

Relógios Biológicos da Morte: a Microbiologia na Estimativa do Intervalo *Post Mortem* em Ciências Forenses.

F. de A. Valenga^{a,b}, M.I. Manzano^b, M. Pileggi^{a,*}

^a – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

^b – UniCesumar – Centro Universitário Campus Curitiba, Brasil

*Endereço de e-mail para correspondência: mpileggi@uepg.br

Recebido em 11/12/2026; Revisado em 19/05/2026; Aceito em 19/09/2026

Resumo

A determinação do intervalo -morte (IPM) é fundamental em investigações criminais, sendo atualmente realizada com base em fenômenos cadavéricos ou na sucessão de insetos. Contudo, a estimativa precisa desse intervalo ainda representa um desafio para os peritos criminais, exigindo métodos mais acurados. Os microrganismos constituem um tipo interessante de evidência física, em virtude de sua ampla diversidade e presença em ambientes diversos. O corpo humano abriga trilhões de células microbianas que compõem o microbioma, o qual interage com as células do hospedeiro ao longo da vida. Após a morte do organismo, e com o início do processo de decomposição, ocorre uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas que caracterizam os diferentes estágios da decomposição. O corpo fornece uma fonte abundante de nutrientes para os microrganismos residentes e para aqueles presentes no ambiente, promovendo, ao longo do tempo, mudanças sucessivas nas comunidades microbianas. A sucessão microbiana em diferentes regiões do corpo humano tem demonstrado potencial significativo como ferramenta forense para a estimativa do tempo da morte. Este estudo oferece uma visão geral das diferentes fontes de microrganismos presentes no corpo humano e analisa os estágios da decomposição em relação à sucessão das comunidades microbianas através de uma análise integrativa das publicações que abordam o tema nos últimos 15 anos (2010 – 2025), com o objetivo de evidenciar a aplicabilidade da microbiologia na determinação do tempo da morte em contextos forenses. Constatou-se que é possível utilizar os microrganismos de forma acessória na estimativa do IPM, contudo, os estudos ainda são insuficientes.

Palavras-Chave: microbiologia forense; microbioma; mudanças post mortem.

Abstract

The determination of the postmortem interval (PMI) is a critical component of criminal investigations and is traditionally based on cadaveric phenomena or insect succession. Nevertheless, accurately estimating the PMI continues to pose significant challenges for forensic practitioners, necessitating the development of more precise methodologies. Microorganisms represent an ideal form of physical evidence due to their extensive diversity and ubiquitous presence across various environments. The human body hosts trillions of microbial cells that constitute the microbiome, which interacts continuously with host cells throughout life. Following death and the initiation of decomposition, a series of physiological and biochemical changes occur, delineating distinct stages of decomposition. The cadaver serves as a rich nutrient source for both resident and environmental microorganisms, facilitating successive alterations in microbial communities over time. Microbial succession across different anatomical regions has demonstrated considerable potential as a forensic tool for estimating the time since death. This study presents a comprehensive overview of the diverse sources of microorganisms within the human body and explores the stages of decomposition in relation to microbial community succession through an integrative analysis of literature published over the past fifteen years (2010–2025). The objective is to underscore the applicability of microbiological approaches in PMI estimation within forensic contexts. The findings suggest that microorganisms may serve as supplementary indicators in PMI determination; however, current research remains insufficient to fully validate their forensic utility.

Keywords: forensic microbiology; microbiome; post mortem changes.

1. INTRODUÇÃO

A microbiologia forense se dedica à análise de evidências associadas a bioterrorismo, biocrimes e liberações acidentais de microrganismos ou toxinas, utilizando métodos forenses tradicionais e técnicas avançadas de caracterização de amostras biológicas [1], [2], [3]. A utilização de microrganismos nas ciências forenses ganhou destaque após o ataque com antraz (*Bacillus anthracis*) em 2001 nos Estados Unidos [1], [4] e, desde então, expandiu suas aplicações, incluindo o estudo do microbioma humano para identificação, geolocalização e determinação do intervalo *post mortem* (IPM) [3].

A estimativa do IPM, que se refere ao tempo decorrido entre a morte e a descoberta do corpo, é crucial em investigações criminais, ajudando na validação de álibis, identificação de suspeitos e reconstrução dos eventos em torno da morte [3]. O IPM pode ser estimado por diversos métodos, desde registros das últimas comunicações da vítima até evidências biológicas do corpo e do ambiente. No entanto, esses métodos têm limitações quanto à precisão e aplicabilidade, variando conforme as condições do caso, o que impõe desafios à estimativa precisa do tempo da morte [5], [6].

Nas primeiras 72 horas após a morte, o tempo pode ser estimado por fenômenos cadavéricos consecutivos como *algor*, *livor* e *rigor mortis*, embora fatores ambientais possam causar erros significativos [7], [8]. A entomologia forense é útil para períodos mais longos, de dias a semanas, com base na colonização e sucessão de insetos, mas esses nem sempre conseguem alcançar o local do corpo [5]. Como cada abordagem é mais eficaz em intervalos de tempo específicos e são suscetíveis a incertezas, novas técnicas complementares para estimar o tempo de morte beneficiariam o campo forense [6].

Microrganismos são evidências físicas ideais por serem altamente diversos, abundantes mesmo em amostras limitadas e presentes em quase qualquer ambiente, permitindo análises mesmo com pouco material coletado [4]. O DNA bacteriano é mais resistente ao ambiente do que o humano, podendo permanecer intacto em cenas de crime mesmo na ausência de outras evidências [9]. Ainda, sua resposta rápida e previsível a mudanças ambientais permite estabelecer uma linha do tempo útil em investigações criminais e na estimativa do IPM [10].

O microbioma é único para cada indivíduo e interage com o hospedeiro ao longo da vida. No entanto, após a

morte, a decomposição provoca mudanças estruturais e bioquímicas que favorecem sucessões microbianas adaptadas às novas condições, especialmente pela falta da resposta imunológica, o que permite a colonização de órgãos antes considerados estéreis, como cérebro e coração [11]. Embora os microbiomas sejam relativamente estáveis em vida, há poucas informações sobre sua sucessão após a morte. Estudos demonstram que as comunidades microbianas nativas já presentes no corpo o colonizam após a morte, compondo o microbioma *post mortem*, que inclui o tanatomiobioma, caracterizado por microrganismos em órgãos internos e cavidades, e comunidades epinecroticas, presentes em superfícies externas, como tecidos superficiais ou em cavidades, como a abdominal [12].

Criado em 2007, o Projeto Microbioma Humano é um consórcio global que visa caracterizar e sequenciar comunidades microbianas representativas presentes em diferentes regiões do corpo, descartando o pensamento prévio de que os órgãos internos eram estéreis [13]. Assim como esse projeto, a caracterização do microbioma *post mortem* pode contribuir para o desenvolvimento de métodos que auxiliem na estimativa do IPM em casos criminais. No entanto, mesmo sendo uma área promissora, ainda pouco se conhece sobre as mudanças microbiológicas após a morte [12], [14], de forma que a questão levantada é se a presença microbiana, sua abundância e colonização, poderiam ser utilizadas como ferramentas para estimar o IPM.

Para que a microbiologia seja utilizada como ferramenta forense, é, primeiramente, necessária uma validação científica e uma padronização de métodos utilizados, garantindo sua aceitação em investigações criminais e nos tribunais [2], [15]. Embora pesquisas tenham avançado na área, ainda são insuficientes para estabelecer uma padronização e sistematização para a utilização da microbiologia na prática forense.

O presente trabalho teve como objetivo sistematizar estudos sobre as aplicações da microbiologia no contexto forense a fim de evidenciar sua possível utilização em casos de investigações criminais com ênfase na determinação do intervalo *post mortem* na medicina legal, buscando verificar a existência de uma sequência ecológica, temporalmente previsível, de microrganismos presentes no processo de decomposição; estabelecer uma relação entre as mudanças bioquímicas que ocorrem no corpo após a morte com as características do ambiente cadavérico e consequentes mudanças no microbioma e demonstrar um padrão sucessional de microrganismos para calcular o IPM, levantando as bases para a utilização destes organismos como bioindicadores forenses.

2. METODOLOGIA

Foi utilizado o método qualitativo de revisão integrativa de literatura para responder a pergunta norteadora: “a presença de microrganismos, sua colonização e sucessão em corpos em decomposição podem ser usadas para estimar o IPM?” A pesquisa se deu por meio de artigos internacionais, dos quais foram selecionados aqueles que se enquadram de maneira adequada ao tema de pesquisa proposto.

Os artigos analisados foram obtidos principalmente nos seguintes bancos de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Science Direct, Pubmed e Google Acadêmico. Os seguintes descritores, em inglês, foram utilizados: “*forensic microbiology*”, “*criminal investigation*”, “*post mortem microbiome*”, “*thanatomicrobiome*”, “*epinecrotic community*”, “*post mortem time interval*”, dentre outros. Além disso, foram utilizados operadores booleanos dos descritores para coleta de dados.

Como critério de inclusão foi dado um maior enfoque para pesquisas mais recentes, publicados entre 2010 e 2025, porém sem descartar pesquisas que foram utilizadas como base para a consolidação da microbiologia forense. Priorizou-se os artigos publicados em inglês e dentre estes, artigos de pesquisa originais que investigam a composição microbiana em corpos em decomposição, que envolviam algum tipo de experimentação, tanto em restos mortais humanos quanto em modelos animais e que buscavam realizá-la em condições o mais padronizadas possível, contudo, também foram incluídas algumas revisões bibliográficas acerca do tema; e como exclusão, os artigos duplicados, incompletos ou que tratavam de microbiologia forense, porém sem especificar a aplicação para o cálculo do IPM foram desclassificados na escolha, bem como aqueles envolvendo indivíduos falecidos em condições específicas que fogem de um contexto geral, como afogamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. O Microbioma Humano

O termo microbiota é geralmente definido como o conjunto de espécies de microrganismos (bactérias, arqueias, eucariotos) vivos presentes em um ambiente [16], se referindo à taxonomia. É estabelecida por meio de métodos moleculares que utilizam a análise de genes de rRNA 16S (para procariotos) e rRNA 18S (para eucariotos), ou outros genes marcadores taxonômicos e

regiões genômicas. Já o termo microbioma, não inclui somente a comunidade de microrganismos, mas também o seu metabolismo, envolvendo ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos, polissacarídeos, metabólitos, moléculas produzidas pelo hospedeiro e as condições ambientais circundantes. Existem definições que limitam microbioma somente à coleção de genes e genomas dos membros de uma microbiota, no entanto esta seria a definição de metagenoma [16], que inclui a análise de sequenciamento de DNAs obtidos de um ambiente [17]. Assim sendo, o termo adotado para descrever as comunidades microbianas associadas ao ser humano será condizente com cada contexto dos artigos revisados, sendo microbiota adotada quando referir-se à composição taxonômica de comunidades microbianas (espécies presentes) e microbioma quando envolver contextos dinâmicos, relacionando-se com as funções dos microrganismos.

A maioria dos microrganismos não são cultiváveis por técnicas usuais, assim, as técnicas moleculares independentes de cultivo, como a utilização do perfil de sequenciamento por genes 16S, forneceram novos conhecimentos acerca da diversidade microbiana em ambientes variados, incluindo o microbioma humano [18].

Microrganismos são encontrados por quase todo o corpo, especialmente em superfícies externas e internas, incluindo o trato gastrointestinal, a pele, a saliva, a mucosa oral e a conjuntiva [13], [19]. Mas nenhum táxon é onipresente em todos os indivíduos e se distribui de maneira homogênea em todos os locais do corpo. Cada região corporal, que pode ser interpretada como um micro-habitat, é caracterizada por um ou alguns táxons característicos que compõem a pluralidade da comunidade [13]. Essas regiões são dominadas por táxons que as definem [20].

É estimado que os microrganismos que habitam no interior e nas superfícies corpóreas dos humanos superam em cerca de dez vezes o número de células somáticas e germinativas humanas somadas [21], [22]. A microbiota humana consiste em 10 a 100 trilhões de células microbianas simbiotes habitando cada pessoa [23]. Sendo que a maioria das bactérias reside no cólon, com estimativas de cerca de 10^{14} bactérias, seguido da pele, que se estima abrigar aproximadamente 10^{12} bactérias [24].

As localizações das bactérias que residem o corpo humano são específicas a certas áreas e órgãos, que são dominados por táxons característicos, como uma assinatura local, tais quais pele, mucosa oral, cavidades nasais, vagina e trato respiratório e gastrointestinal [11],

[19], [22] (Tabela 1). Os táxons dominantes no intestino são Firmicutes e Bacteroidetes, sendo este um microbioma de baixa diversidade em níveis filogenéticos mais altos, porém muito diverso em níveis de espécies e linhagens; na vagina, os táxons dominantes são *Lactobacillus* e *Prevotella*; na pele os grupos dominantes são Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes, sendo os gêneros mais presentes: *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* e

Corynebacterium; e a cavidade oral é dominada por *Streptococcus*, *Prevotella*, *Haemophilus*, *Veillonella*, *Gemella*, *Rothia*, *Fusobacterium* e *Neisseria* [20], [25]. A maioria dos órgãos internos vitais são considerados estéreis, exceto em condições de infecções [11].

