



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JÚLIA EVELYN DE SOUSA RODRIGUES

**METODOLOGIAS FORENSES ATUAIS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO
GENÉTICA DE AMOSTRAS *POST MORTEM* DE VÍTIMAS DE DESASTRES: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**CAMPINA GRANDE
2021**

JÚLIA EVELYN DE SOUSA RODRIGUES

**METODOLOGIAS FORENSES ATUAIS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO
GENÉTICA DE AMOSTRAS *POST MORTEM* DE VÍTIMAS DE DESASTRES: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado ao curso de bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Genética Forense

Orientador: Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes

**CAMPINA GRANDE
2021**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R696m Rodrigues, Júlia Evelyn de Sousa.
Metodologias forenses atuais utilizadas na identificação genética de amostras *post mortem* de vítimas de desastres [manuscrito] : uma revisão bibliográfica / Júlia Evelyn de Sousa Rodrigues. - 2021.
24 p.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.
"Orientação : Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes, Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."
1. Análise forense. 2. Identificação humana. 3. DNA. 4. Biologia forense. I. Título
21. ed. CDD 595.7

JÚLIA EVELYN DE SOUSA RODRIGUES

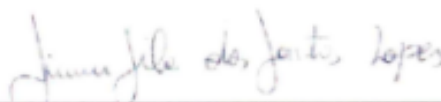
**METODOLOGIAS FORENSES ATUAIS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO
GENÉTICA DE AMOSTRAS *POST MORTEM* DE VÍTIMAS DE DESASTRES: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentada ao curso de bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas

Área de concentração: Genética Forense

Aprovada em: 23/11/2021

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Ma. Silvana Magna Cavalcante do Monte
Instituto de Polícia Científica da Paraíba (IPC)



Prof. Dr. Walclécio Moraes Lira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico à minha tia, Francisca Sandra de Sousa Brito, que partiu precocemente no final da minha graduação, deixando além de saudades, o maior exemplo de luta e determinação que já vi na vida. Obrigada.

“A biologia é o estudo de coisas complicadas que parecem ter sido projetadas com um propósito.”

Richard Dawkins

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIMs	Marcadores Informativos de Ancestralidade
BP	Pares de bases
CODIS	Sistema Combinado de Índice de DNA
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DVI	Identificação de Vítimas de Desastres
FTA	“Encontre o agente”
mtDNA	DNA Mitocondrial
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
STR	Repetições Curtas em Tandem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 Ciência forense e identificação humana pelo DNA.....	10
2.2 Identificação genética de amostras post mortem de vítimas de desastres (DVI).....	10
2.3 Utilização de dentes e ossos na identificação humana.....	11
2.4 Marcadores genéticos utilizados na identificação humana	12
2.5 DNA mitocondrial.....	13
2.6 Banco de perfis genéticos.....	13
3. OBJETIVO.....	14
4. METODOLOGIA.....	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	14
5.1 Metodologias descritas.....	16
6. CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS.....	20

METODOLOGIAS FORENSES ATUAIS UTILIZADAS NA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA DE AMOSTRAS *POST MORTEM* DE VÍTIMAS DE DESASTRES: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

JÚLIA EVELYN DE SOUSA RODRIGUES*

RESUMO

A identificação forense de amostras *post mortem* de vítimas de desastres é necessária por razões não apenas humanitárias, mas também devido à investigação civil e/ou criminal, sendo essencialmente baseada na antropologia forense, impressões digitais, odontologia forense, radiologia e tipagem de DNA. Contudo, a análise utilizando o DNA se tornou o padrão ouro para a identificação de pessoas tanto em incidentes com vítimas em massa quanto em casos forenses em que restos mortais são altamente fragmentados e/ou degradados. No entanto, em cenários de desastres em massa, um grande número de restos mortais ficará extremamente comprometido. Com isso, os avanços na tecnologia e no campo da biologia forense têm aumentado as opções de coleta, amostragem, preservação e processamento de amostras para perfis de DNA. O presente trabalho reuniu as principais metodologias forenses descritas atualmente na literatura utilizadas na identificação genética de amostras *post mortem* de vítimas de desastres. O estudo foi desenvolvido por meio de uma revisão sistemática da literatura científica, onde foram selecionados 34 artigos através da plataforma de bases de dados PUBMED do National Center for Biotechnology Information (NCBI), selecionando artigos dos últimos 5 anos. A busca foi feita, por meio da combinação dos seguintes descritores: DNA, Human identification, Disaster. Com base nestes artigos foram encontradas metodologias de extração para amostras de ossos, swab bucal, músculo, dentes, sangue, fígado, medula óssea, cartilagem e cérebro, havendo artigos que utilizaram mais de um tipo de amostra. Os fragmentos de ossos foram identificados como a amostra mais utilizada na extração de DNA de vítimas de desastres, evidenciando o fato que os tecidos rígidos constituem boas fontes de amostras biológicas para as análises moleculares pela conservação de suas estruturas durante o período post mortem. Entretanto, as amostras de ossos possuem vários requisitos que o tornam desafiador em desastres em massa, o que acaba tornando um método caro e demorado. Portanto, concluímos que dentre os artigos analisados, que descrevem as metodologias que utilizam a transferência de amostras coletadas com swabs para cartões FTA e o sistema de DNA rápido para amostras de sangue, swab bucal e músculo, apresentam uma alternativa para reduzir custos, tempo e simplificar o procedimento, demonstrando inúmeras vantagens em relação às metodologias atuais e evidenciando a necessidade de atualização contínuas das metodologias utilizada no intuito de aprimorar os processos e métodos utilizados na análise forense.

Palavras-Chave: DNA. Desastres em massa. Identificação Humana. Metodologias forenses.

