. 445–456, 2016.
- STEWART, N. A. et al. Sex determination of human remains from peptides in tooth enamel. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 52, p. 13649–13654, 2017.
- STEWART, N. A. et al. The identification of peptides by nanoLC-MS/MS from human surface tooth enamel following a simple acid etch extraction. **RSC advances**, v. 6, n. 66, p. 61673–61679, 2016.
- STRUYF, P. et al. The effectiveness of DNA databases in relation to their purpose and content: A systematic review. **Forensic science international**, v. 301, p. 371–381, 2019.
- STRYCHALSKI, E. A. et al. DNA purification from crude samples for human identification using gradient elution isotachopheresis: Nucleic Acids. **Electrophoresis**, v. 34, n. 17, p. 2522–2530, 2013.
- SWEET O.C., D. INTERPOL DVI best-practice standards—An overview. **Forensic science international**, v. 201, n. 1–3, p. 18–21, 2010.
- TAO, R. et al. Development and validation of a multiplex insertion/deletion marker panel, SifaInDel 45plex system. **Forensic science international. Genetics**, v. 41, p. 128–136, 2019.
- THORNTON, R.; HUTCHINSON, E. F.; EDKINS, A. L. PCR based method for sex estimation from bone samples of unidentified South African fetal remains. **Forensic Science International: Reports**, v. 4, n. 100248, p. 100248, 2021.
- TOSATO, F. et al. Paper spray ionization mass spectrometry allied to chemometric tools for quantification of whisky adulteration with additions of sugarcane spirit. **Analytical methods: advancing methods and applications**, v. 10, n. 17, p. 1952–1960, 2018.

- TURINGAN, R. S. et al. Identification of human remains using Rapid DNA analysis. **International journal of legal medicine**, v. 134, n. 3, p. 863–872, 2020.
- TURINGAN, R. S. et al. Rapid DNA analysis for automated processing and interpretation of low DNA content samples. **Investigative genetics**, v. 7, n. 1, p. 2, 2016.
- VOSGERAU R.D.S; ROMANOWSKI, J.P. Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas. **Revista diálogo educacional**, v. 14, n. 41, p. 165, 2014.
- Virkler K., Lednev I.K., Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to nondestructive rapid confirmatory identification at a crime scene, **Forensic Sci. Int.** 188 (2009) 1–17.
- WARD, J. The past, present and future state of missing persons investigations in Australia. **The Australian journal of forensic sciences**, p. 1–15, 2018.
- WATHERSTON, J. et al. Current and emerging tools for the recovery of genetic information from post mortem samples: New directions for disaster victim identification. **Forensic science international. Genetics**, v. 37, p. 270–282, 2018.
- WATHERSTON, J. et al. Current and emerging tools for the recovery of genetic information from post mortem samples: New directions for disaster victim identification. **Forensic science international. Genetics**, v. 37, p. 270–282, 2018.
- WATTHANAPANPITUCK, K. et al. Identification of human DNA in forensic evidence by loop-mediated isothermal amplification combined with a colorimetric gold nanoparticle hybridization probe. **International journal of legal medicine**, v. 128, n. 6, p. 923–931, 2014.
- WEI, S. et al. Ratio analysis nuclear magnetic resonance spectroscopy for selective metabolite identification in complex samples. **Analytical chemistry**, v. 83, n. 20, p. 7616–7623, 2011.