Tabela 1. Lista de bactérias comensais e onde habitam no corpo.

Órgãos que habitam	Grupos bacterianos
Cavidade oral	Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes, e Fusobacteria, <i>Streptococci</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Gemella</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Granulicatella</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Gemella</i> , <i>Abiotrophia</i> , <i>Granulicatella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Candida</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Cryptococcus</i> .
Vias respiratórias (superiores)	Corynebacteriaceae Staphylococcaceae, Peptoniphilaceae, Carnobacteriaceae, <i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Alloiococcus</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Granulicatella</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Neisseria</i> .
Esôfago	<i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Prevotella</i> .
Estômago	Proteobacteria e Firmicutes, <i>Helicobacter pylori</i> .
Intestino delgado	Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria, <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Streptococci</i> , <i>Lactobacilli</i> , <i>Enterococci</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>E.coli</i> <i>Prevotella</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Solibacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Lysinibacillus</i> .
Intestino grosso	Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Fusobacteria e Proteobacteria, <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Prevotella sp.</i> , Eubacteria, Ruminococci, Streptococci, Bifidobacteria, Enterococci, Lactobacilli, Fusobacteria, <i>Coprobacillus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Shigella</i> , Ascomycota e Basidiomycota.
Trato reprodutivo feminino	<i>Lactobacillus</i> , Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> e, mais raramente, espécies de <i>Listeria</i> ou <i>Mobiluncus</i>
Trato reprodutivo masculino	<i>Lactobacillus</i> , <i>Prevotella</i> ,
Pele	<i>Corynebacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rothia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Malassezia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodotorula</i> .
Olho e conjuntiva	<i>Staphylococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> .

Fonte: [11], [19], [22].

A composição do microbioma humano é determinada principalmente pelo habitat corporal, dentro dos quais a variabilidade interpessoal é elevada. Cada região do corpo é um nicho altamente especializado caracterizado por seu próprio consórcio microbiano, isto é, um conjunto de microrganismos associados em que cada espécie realiza uma função biológica, que é complementar, na qual cada organismo se beneficia dos demais [26], pela dinâmica da comunidade e pela interação com o tecido do hospedeiro [25].

Com o Projeto Microbioma Humano observou-se que a variação interpessoal da composição do microbioma é significativamente maior que a variação intrapessoal, mesmo que os habitats intrapessoais difiram entre si, como foi determinado por meio do sequenciamento do gene de rRNA 16S [27]. A singularidade da comunidade microbiana de cada indivíduo parece ser estável ao longo do tempo [27], e a variação intrapessoal, mesmo com o decorrer do tempo, é menor do que a variação interpessoal [18], [28].

Microrganismos dentro e entre habitats corporais exibem relações com fatores físicos como presença de oxigênio, umidade, pH, fatores imunológicos do hospedeiro e interações entre microrganismos como mutualismo e competição [27].

O desenvolvimento do microbioma humano é um processo dinâmico, no qual cada fase da vida humana apresenta diferenças notáveis em termos de diversidade e variação dos microrganismos. A variação entre locais do corpo em adultos é estável ao longo do tempo, mas diferentes habitats corporais convergem em um microbioma individual por meio de diferentes trajetórias [19], [20], podendo influenciar na sua composição. Recém-nascidos provenientes de parto normal, por exemplo, são prontamente colonizados por comunidades bacterianas do trato vaginal da mãe, resultando em uma assinatura bacteriana cutânea dominada por *Lactobacillus*, enquanto aqueles nascidos de cesáreas são colonizados

por bactérias da pele da mãe, tendo uma assinatura cutânea que inclui *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* [19], [29]. A colonização do microbioma intestinal em humanos se inicia no nascimento, com uma rápida expansão da diversidade bacteriana, e é caracterizada por uma mudança sucessiva na sua composição que eventualmente se torna relativamente estável durante a vida adulta [13].

Muitas diferenças na estrutura do microbioma de indivíduos diferentes têm sido atribuídas a variações geográficas e raciais, relacionadas a diferenças genéticas do hospedeiro. Da mesma forma, características culturais e comportamentais tais como dieta, higiene e exposição a diferentes fatores ambientais também têm sido associadas a estas diferenças interpessoais [19], [30]. Apesar das diferenças de microbioma entre indivíduos diferentes, é proposto que há uma parte central do microbioma que é encontrada em todos os indivíduos, composto por táxons comumente encontrados em áreas do corpo específicas em todas as populações, variando apenas em proporção, independentemente de variações étnicas raciais e geográficas [31]. Um microbioma central é tipicamente definido como o conjunto de membros compartilhados entre consórcios microbianos de habitats semelhantes [30].

O microbioma central relaciona-se com a estabilidade temporal do microbioma. A estabilidade temporal pode ser interpretada por meio daqueles organismos que estão presentes em todas as fases de desenvolvimento do hospedeiro, estando necessariamente ligados com o tempo [30]. A dimensão do microbioma central temporal a nível de espécie está correlacionada com a variabilidade: comunidades orais possuem o maior microbioma central (isto é, possuem mais filotipos compartilhados entre indivíduos diferentes), e são as comunidades mais estáveis no tempo; as comunidades intestinais tem o segundo maior microbioma central, e são menos estáveis que as comunidades orais, porém mais estáveis que as comunidades da pele; e o menor microbioma central é encontrado na pele, sendo as comunidades menos estáveis ao longo do tempo [20], [32] (Figura 1).

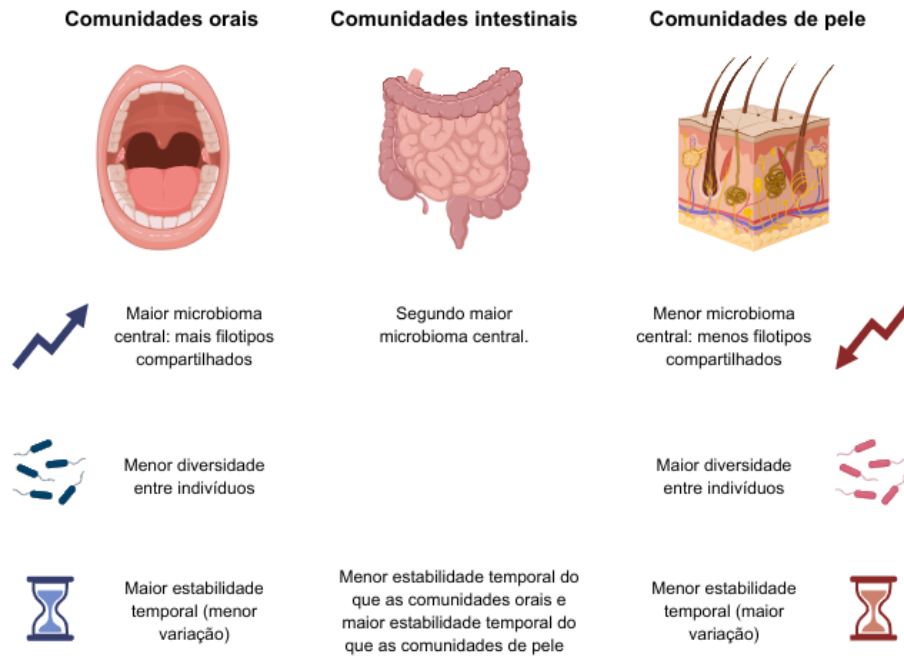


Figura 1. Microbioma e estabilidade temporal. Fonte: a autora, utilizando o programa BioRender.

Os conjuntos bacterianos específicos de cada local do corpo continuamente interagem com as células do hospedeiro, podendo variar suas composições com a variação de fatores ambientais, saúde do indivíduo, dieta e uso de medicamentos e drogas. Apesar disso, em indivíduos vivos, a estabilidade do microbioma tende a ser mantida. A estabilidade da comunidade persiste, independentemente do tempo entre uma amostragem e outra, apesar da constante exposição das comunidades bacterianas a fatores extrínsecos [33].

3.2. Tafonomia Humana

O termo tafonomia, atualmente, é entendido como o estudo de todos os fenômenos que ocorrem com os organismos biológicos a partir da hora da morte até o momento da sua descoberta [34]. Logo, a tafonomia forense é o estudo de todas as fases pelas quais passa um ser humano após a sua morte, no interesse médico-legal ou forense, envolvendo o estudo dos processos *post mortem* que afetam a preservação e recuperação de restos mortais [7], [34].

O conceito tradicional de morte é tido como a cessação dos fenômenos vitais, por meio da parada das funções cerebral, respiratória e circulatória. Contudo, as atividades vitais destes sistemas não se encerram todas ao mesmo momento, por isso a dificuldade em determinar precisamente o exato momento em que uma morte ocorreu. A morte não é um evento único, mas sim um processo gradativo, em que é difícil determinar quando se inicia e quando se encerra. Não existe um sinal de certeza

da morte até que surjam os fenômenos transformativos no cadáver [7], [35].

Após a morte, observam-se fenômenos representados por mudanças físicas, químicas e estruturais, sendo classificados em fenômenos abióticos e transformativos. Os fenômenos abióticos (avitais ou vitais negativos) se dividem em imediatos, que ocorrem por conta da cessação das funções vitais, e consecutivos, devidos à instalação dos fenômenos cadavéricos, químicos, físicos ou estruturais [7]. Os fenômenos abióticos imediatos incluem: perda da consciência e sensibilidade, abolição de motilidade e tônus muscular, cessação da circulação, da respiração e da atividade cerebral. E os fenômenos abióticos consecutivos incluem: desidratação cadavérica, esfriamento cadavérico (*algor mortis*), aparecimento de manchas de hipóstase (*livor mortis*), rigidez cadavérica (*rigor mortis*) e espasmo cadavérico [7], [35].

Também ocorrem os chamados fenômenos transformativos que podem ser: destrutivos (autólise, putrefação e maceração) e conservadores (mumificação, saponificação, calcificação, corificação, congelamento e fossilização) [7].

Os microrganismos desempenham um papel fundamental na decomposição de restos humanos. Enquanto existem mudanças reconhecíveis que ocorrem após a morte, há também variáveis que influenciam o avanço ou retardo deste processo, sendo que a taxa com que as mudanças ocorrem durante a decomposição será fortemente governada pelas condições ambientais como temperatura [36].

O corpo humano é um complexo conjunto de substâncias orgânicas formado por aproximadamente 64% água, 20% proteínas, 10% lipídeos, 1% carboidratos e 5% minerais. A decomposição de tecidos moles é caracterizada pela quebra progressiva de macromoléculas como proteínas, carboidratos e lipídeos [35], [36] em moléculas mais simples, até que atinjam os elementos essenciais que os formam como carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S) [37]. Os compostos liberados durante a decomposição caracterizam o desenvolvimento de diferentes fases deste processo [35], [37].

O decaimento cadavérico é dominado por dois processos destrutivos: a autólise e a putrefação. Enquanto a autólise ocorre independentemente de qualquer ação bacteriana, resultando apenas da ação de enzimas endógenas, a putrefação tecidual é um processo extremamente dependente da atividade de bactérias e outros microrganismos, os dois processos podem acontecer concomitantemente [35], [36].

A autólise é o processo de destruição celular, causado pela ação das próprias enzimas celulares, em que são observados uma série de fenômenos fermentativos anaeróbicos. É um processo que não é aparente a um nível macroscópico, sendo documentado apenas histologicamente [7], [35], [36].

O gatilho para esse processo iniciar é a anóxia celular, a falta de suprimento de oxigênio após a morte combinada com a diminuição do pH citoplasmático, pela produção de ácido carbônico, resulta na perda de integridade da membrana celular, a qual resulta na liberação de lisossomos, organelas membranosas que contêm enzimas hidrolíticas. Com a liberação do conteúdo intracelular, enzimas, como lipases, proteases e amilases, digerem as células de dentro para fora, eventualmente causando a sua ruptura e liberando fluídos nutritivos de dentro da célula, essas enzimas têm a capacidade de quebrar quase todas as macromoléculas do corpo, incluindo proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos [35], [38]. O processo de autólise é mais acelerado em órgãos com alto teor de fluídos e enzimas, como o fígado e o cérebro [39].

Apesar da autólise ser um processo que opera independentemente da ação de bactérias, a destruição parcial das estruturas celulares causadas por este processo facilita a fase seguinte, que é a de putrefação, causada por bactérias. Após várias células terem se rompido, fluídos ricos em nutrientes se tornam disponíveis para a utilização por bactérias e o processo de putrefação se inicia [38].

A putrefação é um processo sequencial ao estágio final da autólise, no entanto, os dois processos podem ocorrer simultaneamente em diferentes regiões do corpo;

ela consiste na decomposição fermentativa da matéria orgânica por ação de microrganismos, predominantemente bactérias anaeróbicas, e os fenômenos daí decorrentes, implicando a desintegração de compostos orgânicos dos tecidos para formar gases, líquidos e sais, sendo um processo tanto transformativo quanto destrutivo [7], [35].