ABSTRACT

Forensic identification of post-mortem samples from disaster victims is necessary for not only humanitarian reasons, but also due to civil and/or criminal investigation, and is essentially based on forensic anthropology, fingerprints, forensic dentistry, radiology and DNA typing. However, DNA profiling has become the gold standard for identifying people both in mass casualty incidents and in forensic cases where human remains are highly fragmented and/or degraded. However, in mass disaster scenarios, a large number of human remains will be extremely compromised. With this, advances in technology and in the field of forensic biology have increased the options for collecting, sampling, preserving and processing samples for DNA profiles. The present work brought together the main forensic methodologies currently described in the literature used in the genetic identification of post-mortem samples from disaster victims. The study was developed through a systematic review of the scientific literature, where 34 articles were selected through the PUBMED database platform of the National Center for Biotechnology Information (NCBI), selecting articles from the last 5 years. The search was performed by combining the following descriptors: DNA, Human identification, Disaster. Based on these articles, extraction methodologies were found for samples of bone, oral swab, muscle, teeth, blood, liver, bone marrow, cartilage and brain, with articles that used more than one type of sample. Bone fragments were identified as the most used sample in the extraction of DNA from disaster victims, evidencing the fact that hard tissues are good sources of biological samples for molecular analysis due to the conservation of their structures during the post mortem period. However, bone samples have several requirements that make them challenging in mass disasters, which turns out to be an expensive and time-consuming method. Therefore, we conclude that among the articles analyzed, which describe the methodologies that use cotton swabs and the rapid DNA system for blood, oral swab and muscle samples, they present an alternative to reduce costs, time and simplify the procedure, demonstrating numerous advantages over to current methodologies and highlighting the need for continuous updating of the methodologies used in order to improve the processes and methods used in forensic analysis.

Keywords: DNA. Disasters. Human Identification. Forensic methodologies.

1 INTRODUÇÃO

A identificação humana é definida por um conjunto de características individualizantes através dos quais se determina a identidade de um indivíduo. Na identificação genética é determinado o perfil genético individual a partir de biológicas, assim, estudam-se marcadores genéticos para identificação no âmbito de processos de investigação biológica de parentesco, processos de identificação genética individual e processos criminais (MARTINS, 2027). A identificação humana por DNA é atualmente considerada crucial para a resolução de situações que envolvem matéria penal, bem como os relacionados com a paternidade e continua revolucionando as áreas legais e criminais. Esta abordagem baseia-se principalmente nas diferenças entre indivíduos em regiões não codificantes do genoma. Estas diferenças são o princípio básico da metodologia utilizada em Genética Forense (EKERT, et al., 2016). Os meios primários e mais confiáveis para a identificação de vítimas de desastres (DVI) são a análise de impressões digitais, comparação dentária, evidências antropológicas e análise de DNA. Contudo, o perfil de DNA se tornou o padrão ouro para a identificação de pessoas tanto em acidentes com vítimas em massa quanto em casos forenses em que restos mortais são altamente fragmentados e/ou degradados (WATHERSTON, et al., 2018; TURINGAN, et al., 2019). No entanto, em cenários de desastres em massa, um grande número de restos mortais ficará extremamente comprometido. Todavia, os avanços na tecnologia e no campo da biologia forense têm aumentado as opções de coleta, amostragem, preservação e processamento de amostras para perfis de DNA (WATHERSTON, et al., 2018). O DNA pode ser coletado de quase qualquer parte do corpo, mesmo quando os restos mortais estão em um estado avançado de decomposição. Dentre os mais diversos materiais biológicos passíveis de serem analisados, dentes e ossos são frequentemente as únicas fontes de DNA disponíveis para identificação de amostras degradadas ou fragmentadas de restos humanos (DE BOER et al, 2018). Se tratando dos dentes, isto acontece devido a composição única dos dentes e sua localização na mandíbula fornece proteção adicional ao DNA em comparação com os ossos, tornando-os a fonte preferida de material genético em muitos casos, apesar das alterações *post-mortem* na estrutura e composição dos dentes que podem vir a ocorrer (HIGGINS & AUSTIN, 2013). Devido à grande necessidade e importância de se obter DNA para a identificação de vítimas *post mortem*, a proposta do presente trabalho foi a realizar uma revisão sistemática na literatura, a fim de reunir informações acerca das metodologias forenses mais atuais utilizadas na identificação genética de amostras *post mortem* de vítimas de desastres, identificando quais partes corporais são frequentemente utilizadas de forma eficaz na extração, tendo em vista que os restos esqueléticos costumam ser severamente danificados pelo meio ambiente além de sofrerem risco de contaminação cruzada de DNA. Segundo MARTINS (2001), a pesquisa bibliográfica ou revisão da literatura procura explicar e discutir um tema com base em referências teóricas publicadas em livros, revistas, periódicos e outros. Busca também, conhecer e analisar conteúdos científicos sobre determinado tema. De acordo SAMPAIO & MANCINI (2007), esse tipo de estudo serve para nortear o

desenvolvimento de projetos, indicando novos rumos para futuras investigações e identificando quais métodos de pesquisa foram utilizados em uma área.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ciência forense e identificação humana pelo DNA

Em meados dos anos 80, o primeiro método de utilização de análise de DNA para identificar indivíduos foi desenvolvido por Alec Jeffreys, e no início, havia muitas dúvidas quanto à reprodutibilidade e a confiabilidade dos métodos. Após o avanço da ciência e tecnologia, a análise do DNA a nível forense tornou-se uma das mais poderosas ferramentas para a identificação humana e investigações criminais (LEITE, et al, 2013).

A identificação humana por meio da análise do DNA representa um avanço revolucionário da Genética Moderna. Em pouco tempo tornou-se uma ferramenta indispensável na investigação criminal, sendo aceita rotineiramente em processos judiciais em todo o mundo (LIMA & de MEDEIROS, 2015). O DNA é o material mais analisado nas investigações criminais, pois ele apresenta uma maior resistência ao meio ambiente e maior facilidade de manuseio, características que o tornam ferramenta fundamental na elucidação de crimes e também na identificação humana (SANTOS, 2014).