- WEI, X. et al. Species identification of semen stains by ATR FT-IR spectroscopy. **International journal of legal medicine**, v. 135, n. 1, p. 73–80, 2021.
- WILSON, A. S. et al. Modelling the buried human body environment in upland climes using three contrasting field sites. **Forensic science international**, v. 169, n. 1, p. 6–18, 2007.
- XU, Y. et al. Development of highly sensitive and specific mRNA multiplex system (XCYR1) for forensic human body fluids and tissues identification. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e100123, 2014.
- ZAPATA, F.; DE LA OSSA, M. Á. F.; GARCÍA-RUIZ, C. Differentiation of body fluid stains on fabrics using external reflection Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and chemometrics. **Applied spectroscopy**, v. 70, n. 4, p. 654–665, 2016.
- ZHANG, Z. et al. Sensitive method for the confident identification of genetically variant peptides in human hair keratin. **Journal of forensic sciences**, v. 65, n. 2, p. 406–420, 2020.
- ZIĘTKIEWICZ, E. et al. Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis. **Journal of applied genetics**, v. 53, n. 1, p. 41–60, 2012.
- ZULFIQAR, M. et al. Hyperspectral Imaging for bloodstain identification. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 21, n. 9, 2021.
- WADSWORTH, C. et al. Comparing ancient DNA survival and proteome content in 141 69 archaeological cattle tooth and bone samples from multiple European sites. **Journal of Proteomics**, v. 158, p. 1–8, 2017.

APÊNDICE 1- ESTRATÉGIAS DE BUSCAS USADAS NAS BASES DE DADOS

BASE PUBMED

#1((((((((("forensic anthropology"[MeSH Terms]) NOT (("Forensic Sciences/abnormalities"[Mesh] OR "Forensic Sciences/adverse effects"[Mesh] OR "Forensic Sciences/diagnostic imaging"[Mesh] OR "Forensic Sciences/epidemiology"[Mesh] OR "Forensic Sciences/legislation and jurisprudence"[Mesh] OR "Forensic Sciences/microbiology"[Mesh] OR "Forensic Sciences/organization and administration"[Mesh] OR "Forensic Sciences/pathology"[Mesh] OR "Forensic Sciences/pharmacology"[Mesh] OR "Forensic Sciences/psychology"[Mesh] OR "Forensic Sciences/surgery"[Mesh] OR "Forensic Sciences/therapy"[Mesh] OR "Forensic Sciences/toxicity"[Mesh] OR "Forensic Sciences/veterinary"[Mesh] OR "Forensic Sciences/virology"[Mesh]))) OR ("forensic medicine"[MeSH Terms])) OR ("forensic science"[All Fields])) OR ("human identification"[All Fields])) OR ("forensic medicine"[All Fields])) OR ("legal medicine"[All Fields])) OR ("forensic genetic"[All Fields])) OR ("body remain*"[All Fields])) OR ("human remain*"[All Fields]) OR ("electrophoresis"[MeSH Terms]) OR ("electrophoresis"[All Fields])

#2 (((("chemistry techniques, analytical"[MeSH Terms]) OR ("analytical tool*"[All Fields])) OR ("analytical method*"[All Fields])) OR ("analytical chemistry technique*"[All Fields])) OR ("analytical chemistry method*"[All Fields])

#1 AND #2 AND 2012/01/01:2022/05/11[dp]

SCOPUS

(TITLE-ABS-KEY ("Forensic Anthropology") OR TITLE-ABS-KEY ("Forensic Medicine") OR TITLE-ABS-KEY ("Forensic Science") OR TITLE-ABS-KEY ("Human Identification") OR TITLE-ABS-KEY ("Forensic Medicine") OR TITLE-ABS-KEY ("Legal Medicine") OR TITLE-ABS-KEY ("Forensic Genetic") OR TITLE-ABS-KEY ("Body Remains") OR TITLE-ABS-KEY ("Human Remains") AND TITLE-ABS-KEY ("chemistry techniques, analytical") OR TITLE-ABS-KEY ("analytical tools") OR TITLE-ABS-KEY ("analytical methods") OR TITLE-ABS-KEY ("Analytical Chemistry Technique") OR TITLE-ABS-KEY ("Analytical Chemistry Method*") AND NOT TITLE-ABS-KEY(" electrophoresis))

WEB OF SCIENCE

"Forensic Anthropology" OR "Forensic Medicine" OR "Forensic Science" OR "Human Identification" OR "Legal Medicine" OR "Forensic Genetic" OR "Body Remains" OR "Human Remains" AND "chemistry techniques, analytical" OR "analytical tools" OR "analytical methods" OR "Analytical Chemistry Technique" OR "Analytical Chemistry Methods" NOT electrophoresis