O intestino é, geralmente, o ponto de partida da putrefação (exceto em recém-nascidos). Os primeiros sinais da putrefação são observados no abdome, como uma coloração verde-arroxeadada, chamada de mancha verde abdominal; outros indicadores da putrefação incluem o inchaço por acúmulo de gases e liberação de odores, os quais serão descritos em mais detalhes na sequência [7], [35]. Ao contrário da autólise, a putrefação é perceptível no exame externo do corpo desde o seu início por diferentes aspectos, como mudanças de cor e odores peculiares, além de outras mudanças [37].

Apesar do trato gastrointestinal humano ser composto de um conjunto complexo de microrganismos, apenas uma pequena parte das bactérias presentes nos primeiros dias da morte estão envolvidas no processo de putrefação, como *Clostridium* spp., *Streptococci* e *Enterobacteria* [36].

Após a morte, com a parada das respostas imunes do corpo (que podem permanecer ativas por até 48 horas após a morte), os microrganismos naturalmente presentes no corpo inicialmente invadem tecidos locais e ganham acesso para o resto do corpo através do sistema vascular e linfático. Como o potencial redox dos tecidos cai rapidamente após a morte, o crescimento de aeróbios obrigatórios é reduzido. Bactérias anaeróbicas tornam-se mais prevalentes. A falta de oxigênio cria condições ótimas para o desenvolvimento de bactérias anaeróbicas nas vias gastrointestinais e respiratórias, tais como *Bacteroides* e *Clostridium* [37]. As enzimas bacterianas originárias do trato gastrointestinal são responsáveis pela decomposição generalizada dos tecidos do corpo, que se tornam cada vez mais líquidos [35].

Apesar do microbioma ser único para cada indivíduo, algumas evidências sugerem que após 48 horas, pelo menos no que se refere a um ambiente interno, os microrganismos decompositores começam a apagar essas assinaturas personalizadas do microbioma, embora o prazo exato ainda seja desconhecido. Contudo a maioria dos estudos envolve a decomposição de corpos em ambientes externos, onde essa ocorre mais rapidamente. Assim, se as assinaturas do microbioma desaparecem mais rapidamente em ambientes externos, um relógio microbiano de decomposição pode ser útil antes das 48 horas iniciais para este ambiente, considerando que a maioria das cenas de morte são descobertas dentro deste

prazo, a utilização de novas ferramentas como o microbioma podem ser úteis [6].

A decomposição é um evento contínuo, que se inicia no momento da morte e termina quando o corpo foi reduzido à esqueleto, este estágio final pode ser atingido em apenas duas semanas ou em até dois anos, a depender de condições ambientais, como temperatura e umidade e do local onde o corpo se encontra [40]. Apesar de contínuo, e de não existir uma rigorosa precisão, a putrefação segue uma determinada evolução e para facilitar os estudos divide-se esse processo em uma série de estágios, que podem variar dependendo do autor e da região geográfica [41]. Serão considerados quatro estágios diferentes, definidos por França [7], os quais são influenciados pela atividade microbiana, além dos processos enzimáticos naturais. Uma grande diversidade de espécies bacterianas conhecidas desempenha um papel na decomposição, indicando uma natureza vasta e complexa [39].

3.2.1. Período cromático ou de coloração

Caracterizada pelo aparecimento da mancha verde abdominal, observa-se uma mudança de coloração no cadáver, a tonalidade azul-esverdeada vai escurecendo até atingir o verde-enegrecido dando ao cadáver um tom escuro. O surgimento dessa mancha surge entre 20 e 24 horas depois da morte. À medida que o corpo se decompõe, diversos gases são produzidos pela ação de microrganismos, sendo um dos componentes mais significantes desses gases o sulfeto de hidrogênio (H_2S), uma pequena molécula que se difunde pelo corpo e reage com a hemoglobina, formando a sulfohemoglobina, originando um pigmento de tonalidade verde-escura, que é observado nos tecidos na forma de manchas [41].

O marmoreio, uma alteração na cor da pele, pode ser aparente nesse período, após vários dias, à medida que o sangue e as proteínas começam a se decompor e liberar compostos ricos em enxofre [40]. As bactérias anaeróbicas do abdômen invadem os vasos sanguíneos e assumem uma descoloração púrpura a esverdeada, resultando em uma aparência de mosaico [34], [41], ocorre devido à hemólise dos eritrócitos do sangue (liberando hemoglobina e ferro) que se encontra dentro dos vasos combinados com a ação bacteriana que produz sulfeto de hidrogênio, produzindo um resíduo de coloração escura [37].

Esse estágio inicial da decomposição varia de 1 hora até 2 ou 3 dias, podendo se estender até 6 dias, após a morte, dependendo das condições do ambiente circundante e outros fatores [42].

A decomposição das proteínas ocorre pela ação enzimática, sofrendo variações de acordo com a umidade, a temperatura e a ação bacteriana; a umidade favorece, o calor acelera e o frio retarda o processo de proteólise [35], [36]. Inicialmente as proteínas são decompostas em albuminas, peptonas, polipeptídios e aminoácidos, as exoenzimas bacterianas desnaturam as proteínas e, eventualmente, liberam seus aminoácidos constituintes [7], [35], [37]. Adiante, as proteínas são reduzidas a compostos de nitrogênio, fósforo e enxofre (representado principalmente pelo dimetilsulfeto) [37].

A proteólise leva a produção de substâncias fenólicas e gases como dióxido de carbono, sulfeto de hidrogênio, amônia, tióis, ácido pirúvico e metano, principalmente a partir da dessulfuração e decomposição de aminoácidos que contêm enxofre (cisteína e metionina) pela ação das bactérias [36]. São formadas, como produtos intermediários, as aminas biogênicas, como a putrescina e a cadaverina, que junto com tióis e mercaptanos conferem o odor característico de decomposição. A decomposição proteica também resulta em uma gama de ácidos orgânicos e outras substâncias que se tornam metabólitos bacterianos [36], [37].

A decomposição de carboidratos resulta principalmente em compostos oxigenados como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, éteres e ésteres, ocorre nas primeiras etapas da decomposição pois os carboidratos são a fonte de energia preferida de muitas bactérias endógenas. Nos primeiros estágios os microrganismos convertem glicogênio em monômeros de glicose, que podem seguir dois caminhos: decomposição completa pela oxidação, na presença de oxigênio, passando pelos estágios de ácido pirúvico, ácido lático e acetaldeído, formando CO_2 e água, ou decomposição incompleta, formando diversos ácidos orgânicos (ácidos cítrico, oxálico ou glicurônico), e álcool, causando a acidificação do ambiente cadavérico [35], [36], [37].

Em condições anaeróbicas, diferentes microrganismos produzem ácidos (lático, butírico, acético) e álcoois (etanol, butanol), além de gases como metano, sulfeto de hidrogênio e hidrogênio [36]. Várias bactérias participam na decomposição de carboidratos, *Clostridium* spp. fermenta o piruvato em acetona, etanol, ácido acético e butanoico. Enterobacteriaceae, em particular a *E. coli*, fermenta o piruvato em ácido lático, ácido succínico, ácido fórmico e etanol. E *Streptococcus*, uma bactéria anaeróbia facultativa, fermenta carboidratos em ácido lático [37].

3.2.2. Período gasoso ou enfisematoso

As bactérias anaeróbicas presentes no intestino e em outras partes do corpo começam a digerir os tecidos [41],

através da fermentação anaeróbica, liberando subprodutos ricos em ácidos graxos voláteis, principalmente ácidos butírico e propiônico [38]. Esse período é caracterizado pelo aparecimento de bolhas de conteúdo hemoglobínico na epiderme, o cadáver torna-se inchado pela produção de gases (como CO₂, CH₄, NH₃, H₂S, SO₂ e H₂) no interior do corpo [37], [40], ocorre projeção dos olhos e da língua e distensão do abdome. O tempo transcorrido desde a morte até chegar nesse estágio pode variar de 3 a 10 dias, podendo se estender até 23 dias [40], [42].

Os gases presentes no primeiro dia não são inflamáveis, pois nesta etapa estão ativas as bactérias aeróbias, produtoras de gás carbônico. Do segundo ao quarto dia os gases são inflamáveis, além das bactérias aeróbias surgem também as facultativas, cuja atividade produz hidrogênio e hidrocarbonetos. E do quinto dia em diante os gases também não são inflamáveis, pois as bactérias presentes produzem azoto, hidrogênio e amônias, compostos não inflamáveis [7].

Os lipídios são decompostos em hidrocarbonetos, nitrogênio, fósforo, compostos oxigenados, ácido palmítico e oleico, e em ácidos graxos voláteis como os ácidos propiônico, valérico e butírico. Inicialmente são transformados em triglicerídeos pela ação de lipases, e na sequência formam ácidos graxos saturados e insaturados pela hidrólise e atividade das lipases [37]. Em condições aeróbicas os ácidos graxos insaturados são oxidados em aldeídos e cetonas odoríferas, enquanto condições anaeróbicas favorecem a hidrogenação desses ácidos graxos, formando ácidos graxos saturados compactos que originam a adipocere [37]. A hidrogenação de tecidos moles é observada durante estágios mais avançados do decaimento (nesta ou na fase descrita a seguir) [35].

Na maioria das vezes, a hidrólise ao invés da oxidação domina o processo de decomposição de lipídios, em grande parte devido ao fato de que a ação bacteriana leva os tecidos a uma condição anaeróbica. A hidrólise de triglicerídeos resulta na formação de glicerina e ácidos graxos livres. As enzimas lipolíticas bacterianas, especialmente as do gênero *Clostridium* (*C. perfringens*), derivadas do trato gastrointestinal, são mais eficazes que as lipases intrínsecas e dependem da água presente no próprio tecido adiposo para agir [36].

3.2.3. Período coliquativo ou de liquefação

É fase de dissolução pútrida, os gases começam a escapar do abdômen, os tecidos moles vão pouco a pouco reduzindo-se de volume pela desintegração progressiva, o corpo perde a forma e a epiderme se solta da derme por conta da produção de enzimas hidrolíticas pelas células que se encontram na junção dessas duas camadas [41].

Nessa etapa há uma elevada atividade biológica de bactérias e insetos que são atraídos para o corpo através dos fortes odores liberados nesse período, resultantes da ação de bactérias. Com a distensão e ruptura da pele causadas pela atividade de insetos necrófagos, os tecidos recebem oxigênio do ambiente, assim o ambiente muda de anaeróbico para aeróbico, e a atividade de microrganismos aeróbicos retorna [37], [40]. Se o tecido estiver exposto ao ar (condições aeróbicas), apresentará um pH superior a 9, altamente básico, porém, se o cadáver tiver sido enterrado, prevalecendo as condições anaeróbicas, o corpo apresentará um pH inferior a 7, ácido, sendo que quanto mais extremo o pH, mais rápida a decomposição [40]. As variações de concentração de oxigênio e pH no cadáver influenciam na diversidade microbiana presente em cada etapa da decomposição.

Esta etapa corresponde a um período de 10 a 20 dias após a morte. Mais tarde nesta fase, o corpo começa a desidratar e qualquer tecido mole restante seca e os restos são visíveis como predominantemente pele, cartilagem, cabelo e ossos, com muito pouco de tecidos moles restantes, correspondendo a um tempo de 20 a 50 dias transcorridos desde a morte [42].

3.2.4. Período de esqueletização

O cadáver se apresenta com os ossos quase livres, presos apenas por alguns ligamentos articulares. Nos momentos iniciais deste período qualquer tecido mole e pele restante é convertido em um revestimento com aspecto semelhante a couro, que adere sobre os ossos. E ao fim, ocorre a diagênese, definida como qualquer mudança química, física ou biológica que acontece no osso após a decomposição inicial [34], que altera as proporções de compostos orgânicos (como colágeno) e os compostos inorgânicos (como cálcio, fosfato, magnésio e hidroxiapatita) do osso e do solo circundante, pode durar de anos a décadas [40]. Esse período pode ocorrer no tempo entre 50 a 365 dias após a morte [42].

As condições em que se encontra o cadáver podem impedir ou retardar de forma significativa a decomposição completa dos restos mortais. A velocidade com que a decomposição ocorre varia consideravelmente de acordo com diversas variáveis, especialmente decorrentes das condições ambientais. É geralmente aceito que a temperatura, a acidez e a disponibilidade de oxigênio podem moderar a progressão química e biológica interna da decomposição, além de outros fatores como a atividade de insetos necrófagos, a extensão das roupas, a profundidade do enterro, o pH e química do solo, a extensão dos ferimentos e o modo da morte, o tamanho do corpo, idade do indivíduo e a exposição a condições ambientais como sol e chuva, sendo a

temperatura e a umidade apontadas como as variáveis mais significativas, as quais influenciam fortemente a atividade bacteriana [34], [43].