O estudo do DNA obtido de vestígios biológicos é definido como a mais importante técnica de identificação humana desde a descoberta do método das impressões digitais, pois é um importante instrumento de combate à criminalidade e à impunidade, uma vez que gera provas materiais irrefutáveis, e que podem ser utilizadas para incriminar ou inocentar uma pessoa. Assim, para que a técnica de identificação de DNA seja plenamente realizada, a amostra biológica a ser analisada deve ser corretamente escolhida, coletada, transportada e armazenada (SILVA & PASSOS, 2006), sendo indispensável a capacitação da equipe forense acerca da coleta apropriada, armazenamento e metodologias de extração.

2.2 Identificação genética de amostras post mortem de vítimas de desastres (DVI)

Os desastres em massa são eventos repentinos, violentos, inesperados e indiscriminados que geralmente estão associados a um grande número de vítimas e requerem recursos significativos para o manejo (PRAJAPATI, et al., 2018). Pode ser causada por acidentes de trânsito, desastres naturais, erros humanos, problemas técnicos (incêndios, explosões), ataques terroristas e até guerras (DHANARDHONO, et al., 2013). Um aspecto essencial da gestão de desastres é a identificação de restos mortais, que geralmente é realizada por especialistas forenses. A identificação forense das vítimas é essencial, não apenas por razões humanitárias, mas também para fins de investigação civil ou criminal. É uma tarefa muito desafiadora porque os cadáveres são frequentemente degradados a tal ponto que não podem ser identificados apenas pelo exame físico geral (PRAJAPATI, et al., 2018).

Sendo assim, os meios primários e mais confiáveis para a identificação de vítimas de desastres (DVI) são a análise de impressões digitais, comparação dentária, evidências antropológicas e análise de DNA. Contudo, o perfil de DNA se

tornou o padrão ouro para a identificação de pessoas tanto em acidentes com vítimas de desastres em massa quanto em casos forenses em que restos mortais são altamente fragmentados e/ou degradados (WATHERSTON, et al., 2018; TURINGAN, et al., 2019).

No entanto, em cenários de desastres em massa, um grande número de restos mortais ficará extremamente comprometido. Como alternativa, os avanços na tecnologia e no campo da biologia forense têm aumentado as opções de coleta, amostragem, preservação e processamento de amostras para perfis de DNA (WATHERSTON, et al., 2018).

O DNA é adequado para sobreviver a insultos físicos e químicos e é de enorme valor na identificação da vítima. Embora o DNA genômico dos tecidos moles se degrade logo após a morte devido à autólise, contaminação microbiana e insulto ambiental, o DNA presente nos tecidos rígidos, particularmente ossos e dentes, pode permanecer relativamente intacto por anos, décadas ou até milênios. (GIN, et al., 2020). Os tecidos rígidos, como ossos e dentes, constituem boas fontes de amostras biológicas para as análises moleculares pela conservação das estruturas celulares durante o período *post mortem*. (DE BOER, et al., 2018). Embora as amostras de osso continuem sendo o padrão ouro, os métodos de amostragem de DNA em contextos DVI são, por necessidade, variados e frequentemente adaptados às circunstâncias únicas do desastre. Amostras de osso para a extração de DNA tem vários requisitos que o tornam especialmente desafiador em desastres em massa. Isso inclui o acesso às ferramentas necessárias no campo para colher a amostra, a capacidade de descontaminar esses instrumentos no campo e o envio desses tipos de amostras maiores para o laboratório de análise de forma fácil e eficiente (MUNDORFF, et al., 2018).

A identificação de restos mortais usando a análise de DNA pode ser extremamente desafiadora e seu sucesso é certamente influenciado pelo tempo decorrido desde a morte (CORREA, et al., 2020). O intervalo entre o desastre e o recebimento das amostras da vítima em um laboratório é crítico, pois a qualidade da amostra se deteriora à medida que o intervalo pós-morte aumenta. Quando os corpos se decompõem devido ao atraso na coleta, transporte e processamento da amostra, o DNA se torna progressivamente fragmentado, afetando negativamente a identificação (TURINGAN, et al., 2019).

Para fins de DVI, a análise comparativa de DNA tem duas pré-condições básicas a serem atendidas: É necessário uma amostra não contaminada com o DNA da vítima ou parte separada do corpo (*post mortem*), e uma amostra de referência não contaminada com DNA da suposta vítima ou de seus parentes genéticos (*ante mortem*) (DE BOER, et al, 2018).

A tecnologia mais comumente utilizada na identificação de DNA em vítimas de desastres é a amplificação de marcadores obtidos por reação em cadeia da polimerase (PCR) de um número variável de loci de short tandem repeats (STR). Contudo, de acordo com a alta degradação das amostras de DNA, apresentando moléculas muito pequenas, com menos de 150 pares de base, essa tecnologia se desenvolveu em outras novas técnicas para adaptar-se a este cenário, um exemplo são os Mini-STR, sendo considerado o padrão ouro para a identificação de DNA nessas condições, apresentando resultados eficientes (FUNABASHI, et al, 2009).

2.3 Utilização de dentes e ossos na identificação humana

Dentes e ossos de restos humanos esqueletizados são frequentemente usados como fontes de DNA para realizar análises genéticas de espécimes forenses, arqueológicos e de museus. A extração de DNA dessas amostras é um primeiro passo crítico na análise genética desses restos. No entanto, existem diversos fatores que afetam o sucesso do procedimento. O DNA humano está sujeito a uma ampla gama de reações de degradação que ocorrem após a morte. Além disso, restos esqueléticos são expostos a microorganismos. Como resultado, os fragmentos de DNA nessas circunstâncias são geralmente curtos, com tamanhos de fragmento variando de cerca de 50 a 100 bp. Assim, maximizar a recuperação do DNA endógeno é uma etapa essencial antes da análise genética dos restos mortais (MCCORD, et al., 2018).

A degradação voluntária, acidental, ou natural post-mortem, assim como as condições ambientais, influencia o estado do corpo, tornando-se eventualmente difícil a obtenção de material biológico adequado para a análise genética do DNA. De acordo com suas características anatômicas e morfológicas, os dentes são particularmente resistentes às agressões externas e são, portanto, adequados para este tipo de pesquisa. Pelo fato de o esmalte dentário ser a substância mais dura do corpo humano, os dentes e suas estruturas frequentemente resistem a eventos post mortem que provocam a destruição de outros tecidos (LIMA & MEDEIROS, 2015).