Nos meses quentes de verão, os corpos decaem mais rapidamente por conta das altas temperaturas e mostram uma infestação por larvas mais rápida, estes são dois fatores bem conhecidos que contribuem para a decomposição. No entanto, em ambientes internos a temperatura não exerce uma influência significativa na alteração da taxa de decomposição, visto que ambientes internos possuem uma temperatura relativamente constante ao longo do ano [44].

O método mais utilizado na estimativa do IPM sempre foi através da autópsia ou pelo método baseado em temperatura, no entanto, hoje se sabe que utilizar a temperatura para basear os cálculos de IPM implica em muitos erros na estimativa, por conta da variabilidade de uma região para outra conforme variam as condições ambientais. Em altas temperaturas o IPM pode ser superestimado, ao passo que em baixas temperaturas o contrário ocorre, e o IPM pode ser subestimado. Temperaturas congelantes inibem significativamente a atividade metabólica do microbioma endógeno intestinal, e assim resulta em uma taxa mais lenta de decomposição, que pode resultar em uma recolonização de bactérias aeróbicas de fontes externas no corpo [43].

Por conta da ampla variação de mudanças *post mortem* e fatores que influenciam a taxa de decomposição, as estimativas do tempo da morte são geralmente relativamente vagas e contêm uma

variabilidade muito grande [44]. Desta forma, mostra-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos e complementares às técnicas clássicas de estimativa do IPM.

3.3. Microbioma *Post Mortem*

Quando o animal morre, os trilhões de células microbianas que, em um indivíduo saudável, viviam como simbioses, mudam suas atividades. A mudança que o microbioma sofre está relacionado com a presença de microrganismos dentro do hospedeiro e a complexa cadeia de eventos que se instala em um corpo após a morte. Esses eventos liberam componentes celulares que podem mudar a composição das comunidades microbianas comensais. São liberadas grandes quantidades de nitrogênio no ambiente, principalmente na forma de amônia, assim como outros nutrientes essenciais à vida como carbono e fósforo, tornando-se uma fonte de nutrientes e foco de ação e proliferação microbiana [45].

Essas mudanças levam à proliferação de certos tipos microbianos e a inatividade e morte de outros [46]. Além dos microrganismos próprios do corpo começarem a se proliferar, em decorrência da ausência de atividade do sistema imunológico, microrganismos externos também começam a colonizar certas regiões do corpo, compondo o tanatomiobioma e as comunidades epinecroticas [11] (Figura 2). Em condições fisiológicas normais, órgãos como cérebro, baço, fígado e coração apresentam baixa ou inexistente carga microbiana detectável para manterem suas condições saudáveis em um organismo vivo, graças ao controle exercido pelo sistema imunológico [47].

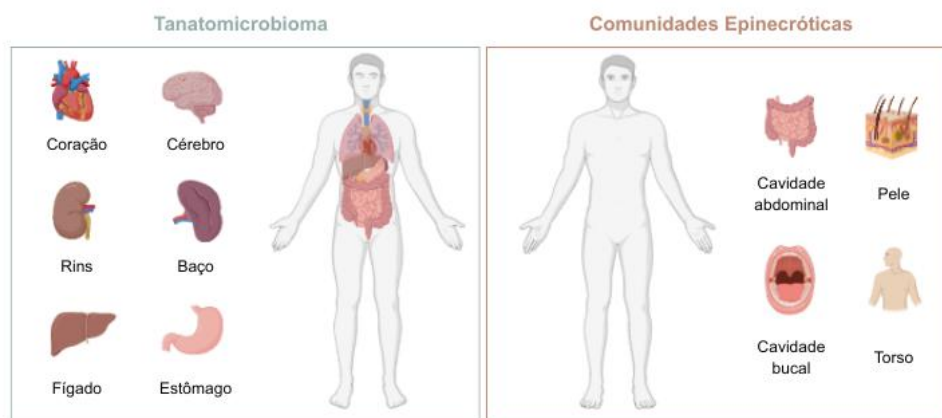


Figura 2. O microbioma *post mortem* humano. Fonte: adaptado de [12], utilizando o programa BioRender.

Quando o corpo de um mamífero está decompondo, as atividades microbianas e bioquímicas resultam em uma série de etapas de decomposição, que são associadas com sucessões microbiológicas reprodutíveis em diversos modelos animais como camundongos e porcos, além de

também ser observada em humanos [48]. A principal preocupação em se utilizar modelos animais é se o sistema é semelhante o suficiente para corpos humanos, embora tenha sido demonstrado que modelos suínos são

similares com humanos em termos de processo de decomposição [49].

Com o passar do tempo após a morte, os órgãos do corpo começam a se decompor de maneira sequencial, dependendo da carga microbiana presente nos órgãos e do IPM. Após a morte, o sistema imunológico falha e os microrganismos se proliferam por todo o corpo, começando a partir da área ileocecal, se espalhando para o fígado e baço e continuando para o coração e o cérebro. Assim, a observação de microrganismos em órgãos presumivelmente desprovidos destes, pode ser interpretado como um indicativo de que houve migração de microrganismos pelo corpo após a morte [14].

À medida que o decaimento cadavérico avança, a riqueza bacteriana aumenta, enquanto a diversidade diminui, indicando um decréscimo também na equitatividade [14]. A taxa de microrganismos encontrados em órgãos tidos como estéreis aumenta com o aumento do IPM, assim, microrganismos descobertos em órgãos internos de cadáveres, presumivelmente representam aqueles que estão diretamente relacionados com a decomposição [12].

Nas ciências forenses, este é um campo de estudo promissor, pois a presença ou ausência de microrganismos em determinados órgãos e sua diversidade pode ser um indicativo do tempo transcorrido após a morte. Um dos fatores contribuintes para a utilização de microrganismos associados com órgãos internos para a determinação do IPM é que o tanatomiobioma é menos afetado pelas condições ambientais, do que aqueles microrganismos associados com tecidos e órgãos externos, tais quais pele e mucosa oral [47].

O tanatomiobioma é a comunidade microbiana *post mortem* do corpo humano, que surge por um processo sucessional, no qual trilhões de microrganismos povoam, proliferam e morrem dentro do corpo morto, levando a modificações temporais na composição da comunidade ao longo do tempo [12], [46], [50]. É caracterizado por uma diversidade de microrganismos localizados em órgãos internos e cavidades após a morte do indivíduo, tais quais cérebro, coração, fígado, baço e outros, e em amostras de sangue [47].

Os microrganismos encontrados em órgãos internos possivelmente se originam de comunidades diretamente associadas à putrefação, a translocação *post mortem* de microrganismos não afeta os resultados se as amostras são coletadas brevemente após a morte (entre 15 a 48 horas), ou se o corpo é prontamente armazenado a temperatura de 4°C antes da autópsia [46].

O necrobioma, por sua vez, é um termo por vezes utilizados para descrever as comunidades bacterianas externas, que estão associadas aos cadáveres [11]. Outro termo utilizado para descrever parte do componente do microbioma humano *post mortem* são as comunidades epinecróticas, que habitam ou se movem sobre a superfície de restos em decomposição. As superfícies abrangem os tecidos epiteliais superficiais, membranas mucosas e orifícios distais do trato gastrointestinal [12].

3.3.1. Tanatomiobioma

À medida que ocorre o decaimento cadavérico, mudanças dependentes de tempo ocorrem nas comunidades microbianas dentro dos respectivos órgãos em que habitam, sendo estas mudanças preditivas do tempo da morte [47]. A capacidade de quantificar o número e os tipos de microrganismos dentro do tanatomiobioma humano é crucial para a compreensão da estrutura e função do macroecossistema de um cadáver, para assim se estabelecer uma correlação entre sucessão ecológica em uma comunidade microbiana e o respectivo tempo com que ocorreu [46].

O tanatomiobioma varia entre os diferentes órgãos do corpo e sofre mudanças em função do tempo. A atividade microbiana cria um efeito dominó que influencia a ordem do decaimento humano. As mudanças *post mortem* do microbioma na biomassa em decomposição ocorrem principalmente através da migração horizontal do trato digestivo do hospedeiro e do contato com o ambiente externo. As bactérias intestinais invadem o ambiente extraintestinal como coração, rins, fígado e linfonodos mesentéricos, e cada órgão possui uma diferente taxa de decaimento, em que a abundância relativa de cada microrganismo varia de acordo com seus respectivos órgãos, variando temporalmente. Contudo, presume-se que o tanatomiobioma de certos órgãos não é imediatamente afetado pelos microrganismos do trato gastrointestinal que proliferam rapidamente após a morte [50].

Para órgãos não estéreis, como os do trato gastrointestinal, a riqueza de microrganismos aumenta após a morte, enquanto a diversidade diminui [49]. Os órgãos que mostram sinais precoces de decomposição, variando de horas a alguns dias, incluem a laringe e a traqueia, a cavidade oral, o trato gastrointestinal, a medula renal, o pâncreas, o baço e o fígado (Figura 3). E os órgãos que requerem mais tempo para se decompor, variando de dias a meses, incluem o coração, os pulmões, os rins, o esôfago, o diafragma, os vasos sanguíneos, a bexiga, a próstata e o útero, o cérebro, a pele, músculos, tendões e ossos (Figura 3) [51]. A escolha desses órgãos para análise, portanto, facilita a determinação do IPM.

Nesse sentido, comparar um indivíduo que apresenta decomposição restrita aos intestinos com outro que exibe decomposição tanto nos intestinos quanto no cérebro

permite inferir que este último está morto há um período mais prolongado.

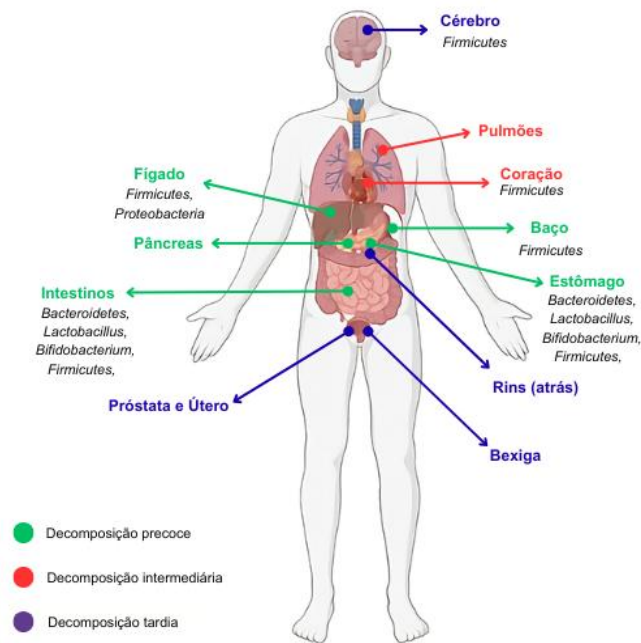


Figura 3. Cronologia da decomposição de órgãos humanos junto com táxons bacterianos predominantes. Fonte: adaptado de: [51] utilizando o programa BioRender.

A proliferação microbiana nas primeiras fases da decomposição ocorre em todo o corpo, iniciando na área ileocecal, espalhando-se para o fígado e o baço, e continuando para o coração, o cérebro e o sistema respiratório. Essa proliferação dos microrganismos da área ileocecal para outros órgãos ocorre por vias capilares do sistema linfático e vascular [46]. Mudanças nos produtos de decomposição como a ciclagem de nutrientes, fontes alternativas de alimentos e perturbações *post mortem* podem influenciar de maneiras diferentes as populações de bactérias, resultando em flutuações *post mortem* nas comunidades microbianas [12].

O padrão de sucessão de bactérias em corpos em decomposição é fortemente influenciado pela disponibilidade de oxigênio. As rupturas que acontecem na pele após o fim do período enfisematoso, permitem a entrada de oxigênio em corpos que estavam em condição de hipóxia, e a saída de fluidos corporais, causando o aumento das bactérias aeróbicas e impedindo o crescimento das bactérias anaeróbicas. Bacteroidetes, *Bacteroides* e *Lactobacillus* sp, típicos do microbioma intestinal, demonstram uma redução exponencial de abundância relativa à medida que o IPM aumenta [12]. Essas populações anaeróbicas provavelmente diminuem devido à introdução do oxigênio para a cavidade corporal e pela proliferação de outras populações bacterianas decompositoras, que irão competir por recursos, seja do ambiente ou do próprio intestino [5].

No período que se segue à fase enfisematososa (entre 7 e 12 dias após a morte) há predominância das bactérias Proteobacteria e Firmicutes. A maioria das bactérias presentes em cadáveres com diferentes IPMs foram o anaeróbio *Clostridium* sp. naqueles com IPMs mais longos, enquanto o anaeróbio facultativo *Lactobacillus* sp. predominou em cadáveres com IPMs mais curtos [46]. Assim, essas bactérias têm potencial para serem biomarcadores indicativos de IPM. Uma série de fatores influencia a sucessão bacteriana, não apenas a disponibilidade de oxigênio, fatores como mudanças nos produtos da decomposição e substratos disponíveis selecionam diferentes populações de microrganismos, resultando na sucessão observada [5].

Durante os estágios iniciais de decomposição, organismos de crescimento rápido como *Pseudomonas* e *Proteus mirabilis* desempenham um papel fundamental. Mas nos estágios avançados os microrganismos envolvidos são o fungo Mortierellaceae e bactérias do gênero *Acinetobacter*. Bactérias das famílias Rhizobiaceae e Chromatiaceae envolvem-se no ciclo do nitrogênio, catalisando processos como a desnitrificação e a redução do nitrato, membros destas famílias possuem genes que codificam componentes de rotas que quebram aminoácidos como glicina, glutamato, ornitina e lisina, os dois últimos originando os compostos putrescina e cadaverina, responsáveis pelos odores característicos da decomposição [48].

Depois da ruptura do cadáver, fluídos ricos em amônia permeiam o solo, resultando em mudanças extremas nas concentrações de nitrogênio e pH no solo. Essas mudanças químicas iniciam uma sucessão ecológica de microrganismos do solo com grande capacidade de ciclagem de nitrogênio e tolerância a este ambiente alterado. Há um aumento na abundância relativa de comunidades bacterianas que possuem genes para a degradação de aminoácidos, com consequente produção de amônia [48]. Uma vez que se alcança as fases finais da decomposição, quando há restos secos, são detectadas bactérias como *Sporosarcina*, que conseguem quebrar compostos de baixo peso molecular como a ureia [45].

Os membros mais abundantes das comunidades microbianas são os anaeróbicos Firmicutes, incluindo *Clostridium* sp., sendo este um gênero onipresente em todo o processo de decomposição, significando que é provável que este seja um gênero biomarcador estável através do tanatomiobioma derivado de diferentes localidades do corpo [50].

Comunidades *post mortem* consistem em seis filos bacterianos principais: Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria e Chloroflexi. Outros grupos abundantes são os gêneros: *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp. e *Escherichia* sp. E apesar de filo não ser muito preditivo do IPM, observa-se que gêneros do filo Firmicutes (*Clostridium*, *Bacillus*, *Peptoniphilus*, *Blautia* e *Lactobacillus*) exibem mudanças temporais [50].

Apesar de existirem variações consideráveis entre hospedeiros diferentes, há uma mudança similar no microbioma ao longo do tempo. Nas comunidades microbianas iniciais, considerando o microbioma intestinal, a diversidade é alta, e os principais filos encontrados nestas comunidades, com alta abundância, são Firmicutes (*Faecalibacterium*, *Phascolarctobacterium*, *Blautia*, *Lachnospiraceae incertae sedis*) e Bacteroidetes (*Bacteroides* e *Parabacteroides*) característicos do ambiente intestinal. Já as comunidades tardias apresentam maior riqueza, mas menor diversidade do que as comunidades iniciais, sendo Firmicutes ainda o filo dominante, e havendo uma redução na abundância relativa de Bacteroidetes ao nível de filo [14].

Dentro do filo Firmicutes, a ordem que se destaca em riqueza nas comunidades tardias é a Clostridiales (com os gêneros: *Clostridium*, *Peptostreptococcus* e *Anaerospaera*). Outro filo abundante é Proteobacteria, com destaque para a classe Gammaproteobacteria (com os gêneros: *Wohlfahrtiimonas*, *Ignatzschineria*, *Acinetobacter* e *Providencia*) [14].

Em um estudo conduzido por Lutz *et al.* [52], microbiotas de diferentes órgãos humanos, como cérebro, coração, fígado, baço, próstata e útero, foram examinados em 40 cadáveres. A análise foi realizada por meio de sequenciamento de *amplicons* direcionado ao gene 16S rRNA. O IPM dos órgãos analisados variou entre 24 horas e 18 dias. Os tecidos obtidos provinham de indivíduos com diferentes causas de morte, incluindo homicídios, suicídios, acidentes e causas naturais. O estudo revelou uma correlação entre as abundâncias relativas dos principais grupos bacterianos presentes nos órgãos examinados e a estimativa do IPM. Observou-se um aumento na abundância relativa da ordem Burkholderiales no coração à medida que o IPM aumentava. Com exceção do útero, a ordem Clostridiales apresentou aumento relativo de abundância ao longo do tempo em todos os órgãos, sendo esse efeito mais pronunciado no cérebro, fígado e baço [52].

Debruyne e Hauther [14] identificaram as ordens Bacteroidales e Clostridiales como os táxons mais relevantes para a estimativa do IPM. Em consonância com a pesquisa conduzida por Lutz *et al.* [52], verificou-se que a ordem Clostridiales e a família Saprospiraceae representam táxons de destaque que contribuem para o processo de putrefação nos órgãos internos de cadáveres.

O aumento da abundância relativa de Clostridiales pode ser devido a um aumento no crescimento vegetativo por conta do ganho de energia pela fermentação de produtos celulares, mas também, apesar de menos provável, a sua capacidade de formar esporos pode permitir que estes resistam ao estresse causado pelas condições da decomposição, ao passo que outros táxons são reduzidos em abundância, assim *Clostridium* é um dos principais gêneros que podem ser utilizados como marcadores de tempo. Já os táxons *Bacteroides* e *Parabacteroides* apresentam uma relação inversa ao IPM, sofrendo declínio com o passar do tempo [14].

À medida que as comunidades evoluem, tendem a ser dominadas por um número reduzido de gêneros, resultando em uma diminuição da uniformidade geral. Esse fenômeno é comum durante respostas a distúrbios ou eventos de proliferação. Em um corpo em decomposição, as rápidas alterações nas condições ambientais e a produção de produtos da putrefação podem gerar estresse em determinados membros da comunidade, levando à redução de sua abundância. Paralelamente, outros membros mais tolerantes podem prosperar e se multiplicar no ambiente recém-formado [14].

O microbioma intestinal tem sido associado com restos parcialmente esqueletizados, enquanto comunidades microbianas do solo prevalecem em restos

esqueletizados avançados, que já se encontram secos [11]. À medida que o corpo avança para o estado de decomposição final, no estágio de esqueletização, as taxas bacterianas começam a se assemelhar com as assinaturas microbianas ambientais, como as comunidades de solo [12], [51].

À medida que o IPM avança para a fase de esqueletização, a estimativa do tempo de morte passa a apresentar mais desafios. Durante o processo de decomposição, as bactérias podem constituir uma alternativa viável para a estimativa do IPM em casos nos quais uma quantidade considerável de tecido mole já se deteriorou. Damann, Williams e Layton [53] ilustraram esse potencial em amostras de costelas coletadas de 12 cadáveres distintos. A composição do microbioma em ossos em decomposição revelou variações na distribuição dos filotipos durante a transição de um estágio parcialmente esqueletizado para os restos completamente esqueletizados e secos. Na fase de restos parcialmente esqueletizados (27 a 284 dias *post mortem*), observa-se uma predominância de Firmicutes em comparação com

todos os outros estágios. Já na fase de esqueletização completa (292 a 369 dias *post mortem*), os Bacteroidetes apresentam a maior abundância relativa. Na fase de restos secos (554 a 1.692 dias *post mortem*), verifica-se um aumento na abundância de Actinobacteria e uma presença discreta de Acidobacteria. Estas últimas não são comumente encontradas em associação com organismos humanos vivos, mas estão tipicamente presentes no solo e em ossos devido a fatores ambientais [53].

A presença sequencial de Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Acidobacteria durante a decomposição dos ossos indica uma mudança contínua na composição da comunidade microbiana. Os filos dominantes no intestino humano, Firmicutes e Bacteroidetes, apresentam maior prevalência em amostras parcialmente esqueletizadas. Com o passar do tempo, esses filos são substituídos por aqueles comumente encontrados em solos, como Actinobacteria e Acidobacteria, os quais estão presentes na fase de restos secos, conforme indicado por Javan *et al.* [51] (Figura 4).

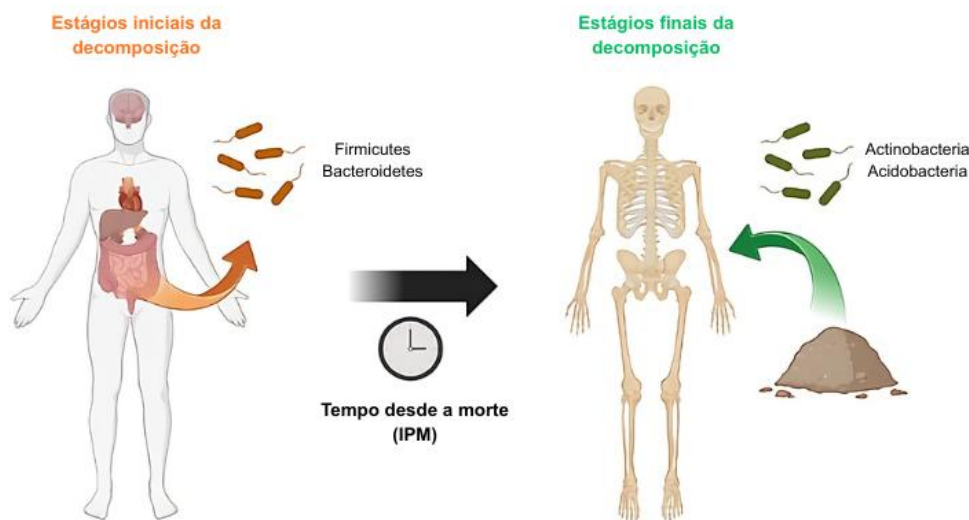


Figura 4. Períodos da decomposição e as suas bactérias. Fonte: a autora, utilizando o programa BioRender.

A diversidade de microrganismos que colonizam os ossos aumenta durante o processo de decomposição. Isso ocorre devido à maior infiltração de microrganismos ambientais, incluindo aqueles provenientes do solo e das áreas circundantes, em regiões internas do corpo anteriormente inacessíveis. Tal fenômeno acontece à medida que a integridade estrutural do corpo é comprometida pela decomposição. Em sua análise de amostras de costelas humanas, Deel *et al.* [54] demonstraram que o microbioma fundamental presente na decomposição óssea se expande conforme o avanço do processo. Essa expansão apresentou variações sazonais,

possivelmente relacionadas a alterações na composição do solo e ao comportamento dos insetos. Independentemente da estação, os filos predominantes são Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidetes. Entre eles, alguns representantes, como *Pseudomonas* e *Clostridium*, possuem a capacidade de degradar ossos por meio da liberação de collagenases que facilitam a decomposição do colágeno presente nos ossos [54].

Os microrganismos encontrados durante a fase de esqueletização diferem daqueles observados na fase inicial de decomposição e acredita-se que tenham origem

no ambiente circundante, incluindo o solo e a pele em decomposição. Presume-se que o ambiente favoreça um grupo de microrganismos do solo com capacidade de infiltrar o tecido ósseo e obter nutrientes. No nível de classe, os principais táxons dominantes nas comunidades decompositoras encontradas incluem Gammaproteobacteria e Actinobacteria. Além disso, Pseudomonadaceae, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Corynebacterium* também são comumente encontrados [54].

Em um estudo multidisciplinar Pittner *et al.* [55] avaliaram as alterações *post mortem* decorrentes da decomposição em corpos humanos, incluindo a avaliação das comunidades microbianas. Os estágios mais avançados da decomposição, especialmente de corpos enterrados, geralmente são os mais difíceis de se estimar o tempo, contudo, a sucessão de microrganismos é apontada como uma possível alternativa para essa estimativa. Foram avaliadas amostras em três pontos temporais diferentes (correspondendo aos meses de agosto, setembro e novembro de 2018). As comunidades microbianas foram representadas por 8 filos, 9 famílias e 27 gêneros distintos com diferentes abundâncias relativas. Em todos os níveis taxonômicos, houve variações diferenciais específicas entre os locais do corpo e ao longo das datas de amostragem [55].

No nível de filo, as comunidades foram dominadas principalmente por Firmicutes e Proteobacteria [55], o que é condizente com os estudos de Deel *et al.* [54], Javan *et al.* [50] e Debruyne e Hauther [14], além de outros citados acima, os quais mencionam esses mesmos táxons como dominantes. Demonstrou-se que dentre os principais táxons Actinobacteria diminuiu entre agosto e novembro, enquanto Proteobacteria e Firmicutes aumentaram nas comunidades de ouvido e nariz, ainda, Firmicutes aumentou nas comunidades de boca enquanto sofreu uma diminuição nas comunidades do intestino, revelando que existe uma variação na sucessão microbiana a depender do órgão de ocorrência [55], conforme apontado também por Liu *et al.* [56].

Apesar dessas variações, foi possível distinguir as datas de amostragem com base nas comunidades bacterianas presentes. Os principais gêneros usados no modelo preditivo eram bactérias que estavam ausentes na primeira amostragem de agosto, mas que estavam presentes em maior abundância em datas de amostragem posteriores. Dos vinte principais preditores, treze eram do filo Firmicutes, seis representavam Proteobacteria e um de Bacteroidetes [55].