A importância da Odontologia Legal para a identificação humana, principalmente em casos nos quais pouco resta para se proceder a essa identificação (incêndios, explosões, corpos em decomposição ou esqueletizados), levou os odontologistas, a se familiarizar com as novas tecnologias da biologia molecular (VIEIRA, et al., 2010).

2.4 Marcadores genéticos utilizados na identificação humana

A tecnologia mais comumente utilizada na identificação de DNA em vítimas de desastres é a amplificação de marcadores obtidos por reação em cadeia da polimerase (PCR). Duas classes de marcadores muito utilizadas atualmente são os STRs, que são Repetições Curtas em Tandem e os SNPs, que são os Polimorfismo de Nucleotídeo Único. Os STRs são altamente informativos e, portanto, úteis para a prática forense. Já os SNPs, por possuírem sua informatividade mais reduzida (necessita de mais loci analisados), são menos utilizados, porém apresentam vantagem em amostras degradadas de DNA e facilitam também a análise de parentesco distante devido às suas taxas de mutação mais baixas em comparação com os STRs (SILVA, 2018).

Os Y-STRs são marcadores genéticos de herança uniparental, ou seja, são passados dos pais aos filhos homens e estão situados no cromossomo Y humano. Ao conjunto da informação relativa a vários marcadores STRs num mesmo cromossomo dá-se o nome de haplótipo. O conjunto de dados de loci analisados pode caracterizar o indivíduo, sendo os mesmos alelos encontrados nos irmãos, tios, primos, avô e demais antepassados masculinos. O conjunto desses haplótipos também pode caracterizar populações (SCHWENGBER, et al., 2008).

Desde a introdução do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), marcadores no campo da genética forense, um grande número de marcadores SNP foram desenvolvidos para diferentes aplicações, como a identificação de indivíduos, inferência de ancestralidade e predição de características fenotípicas. Os

marcadores SNP para identificação individual foram investigados precocemente e atualmente representam um método suplementar promissor para a tipagem forense de STR em muitos casos. Os marcadores SNP podem ser projetados em amplicons de tamanho menor, que fornecem maior recuperação de informações genéticas de amostras degradadas, bem como facilitam também a análise de parentesco distante devido às suas taxas de mutação mais baixas em comparação com os STRs (CHO, et al., 2020).

Uma sequência polimórfica deve existir em mais de 1% da população para possibilitar a identificação humana. Logo têm-se utilizado com frequência marcadores polimórficos por além de destacar o material alvo dentro da diversidade polimórfica, garantir o anonimato civil dos perfis analisados impossibilitando a observação de outras características genéticas como doenças, progênie, dentre outros e servindo de material completar no processo penal. Essas sequências possuem alelos com diversos tipos e quantidades de mutações possibilitando a detecção de um padrão único (DECANINE, 2016).

2.5 DNA mitocondrial

Em genética forense dois tipos de DNA podem ser utilizados para investigações de amostras biológicas humanas ou vestígios, o DNA nuclear e/ou o DNA mitocondrial (mtDNA). A análise da sequência de mtDNA humano está sendo amplamente utilizada para caracterizar amostras biológicas forenses, principalmente quando o DNA nuclear das amostras é insuficiente para a tipagem. Fios de cabelo, ossos, dentes e outras amostras que estão extremamente decompostas podem ser sujeitas a análise de mtDNA (PINTO, et al, 2016).

A principal vantagem do mtDNA é que existe um número alto de cópias em cada célula, causado pelo alto número de mitocôndrias presentes na maioria das células, e ao fato deste DNA ser circular, e presente dentro de uma organela com membrana celular dupla, o mtDNA possui certa proteção quanto ao grau de degradação. Isso infere que, nos casos em que o DNA genômico não pode ser analisado, possivelmente por estar muito degradado, o mtDNA se torna uma alternativa viável por estar presente em quantidade suficiente (PINTO, et al, 2016).

2.6 Banco de perfis genéticos

O sistema de Índice de DNA Combinado (CODIS) criado pelo FBI, que começou como um projeto piloto em 1990 e ganhou força em 1994, deu ao FBI a autoridade de estabelecer um banco de dados em nível nacional para fins de investigação criminal. A base do CODIS é a comparação dos perfis genéticos obtidos dos vestígios biológicos em local de crime com os cadastros no banco de identificação a partir de outros crimes. Existem dois arquivos diferentes de perfis genéticos com objetivos complementares. O “Índice Forense” (Forensic Index) que contém perfis genéticos obtidos a partir de cenas de crimes e o “Índice de Criminosos” (Offender Index) com perfis genéticos de criminosos condenados por crimes sexuais e outros crimes violentos. A partir de fevereiro de 2016 o CODIS contava com 684.519 perfis forenses e 14.464.461 perfis criminosos, sendo a maior base de dados de DNA no mundo (DECANINE, 2016).

A Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), instituída pelo Decreto nº 7950/2013, foi criada com a finalidade principal de manter, compartilhar e comparar perfis genéticos a fim de ajudar na apuração criminal e/ou na instrução processual. Trata-se de uma ação conjunta entre Secretarias de Segurança Pública, Secretaria Nacional de Segurança Pública e Polícia Federal para o compartilhamento de perfis genéticos obtidos em laboratórios de Genética Forense. No contexto de apuração criminal, perfis genéticos oriundos de vestígios de locais de crimes são confrontados entre si, assim como com perfis genéticos de indivíduos cadastrados criminalmente. Outra utilização primordial dos bancos de perfis genéticos é a identificação de pessoas desaparecidas. Neste contexto, perfis oriundos de restos mortais não identificados, bem como de pessoas de identidade desconhecida, são confrontados com perfis de familiares ou de referência direta do desaparecido, tais como escova de dente ou roupa íntima (XV RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS, 2021).

3 OBJETIVO

Realizar uma revisão sistemática da literatura sobre metodologias forenses atuais utilizadas na identificação genética de amostras *post mortem* de vítimas de desastres.