Além disso, Liu *et al.* [56] demonstraram que as variações temporais do microbioma *post mortem* são específicas de cada órgão. Os microrganismos

predominantes variam entre os diferentes órgãos; contudo, tendem a apresentar maior similaridade ao longo do tempo. A variação inicial dos táxons presentes em cada órgão é atribuída às composições microbianas próprias de cada um. A presença, ausência ou abundância de determinados táxons microbianos associados a órgãos internos pode servir como indicador do IPM inicial, fator de maior relevância em aplicações forenses quando comparado a intervalos *post mortem* mais longos. Liu *et al.* [56] analisaram a composição microbiana em diferentes órgãos e IPMs internos — como cérebro, coração, fígado e rins — utilizando um modelo experimental com ratos durante um período de decomposição de um dia. O objetivo do estudo foi investigar as alterações iniciais das comunidades microbianas durante o processo de decomposição.

No cérebro, o filo predominante é Proteobacteria, caracterizado pela dominância dos gêneros *Ochrobactrum* e *Sediminibacterium*, cuja abundância diminui com o aumento do IPM. Em contrapartida, observa-se um aumento de *Acinetobacter*, *Cupriavidus* e *Agrobacterium* [56].

No microbioma cardíaco, os filos Proteobacteria e Thermi predominam nas fases iniciais. Com o tempo, há um aumento na prevalência de Firmicutes e uma redução de Actinobacteria, com o gênero *Thermus* emergindo como o principal constituinte. Paralelamente, a prevalência relativa dos gêneros *Enhydrobacter*, *Caulobacter* e *Methyloversatilis* diminui progressivamente durante a decomposição, enquanto *Pseudomonas*, *Sphingomonas* e *Cupriavidus* aumentam em abundância [56].

No fígado, os filos dominantes incluem Proteobacteria e Thermi, seguidos de Actinobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes. Actinobacteria apresentam redução gradual ao longo da decomposição. No nível de gênero, *Thermus* e *Cupriavidus* são prevalentes, enquanto *Microbacterium* diminui em abundância; simultaneamente, *Acinetobacter*, *Cupriavidus* e *Pseudomonas* apresentam aumento [56].

No sistema renal, os filos predominantes são Proteobacteria, Thermi e Firmicutes. Fusobacteria e Cyanobacteria diminuem em abundância com o tempo, ao passo que Proteobacteria e Actinobacteria aumentam. O gênero *Thermus* é dominante, enquanto *Acinetobacter* e *Pseudomonas* aumentam de abundância durante a decomposição, em contraste com a redução de *Methyloversatilis* [56].

O ponto mais importante a ser destacado é que as alterações temporais no microbioma são específicas de cada órgão. De modo geral, o cérebro é dominado por gêneros como *Acinetobacter*, *Cupriavidus*, *Ochrobactrum*

e *Sediminibacterium*, enquanto os demais órgãos (coração, fígado e rins) apresentam predominância de *Thermus*, *Cupriavidus* e *Pseudomonas*. Esses gêneros são relevantes para a determinação do momento em que ocorrem alterações nos órgãos internos em diferentes estágios de decomposição. Além disso, as vias metabólicas relacionadas ao metabolismo de lipídios, aminoácidos, carboidratos e outros compostos diferem entre os intervalos *post mortem*, modificando a composição dos microrganismos presentes em cada órgão ao longo do tempo [56]. Assim, a estrutura das comunidades presentes durante a decomposição depende não apenas da abundância inicial em cada órgão, mas também das vias metabólicas características de cada estágio.

Os estágios de decomposição se sobrepõem, este é um processo contínuo e não apenas uma série de etapas bem determinadas, além disso, cada etapa não é restrita a um período de tempo, em decorrência de diversos fatores bióticos e abióticos que podem vir a exercer influência sobre o processo [46], influenciando também na composição das comunidades microbianas.

O tanatomiobioma é similar entre tecidos de órgãos vindos do mesmo cadáver, mas é diferente entre outros cadáveres. Essas diferenças são atribuídas à diferenciação do tempo transcorrido desde a morte e vários fatores ambientais bióticos e abióticos. Um achado de particular interesse foi a incidência de *Pseudomonas* sp. detectadas exclusivamente em tecido cardíaco de cadáveres femininos, e *Clostridium* sp. sendo encontrado em maior abundância em mulheres, o que contrastou com *Rothia* sp. encontrada apenas em homens, e *Streptococcus* sp. em maior abundância em tecido cardíaco de cadáveres

masculinos. Espera-se que estes achados forneçam informações potencialmente substanciais sobre a diferenciação dos sexos após a morte, mesmo em estados avançados de decomposição [46], [57], porém mesmo que uma associação seja possível, ainda é necessária uma validação em estudos com maior poder amostral. Amostras de tecidos de órgãos como cérebro, coração, fígado e baço possuem abundâncias relativas similares dos mesmos táxons bacterianos ao longo do tempo e entre sexos [50]. Assim, por mais que existam diferenças entre sexos e entre cadáveres diferentes, ainda é possível padronizar uma sucessão bacteriológica característica para se determinar o tempo da morte quando se compara os mesmos órgãos dentro da escala temporal.

A composição dos microrganismos que compõem uma comunidade e a taxa com que a decomposição ocorre, varia devido a fatores intrínsecos como: idade e sexo, que refletem a composição corporal; saúde e doenças do organismo; exposição *ante-mortem* a infecções, a fármacos e a drogas; causa da morte e integridade do corpo, a depender da presença de lesões que expõem o corpo ao ambiente. E devido a fatores extrínsecos, como: temperatura do ambiente; acesso a oxigênio; umidade; pH; tipo de solo; presença de roupas; atividade de predadores e insetos e profundidade em que o cadáver foi enterrado (Figura 5). O entendimento dos efeitos de fatores diversos sobre a taxa de decomposição e sucessão do microbioma garante o desenvolvimento de um modelo único e generalizado para a estimativa do IPM mais precisa [11], [51].

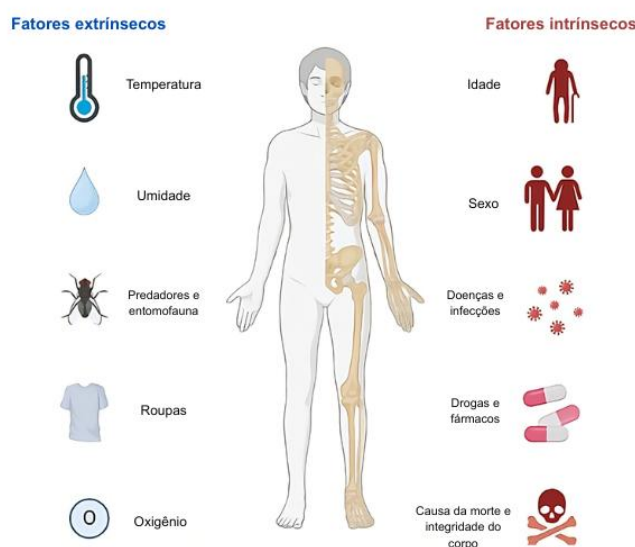


Figura 5. Fatores que influenciam a decomposição humana e as comunidades de microrganismos. Fonte: adaptado de [51] utilizando o programa BioRender.

Em temperaturas mais elevadas e em ambientes úmidos observa-se maiores índices de atividade microbiana. Após a morte há uma mudança considerável no pH devido principalmente à lise das células, o pH do sangue varia de 7,4 para 5,1, facilitando o crescimento de microrganismos acidófilos; e durante a fase enfisematosa, gases como o metano são liberados, também contribuindo para o decaimento do pH do cadáver, assim o isolamento de organismos acidófilos tem uma relevância forense na determinação do intervalo de tempo da morte. Além do mais o ambiente ácido promove o crescimento de muitos comensais lipofílicos na pele, como *Propionibacterium acnes* e o fungo *Malassezia sp* [11], pertencentes ao epinecrobio, o qual será discutido posteriormente.

O uso prolongado de antibióticos altera o microbioma normal do organismo humano, infecções por *Clostridium difficile* são comumente associadas com o uso de antibióticos, o que torna o hospedeiro suscetível a outras doenças, altera o microbioma e consequentemente também altera a dinâmica do tanamicrobioma após a morte, interessantemente *Clostridium* foi encontrada em maior abundância em tecidos de casos de morte por overdose de drogas [11].

Dietas de longo prazo também exercem influência na composição do microbioma gastrointestinal, logo também influenciam o tanatomicrobioma, visto que o principal foco é no trato gastrointestinal. Por exemplo, microrganismos tolerantes a bile como *Alistipes*, *Bilophila* e *Bacteroides* são mais comuns em indivíduos com uma dieta de base animal, enquanto dietas a base de plantas encorajam o crescimento de *Roseburia*, *Eubacterium rectale* e *Ruminococcus bromii* [11]. Assim é preciso entender o histórico de uso de antibióticos e outros fármacos e a dieta individual antes de se fazer uma análise generalizada no tanatomicrobioma.

Fatores bióticos, incluindo a presença de insetos necrófagos, desempenham papel significativo na composição do microbioma *post mortem*. Gammaproteobacteria, incluindo *Ignatzschineria*, *Wohlfartiimonas* e *Paenalcaligenes sp.*, proliferam tanto em cadáveres quanto no solo circundante quando ocorre a colonização por moscas [45]. Essa colonização geralmente acontece durante as fases ativas da decomposição, quando o corpo ainda se encontra úmido. Contudo, sua abundância diminui nas fases posteriores, quando o corpo já está ressecado ou esqueletizado [58]. Esse padrão sugere uma origem entomológica desses microrganismos [59], ressaltando sua relevância na estimativa do intervalo *post mortem*.

A presença de infecções *ante-mortem* contribuem para uma putrefação acelerada, por conta da presença prévia de microrganismos ativos no organismo [11].

Apesar de diversos fatores ambientais poderem influenciar a composição das comunidades microbianas, um estudo recente com 36 cadáveres em diferentes locais demonstrou que o mesmo grupo de microrganismos especializados na decomposição, formando uma rede de interações, está presente nos corpos independentemente dos efeitos da localização geográfica, do clima e das estações do ano. Há evidências de maior eficiência no processamento de compostos ricos em lipídios e proteínas por meio das interações entre organismos. Além disso, verificou-se que os microrganismos chegam de forma relativamente consistente em determinados estágios específicos ao longo de 21 dias, com os insetos desempenhando papel crucial na colonização do corpo por esses microrganismos [60].

Táxons importantes para a determinação do IPM, como *Peptostreptococcus sp.*, *Sporosarcina sp.* e *Clostridiales sp.*, foram identificados na decomposição de corpos tanto em ambientes semiáridos quanto temperados, sugerindo que alguns grupos respondem de forma ubíqua, independentemente do clima [60]. Embora visualmente a decomposição seja afetada pelas diferentes estações, o que poderia alterar a estimativa do IPM se baseada apenas em critérios clássicos visuais, os grupos microbianos apresentam certa uniformidade. Isso possibilita uma maior padronização para aplicações futuras nas ciências forenses.

3.3.2. Comunidades epinecróticas ou epinecrobio

O ambiente da pele humana é frio, ácido e dessecado, compreendendo um habitat único para o estabelecimento de conjuntos específicos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, vírus e ácaros [11]. As comunidades epinecróticas habitam as superfícies corporais externas como tecidos epiteliais e mucosa oral, também demonstram um potencial para serem usadas como marcadores para a determinação do IPM [11].

As bactérias presentes na pele são altamente diversas, exibindo uma variabilidade distinta entre indivíduos. Elas podem persistir em superfícies por longos períodos, isto porque muitas são altamente resistentes a estresses ambientais como umidade, temperatura e até mesmo radiação UV [61], assim, seriam adequadas para serem utilizadas como uma assinatura microbiológica *post mortem*.

A cavidade oral abriga um dos mais diversos microbiomas do corpo, sendo o segundo mais complexo, atrás apenas do microbioma gastrointestinal. Adserias-Garriga *et al.* [62] analisaram a decomposição de três indivíduos, sendo um homem e duas mulheres, em que se coletaram amostras de *swab* oral diariamente nos

diferentes estágios da putrefação cadavérica. Os três apresentaram alterações sucessionais semelhantes ao longo do processo. Firmicutes e Actinobacteria são os filos nativos mais prevalentes da cavidade oral em organismos vivos, assim, se mostram como filos predominantes no estágio cromático, correspondendo ao intervalo de 1 a 5 dias após a morte, no qual ainda se fazem presentes as condições aeróbicas. Entre os dias 5 e 7, Tenericutes aparecem de forma transitória, enquanto Firmicutes e Actinobacteria diminuem em abundância relativa. A presença de Tenericutes corresponde somente ao período enfisematoso, mesmo quando este não é visualmente reconhecível, provavelmente pelo fato de que as mudanças físico-químicas e as condições nutricionais correspondem ao seu nicho raro. Tenericutes compõem parte do microbioma gastrointestinal e se espalham até atingir a cavidade oral durante o período enfisematoso [62].

Quando o oxigênio é consumido, grupos fermentativos como Tenericutes e Proteobacteria, passam a prevalecer. Dos dias 6 ao 12, a abundância de Firmicutes aumenta, sendo predominante no período coliquativo, porém a estrutura da sua comunidade neste estágio difere da comunidade de Firmicutes que está presente no período cromático, que era representada principalmente por filotipos naturalmente presentes no microbioma oral. Clostridiales e Bacillaceae são os principais representantes de Firmicutes presentes a partir do estágio enfisematoso até o período coliquativo. Estas famílias são capazes de formar esporos, e assim conseguem resistir às condições desfavoráveis do ambiente, podendo ser interpretadas como microbiota oportunista nativa de solo. As comunidades bacterianas são dispostas em um eixo temporal conforme as condições do ambiente cadavérico, principalmente relacionado com a disponibilidade de oxigênio [62].

Ao nível de famílias, o período cromático é caracterizado por representantes comumente encontrados no microbioma oral como Lactobacillaceae, Staphylococcaceae, Gemellaceae, Carnobacteriaceae, Aerococcaceae, Veillonellaceae, Streptococcaceae, Campylobacteraceae, Micrococcaceae, Bifidobacteriaceae, Actinomycetaceae e Corynebacteriaceae [58], [62].

No período enfisematoso as famílias predominantes foram Peptostreptococcaceae e Bacteroidaceae, a maioria sendo representante oral, também Enterococcaceae, representante gastrointestinal. Ao fim do período enfisematoso Clostridiales tiraram proveito das mudanças nas condições ambientais, principalmente a depleção de oxigênio [58], [62].

No período coliquativo Gammaproteobacteria, Pseudomonadaceae, Alcaligenaceae, Planococcaceae, e o gênero *Acinetobacter*, que são representantes do solo, tornam-se predominantes. E durante a esqueletização, é característico a presença de Bacilli e Clostridia, formadores de esporos, que permite a rápida colonização em novas condições ecológicas [58], [62].

No que se refere ao microbioma oral, Dong *et al.* [63] analisaram a correlação entre microrganismos orais e o IPM por meio do exame de 23 amostras em modelos experimentais com ratos. No nível de filo, dentro de um intervalo de 10 dias após a morte, Proteobacteria e Firmicutes dominaram consistentemente. Proteobacteria apresentaram tendência inicial de declínio seguida de aumento, enquanto Firmicutes mostraram um aumento inicial seguido de redução. Os filos Actinobacteria e Bacteroidetes também estavam presentes, mas declinaram com o aumento do IPM. Ficou evidente que as alterações observadas em Proteobacteria possuem correlação linear positiva com o tempo desde a morte.

No nível de classe, a abundância de Gammaproteobacteria aumentou com o IPM, ao passo que Alphaproteobacteria e Bacteroidia diminuíram. No nível de ordem, a abundância relativa de Enterobacteriales aumentou com o IPM, enquanto Pasteurellales, Bacteroidales e Rhizobiales diminuíram. A ordem Lactobacillales apresentou aumento inicial seguido de declínio ao longo do tempo [63]. No nível de família, a abundância de Enterobacteriaceae, tipicamente encontrada no ambiente intestinal, aumentou, enquanto Pasteurellaceae e Phyllobacteriaceae diminuíram com o tempo. Em contrapartida, as famílias Streptococcaceae, Ruminococcaceae e Bacteroidaceae apresentaram aumento inicial seguido de redução com o avanço do tempo após a morte [63].

No nível de gênero, *Proteus* apresentou relação linear positiva com o IPM, visto que sua abundância relativa aumentou ao longo do tempo. Quanto à diversidade, a diversidade alfa do microbioma oral diminuiu com o aumento do intervalo de tempo. Os autores destacam que Gammaproteobacteria e *Proteus* são os melhores candidatos para a estimativa do tempo desde a morte a partir de amostras orais, particularmente em IPMs mais longos [63].

Em um estudo que utilizou carcaças de suínos como modelos para avaliar a comunidade bacteriana durante o processo de decomposição, foram coletadas amostras da cavidade oral e da pele. As comunidades apresentaram variações notáveis na riqueza de táxons e nos padrões de abundância relativa, tanto no nível de filo quanto de família, ao longo da decomposição. Segundo Pechal *et al.* [64], Proteobacteria foi o filo dominante do primeiro ao

terceiro dia após a morte, mas apresentou declínio a partir do quinto dia. Nesse ponto, Firmicutes tornou-se o táxon dominante à medida que a decomposição progredia. O aumento de Firmicutes observado nesse estudo é consistente com os achados de Adserias-Garriga *et al.* [62] apesar da utilização de carcaças suínas em sua pesquisa [62], [64]. Esse resultado sugere que modelos animais podem ser úteis na predição da sucessão microbiana. Ambos os estudos coletaram amostras orais, o que pode explicar a semelhança na sucessão observada. Tal evidência ressalta a importância da padronização das metodologias de pesquisa, especialmente em se tratando do uso de modelos animais.

Pechal *et al.* [64] também avaliaram famílias, durante a amostragem inicial Bacteroidaceae e Moraxellaceae foram indicadores significativos desta primeira etapa decomposicional, enquanto Bacillaceae e Clostridiales *Incertae Sedis* XI foram significativamente representadas nas comunidades após o quinto dia, ou seja, se fazem presentes à medida que o IPM aumenta. Os filos que melhor demonstraram a variação do tempo foram Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes [64].

Em outro estudo utilizando modelos humanos, regiões do palato duro foram amostradas para análise do microbioma oral. O estudo combinou metodologias de sequenciamento do rRNA 16S com abordagens de metagenômica, metatranscriptômica e métodos de cultivo. Nos quatro métodos empregados, os filos predominantes foram Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidetes. Contudo, o nível de filo mostrou-se insuficiente para diferenciar amostras de acordo com o estágio de decomposição. Uma resolução mais adequada pode ser alcançada no nível de gênero, permitindo distinguir comunidades entre estágios iniciais e avançados de decomposição. Táxons presentes no microbioma oral normal antes da morte, como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Rothia* e *Candida*, são progressivamente substituídos por táxons como *Lysinibacillus*, *Vagococcus*, *Ignatzschineria* e *Yarrowia* ao longo do tempo [65].

Em amostras coletadas durante as fases iniciais da decomposição, Firmicutes emerge como o filo predominante, e gêneros predominantes incluem *Rothia* e *Lactobacillus*. *Actinomyces*, *Clostridium* e *Streptococcus* também apresentam quantidades significativas. Além disso, *Lysinibacillus*, *Vagococcus*, *Pseudomonas*, *Ignatzschineria*, *Acinetobacter*, *Enterococcus* e *Erysipelothrix* foram identificados tanto nos estágios iniciais quanto nos mais avançados do processo [65]. Nas amostras coletadas em estágios avançados de decomposição, observa-se um aumento da prevalência de Proteobacteria, com destaque para o gênero

Pseudomonas, além do registro da presença de *Oblitimonas*. Durante a fase de esqueletização, nota-se a ocorrência do gênero *Comamonas*, bem como de grupos com maior resistência a condições ambientais severas [65].

Ashe *et al.* [65] também discutem o impacto de artrópodes e de determinados vertebrados no processo de decomposição. Esses organismos podem atuar como vetores de microrganismos específicos, incluindo os gêneros *Ignatzschineria* e *Wohlfahrtiimonas*. Assim como discutido em Hyde *et al.* [58] e Adserias-Garriga *et al.* [62], que pontuam que para amostras de pele, os gêneros *Pseudomonas* e *Acinetobacter* são dominantes antes da fase coliquativa, ao passo que *Ignatzschineria*, associada com larvas de moscas da família Sarcophagidae, aumenta em abundância após a fase de liquefação se iniciar, sofrendo um decréscimo após a perda de biomassa úmida. No entanto, apesar da mudança observada nos táxons ao longo do tempo, ainda se faz necessário um refinamento adicional para estabelecer uma correlação direta com a estimativa do IPM [65].

A presença de insetos em um corpo em decomposição pode afetar a riqueza de táxons bacterianos por meio da competição, a qual resulta na diminuição de táxons ao longo do tempo. Os insetos utilizam os mesmos recursos nutricionais que as bactérias, gerando competição, além disso insetos apresentam mecanismos para combater microrganismos, moscas varejeiras, por exemplo, podem afetar diretamente espécies microbianas através de suas secreções químicas [64]. Essa relação demonstra que um corpo em decomposição deve ser analisado como um novo ecossistema, contendo suas próprias relações entre os fatores bióticos e abióticos. Considerando essas interações ecológicas, deste modo, é importante estudar as comunidades microbianas e entomológicas como entidades interconectadas, considerando suas influências mútuas e o impacto de outros fatores sobre a decomposição.

Também se observa que as bactérias presentes no corpo podem ser transferidas do corpo para o solo, colonizando e alterando a sua composição. Firmicutes diminui em abundância nas superfícies corporais em decomposição, mas aumenta em abundância no solo ao redor do cadáver com o avanço da decomposição [49]. Assim, estes grupos também apresentam um potencial para serem usados como marcadores de um relógio microbiológico, que é a sucessão *post mortem* sincronizada de uma diversidade microbiana que ocorre durante o decaimento cadavérico. As comunidades epinecroticas não apenas atuam como marcadores do tempo de morte, mas também podem auxiliar na inferência do local do óbito. Essas comunidades, expostas

na superfície corporal, interação de forma estreita com o ambiente circundante. Sua composição varia de acordo com a localização geográfica e o tipo de ambiente em que o cadáver se encontra [49]. Portanto, torna-se possível determinar se um cadáver foi ou não transferido de um local para outro.

De forma geral, a decomposição é um processo dinâmico que não é completamente determinístico, sendo influenciado pela estocasticidade, o que leva a trajetórias ligeiramente diferentes na sucessão das comunidades bacterianas entre indivíduos. Alguns estudos demonstram que a importância relativa dos processos estocásticos e determinísticos na sucessão microbiana, em especial a seleção ambiental, varia ao longo do tempo. Processos estocásticos tendem a predominar nos estágios iniciais da sucessão, enquanto os determinísticos tornam-se mais relevantes nas fases posteriores. Apesar das variações individuais na sucessão microbiana, ainda é possível identificar um padrão consistente [14], [60]. À medida que a decomposição avança, as comunidades microbianas tornam-se mais semelhantes [58], mesmo quando eram inicialmente distintas entre os indivíduos, o que permite estabelecer uma cronologia padronizada.

Diversos grupos de microrganismos foram propostos para utilização no estudo a fim de identificar os mais apropriados. Alguns filos mostraram-se notavelmente mais abundantes durante o processo de decomposição, como Proteobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes, que são indígenas aos órgãos analisados. Os Bacteroidetes são altamente prevalentes nos estágios iniciais da decomposição (ocorrendo poucas horas após a morte) em razão de sua presença natural nos intestinos, que constituem o principal local de início da putrefação. Entretanto, sua abundância diminui à medida que o tempo avança. Após um período mais prolongado de decomposição (tipicamente após sete dias) observa-se um aumento na prevalência de Proteobacteria e Firmicutes, em especial do gênero *Clostridium*. Dessa forma, esses três táxons são considerados adequados para implementação como bioindicadores.

4. CONCLUSÕES

Os processos que envolvem a morte e os períodos subsequentes ainda permanecem em grande parte um mistério, havendo muito a ser descoberto. O estudo dos microrganismos fornece subsídios para a compreensão dos processos de decomposição que ocorrem após a morte. A estimativa do IPM constitui uma etapa crucial nas investigações criminais e representa um tema recorrente nas pesquisas em ciências forenses. O desenvolvimento de técnicas mais precisas para essa determinação mostra-se cada vez mais necessário, tendo

em vista o caráter subjetivo e as limitações dos métodos atualmente disponíveis.

O microbioma *post mortem* configura-se como uma nova ferramenta com potencial aplicação nas ciências forenses. Persistem lacunas no conhecimento sobre a decomposição cadavérica, em parte devido à escassez de modelos humanos disponíveis para estudo. É possível responder a hipótese de que os microrganismos, particularmente aqueles presentes no tanatomiobioma e no epinecrobioima, podem ser utilizados na determinação do IPM. Isso evidencia as interações diversas e complexas das comunidades microbianas no corpo e no solo, assim como o processo de decomposição de órgãos específicos e os potenciais microrganismos presentes em cada estágio.

Com base nas descobertas apresentadas nesta revisão e em pesquisas anteriores, sugere-se que órgãos específicos, como intestinos, cérebro, coração, fígado e rins, bem como cavidades como a cavidade oral, possam ser empregados em investigações do IPM. Esse fenômeno ocorre devido à migração de bactérias intestinais, responsáveis por iniciar o processo de decomposição, para outros órgãos. Consequentemente, esses órgãos apresentam diferentes cronologias de decomposição.