4 METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido por meio de uma revisão sistemática da literatura, utilizando a plataforma de bases de dados PUBMED do National Center for Biotechnology Information (NCBI), a busca dos artigos foi realizada, por meio da combinação das seguintes palavras-chave: DNA, Human identification, Disaster. Como critérios de inclusão, foram selecionados artigos dos últimos 5 anos (intervalo entre 2016 e 2021) que tratassem de métodos de extração de DNA de vítimas de desastres, identificando quais partes corporais são mais frequentes e eficazes utilizadas na extração. Como critério de exclusão, foram eliminados os artigos de revisão sistemática, e/ou estudos onde as amostras foram coletadas aleatoriamente simulando uma situação de desastre e não se referiam à vítimas de desastres reais. A análise das informações foi realizada por meio de leitura exploratória do material encontrado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram selecionados 34 artigos, dos quais 19 não se enquadraram nos critérios, em razão da metodologia dos estudos tratar de revisão sistemática, ou em casos que as amostras foram coletadas aleatoriamente simulando uma situação de desastre e não se referiam à vítimas de desastres reais.

Dos 15 artigos selecionados pelos critérios de inclusão, foram encontradas metodologias de extração para amostras de ossos, swab bucal, músculo, dentes, sangue, fígado, medula óssea, cartilagem e cérebro, havendo artigos que utilizaram mais de um tipo de amostra biológica (Tabela 1).

Tabela 1. Autores e a escolha de suas respectivas amostras e metodologias utilizadas

AUTOR	AMOSTRAS	METODOLOGIA
Ambers, et al., 2018	Ossos	Tipagem Y-STR utilizando dois kits de extração (Yfiler™ e Yfiler™ Plus)
Bertoglio et al., 2019	Saliva, sangue e tecido muscular	Análise STR usando dois kits comerciais (Powerplex 17 ESX, Promega ou NGMSelect, AppliedBiosystems)
Calacal, et al., 2021	Ossos	Avaliação do rendimento de DNA e a eficiência de amplificação usando um novo tampão de desmineralização óssea personalizado (DMB; Promega)

Tabela 1. Autores e a escolha de suas respectivas amostras e metodologias utilizadas (continuação)

AUTOR	AMOSTRAS	METODOLOGIA
Chaitanya, et al., 2017	Ossos e dentes	Chaitanya, et al., 2017
Cho, et al., 2020	Ossos	Tipagem STR autossômica e cromossômica Y
De Boer, et al., 2018	Músculo, ossos, medula óssea e dentes	Standard Operating Procedure (SOP)
Elwick, et al., 2019	Ossos e dentes	Sequenciamento através das plataformas Ion S5™ e MiSeq FGx™

Kitayama, et al., 2020	Swab bucal, sangue e músculo	Rapid DNA
Kumar, et al., 2020	Swab bucal	Marcadores informativos de ancestralidade de DNA (AIMs)
Loockerman, et al., 2021	Músculo	Cotonetes microFLOQ® + QIAGEN Investigator QS GO! Kit.
Mundorff, et al., 2018	Swab bucal	FTA® cards
Sahoo, et al., 2021	Ossos	Pré-processamento ósseo em lisador de tecido (Mill Mix 20)
Turingan, et al., 2019	Swab bucal, músculo, fígado, cérebro, dente e osso	Rapid DNA

Tabela 1. Autores e a escolha de suas respectivas amostras e metodologias utilizadas (conclusão)

AUTOR	AMOSTRAS	METODOLOGIA
Uzair et al., 2017	Ossos	Extração orgânica, método de desmineralização total, Qiagen kit e extração Chelex.
Wang, et al., 2017	Cartilagem	Amplificação direta para a análise de STR, através do kit PowerPle® 21

Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

5.1 Metodologías descritas

O estudo de Turingan, et al., 2019, apresenta resultados sobre a identificação rápida de DNA realizada em vários tipos de tecido, incluindo swab bucal, músculo, fígado, cérebro, dente e osso. Embora a análise do DNA seja considerada como o padrão ouro na identificação de vítimas de desastres, esse método é demorado, muitas vezes exigindo vários meses a anos para análise e requer instalações laboratoriais sofisticadas com analistas de DNA treinados para executar o método. A

nova tecnologia em DNA rápido mitigou a necessidade de análises demoradas por esses especialistas. O sistema ANDE Rapid DNA Identification, que compreende o instrumento ANDE 6C, A- e I-Chips e o software Expert System, recebeu a aprovação do National DNA Index System (NDIS) do FBI para o processamento automatizado de swabs bucais em 2018. O sistema utiliza um ensaio multiplexado, FlexPlex27, que analisa 27 loci STR simultaneamente (23 autossômicos, 3 cromossômicos Y e amelogenina). Essa tecnologia desempenhou um papel fundamental na identificação de restos mortais de vítimas de um incêndio florestal na Califórnia que ocorreu em 2018. Pela primeira vez, a identificação rápida de DNA foi utilizada para identificar a maioria das vítimas dentro em poucas horas ou dias após o desastre. Para swab bucal e tecido, os resultados são gerados em menos de 2h, para osso fresco os resultados são gerados em 3h e para amostras de osso mais antigas, os resultados são gerados *overnight*. Foi identificado que as amostras de esfregaços bucais são eficazes no período de até 11 dias de exposição às condições do desastre, enquanto as amostras de osso e dente geraram resultados excelentes mesmo após anos.

O estudo de Kitayama, et al., 2020 também empregou a metodologia de DNA rápido em amostras de swab bucal, sangue e músculo. As taxas de sucesso de amostras frescas de DVI foram de 80% a 100% e as taxas de sucesso de amostras DVI putrefatas variaram amplamente entre 0% e 20% e 50% a 80%, dependendo do tipo da amostra. O sistema Rapid DNA é uma escolha adequada, mas deve ser limitado a amostras que podem ser facilmente coletadas novamente se necessário ou amostras que estejam em quantidade suficiente para análises repetidas.

Amostras de ossos são utilizadas como fonte de DNA na identificação de vítimas de desastres e investigações de restos mortais. No entanto, a recuperação de DNA de ossos é demorada e sujeita a contaminação. Uma abordagem lógica para a identificação *post mortem* é validar métodos eficientes de extração de DNA que requerem menos material ósseo usando kits moleculares aprimorados com menos tempo e fluxos de trabalho. No estudo de Calacal, et al., 2021, foi avaliado o rendimento de DNA e a eficiência de amplificação de extratos de DNA usando um novo tampão de desmineralização óssea personalizada (DMB; Promega) e extraído por meio de fluxos de trabalho manuais e automatizados pelo kit DNA IQ™. Incluindo a etapa de desmineralização, o protocolo ósseo pôde ser concluído em aproximadamente 4 horas. Já no estudo de Sahoo, et al., 2021, avaliou a eficácia de um novo método de pré-processamento ósseo para melhor rendimento de DNA. Essas amostras foram pré-processadas triturando os ossos em um lisador de tecido (Mill Mix 20). As mesmas amostras de osso também foram pré-processadas por raspagem da superfície dos ossos do fêmur manualmente usando um bisturi. Os resultados mostraram que a raspagem como um método de pré-processamento do osso do fêmur pode fornecer melhores rendimentos de DNA e perfis de STR do que aqueles obtidos pelo método de moagem padrão. Modificações simples nos métodos de pré-processamento podem melhorar drasticamente o sucesso da tipagem de DNA e fornecer perfis conclusivos e confiáveis, mesmo ao trabalhar com amostras difíceis e degradadas.

O trabalho de De Boer, et al., 2018, fornece um método eficiente para coletar amostras de DNA *post mortem* de músculos, ossos, medula óssea e dentes, mesmo em caso de decomposição severa, amostras danificadas e/ou queimadas. O método possui risco mínimo de contaminação, além de ser fácil, barato e rápido de obter os

materiais necessários. O método consiste em um procedimento operacional padrão (SOP ou *standard operating procedure*), o qual descreve as condições ideais do local de coleta, o qual deve ser limpo e separado de outros locais; o equipamento de proteção individual do coletor, contendo luvas e máscaras; E a preparação de removedor de DNA, que compreende uma solução aquosa de 1mL de sabão líquido e pelo menos 5% de alvejante, para fazer a higiene de instrumentos. O método foi aplicado na identificação das 298 vítimas do acidente de avião MH17 em 2014. 98,2% das amostras *post mortem* coletadas forneceram resultados de genotipagem de DNA altamente informativos, sem o risco de contaminação.

No estudo Elwick, et al., 2019, as amostras de osso e dente expostas a uma variedade de insultos de DNA (cremação, embalsamamento, decomposição, degradação térmica e fogo) foram utilizadas na avaliação de duas plataformas de sequenciamento, Ion S5™ e MiSeq FGx™, realizando amplificação combinada com eletroforese capilar e sequenciamento massivamente paralelo. Os resultados sugerem que o método de sequenciamento massivamente paralelo pode recuperar mais informações probatórias da maioria das amostras, mas os métodos baseados em eletroforese capilar foram mais robustos para identificar amostras esqueléticas.

Uzair, et al., 2017, avaliou quatro diferentes métodos de extração de DNA de ossos humanos queimados: o método de extração orgânica, o método de desmineralização total, o Qiagen kit e o método de extração Chelex. Este estudo conclui que a desmineralização total e o kit Qiagen são métodos sofisticados e confiáveis para obter um bom rendimento de DNA de ossos humanos queimados, que podem ser usados para a identificação de vítimas.

Ambers, et al., 2018, realizou um estudo comparativo da tipagem Y-STR utilizando dois kits de extração (Yfiler™ e Yfiler™ Plus) em amostras ósseas históricas, incluindo da segunda guerra mundial, possuindo resultado satisfatório mesmo em amostras de DNA antigo, no estudo de Chaitanya, et al., 2017, traz a identificação das cores dos olhos e cabelos de 49 amostras de DNA obtidas de ossos e dentes de vítimas também da Segunda Guerra Mundial, utilizando o sistema HirisPlex.

Cho, et al., 2020, utilizou 402 restos de ossos recuperados de uma ilha na província de Jeju, na Coréia, onde um grande desastre ocorreu em 1948. A primeira fase do processo de identificação foi realizada por meio de métodos convencionais de tipagem de DNA, incluindo tipagem STR autossômica e cromossômica Y e sequenciamento de DNA mitocondrial, que resultou na identificação de 74 dos 402 restos. A tipagem SNP está associada a múltiplas vantagens como um ferramenta complementar promissora à tipagem genética convencional para amostras desafiadoras, que também foi demonstrada na identificação em larga escala.

Embora as amostras de osso continuem sendo o padrão ouro, os métodos de amostragem de DNA em contextos DVI são, por necessidade, variados e frequentemente adaptados às circunstâncias únicas do desastre. Amostras de osso para a extração de DNA tem vários requisitos que o tornam especialmente desafiador em desastres em massa. Isso inclui o acesso às ferramentas necessárias no campo para colher a amostra, a capacidade de descontaminar esses instrumentos no campo e o envio desses tipos de amostras maiores para o laboratório de análise de forma fácil e eficiente. O estudo de Mundorff, et al., 2018, traz a identificação de vítimas de desastres utilizando o método FTA® cards, que consiste em um protocolo que envolve a coleta com swabs de incisões feitas em

cadáveres e posterior transferência para cartões FTA. A transferência de amostras coletadas com swabs para cartões FTA® apresenta inúmeras vantagens em relação aos padrões atuais. O DNA imobilizado em cartões FTA® elimina a necessidade de métodos de preservação adicionais, como refrigeração, congelamento, gelo seco ou entrada de produtos químicos para evitar maior degradação dos ácidos nucleicos que muitas vezes ficam inacessíveis após um desastre em massa, tornando-se um método simples, econômico, além de uma estratégia eficiente para facilitar a velocidade, precisão e redução de custos na identificação de DNA em larga escala.

Em Loockerman, et al., 2021, o DNA foi coletado esfregando o músculo de um cadáver humano em decomposição usando três tipos de cotonetes. Devido à facilidade de coleta e de armazenamento em condições adversas, os cotonetes podem ser usados para coletar DNA de restos mortais em decomposição como uma alternativa para amostras de tecido ou osso. A amplificação direta pode agilizar ainda mais o processo e reduzir custos. Este estudo investigou a eficácia da amplificação direta de amostras DVI usando microFLOQ® Cotonetes e o QIAGEN Investigator QS GO! Kit. Como resultado, foi definido que os cotonetes melhoram a facilidade de coleta, transporte e armazenamento em comparação com tecido ou osso.

Bertoglio et al., 2019, realizou análise STR usando dois kits comerciais (Powerplex 17 ESX, Promega ou NGMSelect, AppliedBiosystems) utilizando amostras de saliva, sangue e/ou tecido muscular de 364 corpos recuperados após um naufrágio e Kumar, et al., 2020, utilizou o swab bucal para a identificação de migrantes mortos no Mar Mediterrâneo através marcadores informativos de ancestralidade de DNA (AIMs).

O estudo de Wang, et al., 2017 teve como objetivo explorar a eficácia da amplificação direta para a análise de STR de cartilagem, utilizando o kit PowerPlex® 21. Em 88 amostras de cartilagem, os genótipos STR foram detectados com sucesso em 84 amostras, comprovando sua eficácia. Este método é operado de forma fácil e rápida, o que tem uma aplicação potencial na identificação individual de desastres em massa.

6 CONCLUSÃO

Os métodos de amostragem de DNA em contextos DVI são, por necessidade, variados e frequentemente adaptados às circunstâncias únicas do desastre. Constatou-se que é possível a extração de DNA *post mortem* através de uma gama de amostras biológicas, sendo esses tecidos rígidos ou moles, a depender dos fatores aos quais os cadáveres foram expostos e do nível de degradação do material. Os fragmentos de ossos foram identificados como a amostra mais utilizada na extração de DNA de vítimas de desastres, evidenciando o fato que os tecidos rígidos constituem boas fontes de amostras biológicas para as análises moleculares pela conservação de suas estruturas durante o período *post mortem*. Entretanto, as amostras de ossos possuem vários requisitos que o tornam desafiador em desastres em massa. Isso inclui o acesso às ferramentas necessárias no campo para colher a amostra, a capacidade de descontaminar esses instrumentos no campo e o envio desses tipos de amostras maiores para o laboratório de análise de forma fácil e eficiente, o que acaba tornando um método caro e demorado. As metodologias utilizando cotonetes e o sistema de DNA rápido selecionando amostras de sangue,

swab bucal e músculo apresentam uma alternativa para reduzir custos, tempo e simplificar o procedimento, apresentando inúmeras vantagens em relação aos padrões atuais. As amostras analisadas nos artigos foram expostas a diferentes níveis de degradação, tais como altas temperaturas e umidade, mesmo em tais condições, ainda apresentaram resultados satisfatórios, ainda em amostras de DNA antigo. Portanto, podemos concluir que dentre os artigos analisados, os que descrevem as metodologias que utilizam a transferência de amostras coletadas com swabs para cartões FTA e o sistema de DNA rápido para amostras de sangue, swab bucal e músculo, apresentam uma alternativa para reduzir custos, tempo e simplificar o procedimento, demonstrando inúmeras vantagens em relação às metodologias atuais e evidenciando a necessidade de atualização contínuas das metodologias utilizada no intuito de aprimorar os processos e métodos utilizados na análise forense.

REFERÊNCIAS

AMBERS, Angie *et al.* Improved Y-STR typing for disaster victim identification, missing persons investigations, and historical human skeletal remains. **International journal of legal medicine**, v. 132, n. 6, p. 1545-1553, 2018.

BERTOGLIO, Barbara *et al.* Disaster victim identification by kinship analysis: the Lampedusa October 3rd, 2013 shipwreck. **Forensic Science International: Genetics**, v. 44, p. 102156, 2019.

BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. **XV RELATÓRIO DA REDE INTEGRADA DE BANCOS DE PERFIS GENÉTICOS (RIBPG)**. Dados estatísticos e resultados - Mai/2021 a Nov/2021.

CALACAL, Gayvelline C. *et al.* Improved autosomal STR typing of degraded femur samples extracted using a custom demineralization buffer and DNA IQ™. **Forensic Science International: Synergy**, v. 3, p. 100131, 2021.

CHAITANYA, Lakshmi *et al.* Bringing colour back after 70 years: predicting eye and hair colour from skeletal remains of World War II victims using the HirisPlex system. **Forensic Science International: Genetics**, v. 26, p. 48-57, 2017.

CHO, Sohee *et al.* Large-scale identification of human bone remains via SNP microarray analysis with reference SNP database. **Forensic Science International: Genetics**, v. 47, p. 102293, 2020.

CORREA, Heitor Simoes Dutra *et al.* Human identification through DNA analysis of restored postmortem teeth. **Forensic Science International: Genetics**, v. 47, p. 102302, 2020.

DE BOER, Hans H. *et al.* DNA identification of human remains in Disaster Victim Identification (DVI): An efficient sampling method for muscle, bone, bone marrow and teeth. **Forensic science international**, v. 289, p. 253-259, 2018.

DECANINE, Daniela. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Rev. Bras. Crimin**, v. 5, n. 2, p. 18-27, 2016.

DHANARDHONO, T. *et al.* DNA profiling of disaster victim identification in Trenggalek shipwreck case. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 4, n. 1, p. e5-e6, 2013.

EKERT, M. H. F. *et al.* DNA forense aplicado na identificação de vítimas de crimes em Pernambuco, Brasil. **Rev Bras Crimin**, v. 5, n. 2, p. 14-7, 2016.

ELWICK, Kyleen *et al.* Utility of the Ion S5™ and MiSeq FGx™ sequencing platforms to characterize challenging human remains. **Legal Medicine**, v. 41, p. 101623, 2019.

FUNABASHI, Karina Silva *et al.* A importância da identificação humana nos desastres de massa naturais, acidentais ou provocados: uma abordagem multidisciplinar. **Saúde, Ética & Justiça**, v. 14, n. 2, p. 54-64, 2009.

GIN, Kim *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.

HIGGINS, Denice; AUSTIN, Jeremy J. Teeth as a source of DNA for forensic identification of human remains: a review. **Science & Justice**, v. 53, n. 4, p. 433-441, 2013.

KITAYAMA, Tetsushi *et al.* Evaluation of rapid DNA system for buccal swab and disaster victim identification samples. **Legal Medicine**, v. 46, p. 101713, 2020.

KUMAR, H. R. S. *et al.* Characterization of ancestry informative markers in the Tigray population of Ethiopia: A contribution to the identification process of dead migrants in the Mediterranean Sea. **Forensic science international: genetics**, v. 45, p. 102207, 2020.

LEITE, Viviane Da Silva *et al.* Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, v. 10, n. 34, p. 21, 2013.

LIMA, Hassan Lavalier de Oliveira; MEDEIROS, Urubatan Vieira de. Applicability of DNA in Forensic Dentistry. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, v. 14, n. 4, p. 801-808, 2015.

LOOCKERMAN, Coral *et al.* Collection and storage of DVI samples with microFLOQ® Direct swabs for direct amplification. **Forensic Science International: Genetics**, v. 55, p. 102588, 2021.

MARTINS, Cátia Andreia Pereira. Quantificação de DNA por PCR em Tempo Real em diferentes Amostras Forenses. 2017.

MARTINS, G. A. PINTO. R. **Manual para elaboração de trabalhos acadêmicos.** São Paulo: Atlas, 2001.

MCCORD, Bruce R. *et al.* Forensic DNA analysis. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 1, p. 673-688, 2018.

MUNDORFF, Amy Z. *et al.* An economical and efficient method for postmortem DNA sampling in mass fatalities. **Forensic Science International: Genetics**, v. 36, p. 167-175, 2018.

PINTO, Letícia Batista; CAPUTO, Isamara G. Cavalcanti; PEREIRA, Margaret Mitiko Inada. Importância do DNA em Investigações Forenses: Análise de DNA Mitocondrial. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 6, n. 1, p. 84-107, 2016.

PRAJAPATI, Ghevaram *et al.* Role of forensic odontology in the identification of victims of major mass disasters across the world: A systematic review. **PloS one**, v. 13, n. 6, p. e0199791, 2018.

SAHOO, Subhasish; SAMAL, Rashmita; BISWAS, Sumit. Efficacy of a novel bone preprocessing method for better DNA yield. **Forensic Science International**, v. 325, p. 110887, 2021.

SAMPAIO, Rosana Ferreira; MANCINI, Marisa Cotta. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 11, p. 83-89, 2007.

SANTOS, Sandra Maria dos. **Identificação humana como ferramenta de investigações criminais**: estudo de frequências alélicas de marcadores de interesse forense no Estado de Pernambuco. 2014.

SCHWENGBER, Solange Pereira et al. Utilização de marcadores de cromossomo Y como ferramenta visando a elucidação de casos de crimes sexuais na genética forense. 2008.

SILVA, Guilherme do Valle. **Análise de marcadores forenses (STRs e SNPs) rotineiramente empregados na identificação humana utilizando sequenciamento de nova geração.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

SILVA, Luiz Antônio Ferreira da; PASSOS, Nicholas Soares. DNA forense: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudo do DNA. **Maceió: UFAL, 84p**, 2006.

TURINGAN, Rosemary S. *et al.* Identification of human remains using Rapid DNA analysis. **International journal of legal medicine**, v. 134, n. 3, p. 863-872, 2019.

UZAIR, Anum; RASOOL, Nouman; WASIM, Muhammad. Evaluation of different methods for DNA extraction from human burnt bones and the generation of genetic profiles for identification. **Medicine, Science and the Law**, v. 57, n. 4, p. 159-166, 2017.

VIEIRA, Grasielle de Sousa; TAVARES, Carlos Alberto Pereira; BOUCHARDET, Fernanda Capurucho Horta. Análise de DNA em odontologia forense. **Arquivo brasileiro de odontologia**, v. 6, n. 2, p. 64-70, 2010.

WANG, C. H. *et al.* Individual Identification of Cartilage by Direct Amplification in Mass Disasters. **Fa yi xue za zhi**, v. 33, n. 3, p. 281-283, 2017.

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.

AGRADECIMENTOS

Ao meu colega Yorran Montenegro, pessoa que me incentivou a fazer a seleção para o laboratório de Genética e Biologia Molecular, sem você esse TCC não existiria.

A minha professora e orientadora Dra. Simone Lopes, especialmente pela ajuda, carinho, paciência e compreensão demonstrados inúmeras vezes durante esse tempo.

Aos meus amigos de turma e de estágio, pela amizade e apoio em momentos felizes e difíceis, a graduação se tornou mais leve com vocês. Agradeço especialmente a minha amiga Daphiner Millena, pessoa que se tornou uma grande companheira em absolutamente todos os momentos, sendo uma amizade que ultrapassa as fronteiras da UEPB e que levo para a vida.

Aos meus professores do Curso de Biologia da UEPB, que contribuíram tanto para minha formação profissional, como pessoal.

A minha mãe, pessoa que mais amo nessa vida, obrigada por fazer o possível e o impossível para que eu tivesse uma educação de qualidade e por sempre acreditar em mim, todas as minhas vitórias são suas também. Agradeço também ao meu irmão Jonatan, ao meu pai Carlos e ao meu namorado Edson Fabrício, pessoa que me incentivou a lutar pelos meus sonhos e a não desistir deles, obrigada por compartilhar a vida comigo.

Agradeço também a mim mesma, por conseguir concluir meu objetivo mesmo com todos os obstáculos físicos e emocionais que se fizeram presentes durante os últimos anos de graduação. Me orgulho por isso.

A todos no geral que contribuíram de forma direta e indireta para que eu chegasse até esta etapa.