Apesar dos avanços significativos nos últimos anos, ainda existem questões não respondidas quanto ao uso da sucessão microbiana em cadáveres para a estimativa do IPM. É essencial compreender os padrões e processos que regulam a sucessão dos microrganismos após a morte. Esse conhecimento permite o desenvolvimento de hipóteses sobre como tais organismos respondem às alterações no corpo e possibilita a predição de condições futuras. A variação na estrutura e na função das comunidades microbianas pode ser atribuída a fatores determinísticos, como condições abióticas (temperatura e umidade) e fatores bióticos (presença de insetos), bem como a fatores estocásticos, como perturbações no ecossistema.

Apesar da hipótese da utilização de microrganismos para o cálculo do IPM se mostrar plausível, porém ainda não plenamente validada, os estudos existentes ainda são insuficientes para que estes sejam utilizados como uma ferramenta na rotina forense. Isso em parte pela escassez de pesquisas realizadas na área e à ausência de padronização metodológica, dado que os estudos analisados foram realizados em diferentes organismos (humanos, ratos e porcos) com amostragens em diferentes órgãos e em diferentes condições ambientais. A compreensão da reprodutibilidade desse processo em diferentes condições ambientais e geográficas é fundamental para aumentar a confiabilidade da técnica. Esse esforço busca validar cientificamente e estabelecer o

microbioma como uma evidência a ser utilizada na rotina pericial.

Os estudos devem adotar uma abordagem padronizada, incluindo a coleta sistemática de amostras de regiões anatômicas específicas, a utilização de tecidos idênticos e a aplicação de técnicas uniformes de amostragem. Somente mediante a adesão a esses protocolos será possível comparar resultados e estabelecer um padrão de sucessão confiável. Além disso, é imprescindível a realização de estudos em modelos animais e humanos desenvolvidos em diferentes países e climas, a fim de considerar o impacto de fatores externos, como o clima, na sucessão microbiana. Isso é relevante porque grande parte das pesquisas concentra-se em países como Estados Unidos e Canadá, o que dificulta a utilização dos mesmos dados em regiões com padrões climáticos distintos, como os países tropicais.

Os autores reconhecem que esta revisão integrativa pode conter limitações, porém enfatizam que esta trata-se de uma revisão destinada a apontar tópicos para pesquisas futuras. Ademais, o estudo do microbioma *post mortem* apresenta implicações não apenas para a academia e para as forças de segurança, mas também para a sociedade como um todo. Os dados obtidos por meio dessas pesquisas podem constituir evidências físicas valiosas em investigações médico-legais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] B. Budowle *et al.* Building microbial forensics as a response to bioterrorism. *Science* **301** (5641): 1852–1853 (2003).
- [2] National Research Council. *Science Needs for Microbial Forensics: Initial International Research Priorities*. (2014). Retirado em 24/05/2025, de: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/18737/science-needs-for-microbial-forensics-developing-initial-international-research-priorities>.
- [3] B. Budowle; S. Schutzer; S. Morse. *Microbial Forensics*. 3. ed. Elsevier, United States of America (2020).
- [4] I. Kuiper. Microbial forensics: next-generation sequencing as catalyst. *EMBO Reports* **17** (8): 1085–1087 (2016).
- [5] K.A. Hauther; K.L. Cobaugh; L.M. Jantz; T.E. Sparer; J.M. DeBruyn. Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities. *Journal of Forensic Sciences* **60** (5): 1234–1240 (2015).
- [6] J.L. Metcalf. Estimating the postmortem interval using microbes: knowledge gaps and a path to technology adoption. *Forensic Science International: Genetics* **38**: 211–218 (2019).
- [7] G.V. da França. *Medicina Legal*. 11. ed. Guanabara Koogan, Brazil (2017).
- [8] J.A.P. Scaglia. *Manual de Entomologia Forense*. São Paulo, Brazil (2014).
- [9] S.-Y. Lee; S.-K. Woo; G.-W. Choi; Y.-J. Hong; Y. Bin Eom. Microbial forensic analysis of bacterial fingerprint by sequence comparison of 16S rRNA gene. *Journal of Forensic Research* **6** (5): 1-4 (2015).
- [10] D.O. Carter. *Forensic Microbiology*. Wiley. United States of America (2017).
- [11] H.R. Dash; S. Das. Thanatomiobiome and epinecrotic community signatures for estimation of post-mortem time interval in human cadaver. *Applied Microbiology and Biotechnology* **104** (22): 9497–9512 (2020).
- [12] G.T. Javan; S.J. Finley; Z. Abidin; J.G. Mulle. The thanatomiobiome: a missing piece of the microbial puzzle of death. *Frontiers in Microbiology* **7** (225): 1–7 (2016).
- [13] H.E. Blum. The human microbiome. *Adv Med Sci* **62**(2): 414–420 (2017).
- [14] J.M. DeBruyn; K.A. Hauther. Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects. *PeerJ* **5**: e3437 (2017).
- [15] R.S. Murch; E.L. Bahr. Validation of microbial forensics in scientific, legal, and policy contexts. In: B. Budowle; S. Schutzer; S. Morse (eds.). *Microbial Forensics*. Elsevier, United States of America (2011) 649–663.
- [16] G. Berg *et al.* Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* **8** (1): 103 (2020).
- [17] J.R. Marchesi; J. Ravel. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* **3** (1): 31 (2015).
- [18] K. Li; M. Bihan; B.A. Methé. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PLoS One* **8** (5): 1-25 (2013).
- [19] J. Reynoso-García *et al.* A complete guide to human microbiomes: body niches, transmission, development, dysbiosis, and restoration. *Front Syst Biol* **2**: 1-22 (2022).
- [20] L.K. Ursell; J.C. Clemente; J.R. Rideout; D. Gevers; J.G. Caporaso; R. Knight. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol* **129** (5): 1204–1208 (2012).
- [21] P.J. Turnbaugh; R.E. Ley; M. Hamady; C.M. Fraser-Liggett; R. Knight; J.I. Gordon. The Human Microbiome Project. *Nature* **449** (7164): 804–810 (2007).
- [22] S. Riedel; S.A. Morse; T.A. Mietzner; S. Miller. *Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg*. 28. ed. Artmed, Porto Alegre, Brasil (2022).
- [23] L.K. Ursell; J.L. Metcalf; L.W. Parfrey; R. Knight. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* **70**: S38–S44 (2012).

- [24] R. Sender; S. Fuchs; R. Milo. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* **14** (8): e1002533 (2016).
- [25] E.A. Grice; J.A. Segre. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* **13**: 151–170 (2012).
- [26] M.T. Madigan. *Brock Biology of Microorganisms*. 14. ed. Pearson, United States of America (2014).
- [27] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486** (7402): 207–214 (2012).
- [28] E.K. Costello; C.L. Lauber; M. Hamady; N. Fierer; J.I. Gordon; R. Knight. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science* **326** (5960): 1694–1697 (2009).
- [29] P.C. Luna. Skin microbiome as years go by. *Am J Clin Dermatol* **21**(S1): 12–17 (2020).
- [30] A. Shade; J. Handelsman. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environ Microbiol* **14** (1): 4–12 (2012).
- [31] V.K. Gupta; S. Paul; C. Dutta. Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity. *Front. Microbiol.* **8**: 1162 (2017).
- [32] X. Zhou *et al.* Longitudinal profiling of the microbiome at four body sites reveals core stability and individualized dynamics during health and disease. *Cell Host Microbe* **32** (4): 506–526.e9 (2024).
- [33] J. Oh; A.L. Byrd; M. Park; H.H. Kong; J.A. Segre. Temporal stability of the human skin microbiome. *Cell* **165** (4): 854–866 (2016).
- [34] A.M. Christensen; N.V. Passalacqua; E.J. Bartelink. Forensic Taphonomy. In: *Forensic Anthropology*. Elsevier, United States of America (2014) 119–147.
- [35] S.L. Forbes; K.A. Perrault; J.L. Comstock. Microscopic post-mortem changes: the chemistry of decomposition. In: *Taphonomy of Human Remains: Forensic Analysis of the Dead and the Depositional Environment*. Wiley, United States of America (2017) 26–38.
- [36] R.C. Janaway; S.L. Percival; A.S. Wilson. Decomposition of human remains. In: *Microbiology and Aging*. Totowa, NJ, Humana Press, United States of America (2009) 313–334.
- [37] B.G. Ioan; C. Manea; B. Hanganu; L. Statescu; L. Gheuca Solovastru; I. Manoilescu. The chemistry decomposition in human corpses. *Revista de Chimie* **68** (6): 1352–1356 (2017).
- [38] A.A. Vass. Beyond the grave—understanding human decomposition. *Microbiology Today* **28**: 190–192 (2001).
- [39] J. Dowell-Curby; C.L. Oskam; M.B. Chapman. A review of the microbiome associated with human decomposition. *Dissertação de Mestrado*, Master Of Forensic Science, The School Of Veterinary And Life Sciences, Murdoch University, Australia (2017).
- [40] A.A. Vass. Dust to dust. *Sci Am* **303** (3): 56–59 (2010).
- [41] M.L. Goff. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Exp Appl Acarol* **49** (1–2): 21–36 (2009).
- [42] M.A. Iqbal; M. Ueland; S.L. Forbes. Recent advances in the estimation of post-mortem interval in forensic taphonomy. *Australian Journal of Forensic Sciences*, **52** (1): 107–123 (2020).
- [43] D.L. Cockle; L.S. Bell. Human decomposition and the reliability of a “Universal” model for post mortem interval estimations. *Forensic Science International*, **253**: 136.e1–136.e9 (2015).
- [44] D.L.C. Guebelin; A. Dobay; L. Ebert; E. Betschart; M.J. Thali; S. Franckenberg. Correlation of age, sex and season with the state of human decomposition as quantified by postmortem computed tomography. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, **17** (2): 185–191 (2021).
- [45] J.L. Metcalf; D.O. Carter; R. Knight. Microbiology of death. *Current Biology*, **26** (13): R561–R563 (2016).
- [46] G.T. Javan; S.J. Finley. What is the “Thanatobiome” and what is its relevance to forensic investigations? In: *Forensic Ecogenomics*. Elsevier, United States of America (2018) 133–143.
- [47] I. Can; G.T. Javan; A.E. Pozhitkov; P.A. Noble. Distinctive thanatobiome signatures found in the blood and internal organs of humans. *Journal of Microbiological Methods*, **106**: 1–7 (2014).
- [48] J.L. Metcalf *et al.* Microbial community assembly and metabolic function during mammalian corpse decomposition. *Science*, **351** (6269): 158–162 (2016).
- [49] W. Zhou; Y. Bian. Thanatobiome composition profiling as a tool for forensic investigation. *Forensic Sciences Research*, **3**(2): 105–110 (2018).
- [50] G.T. Javan; S.J. Finley; I. Can; J.E. Wilkinson; J.D. Hanson; A.M. Tarone. Human thanatobiome succession and time since death. *Scientific Reports*, **6** (1): 29598 (2016).
- [51] G.T. Javan; S.J. Finley; S. Tuomisto; A. Hall; M.E. Benbow; D. Mills. An interdisciplinary review of the thanatobiome in human decomposition. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, **15** (1): 75–83 (2019).
- [52] H. Lutz *et al.* Effects of extended postmortem interval on microbial communities in organs of the human cadaver. *Frontiers in Microbiology*: **11** (569630): 1–11 (2020).
- [53] F.E. Damann; D.E. Williams; A.C. Layton. Potential use of bacterial community succession in decaying human bone for estimating postmortem interval. *Journal of Forensic Sciences*, **60** (4): 844–850 (2015).
- [54] H. Deel *et al.* A pilot study of microbial succession in human rib skeletal remains during terrestrial decomposition. *mSphere*, **6** (4): 1–16 (2021).

- [55] S. Pittner *et al.* The applicability of forensic time since death estimation methods for buried bodies in advanced decomposition stages. *PLoS One*, **15** (12): e0243395 (2020).
- [56] R. Liu *et al.* Dissecting the microbial community structure of internal organs during the early postmortem period in a murine corpse model. *BMC Microbiology*, **23** (1): 38 (2023).
- [57] J.M. Robinson; Z. Pasternak; C.E. Mason; E. Elhaik. Forensic applications of microbiomics: a review. *Frontiers in Microbiology*, **11** (608101): 1–13 (2021).
- [58] E.R. Hyde; D.P. Haarmann; J.F. Petrosino; A.M. Lynne; S.R. Bucheli. Initial insights into bacterial succession during human decomposition. *International Journal of Legal Medicine*, **129** (3): 661–671 (2015).
- [59] K.L. Cobaugh; S.M. Schaeffer; J.M. DeBruyn. Functional and structural succession of soil microbial communities below decomposing human cadavers. *PLoS One*, **10** (6): e0130201 (2015).
- [60] Z.M. Burcham *et al.* A conserved interdomain microbial network underpins cadaver decomposition despite environmental variables. *Nature Microbiology*, **9** (3): 595–613 (2024).
- [61] N. Fierer; C.L. Lauber; N. Zhou; D. McDonald; E.K. Costello; R. Knight. Forensic identification using skin bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107** (14): 6477–6481 (2010).
- [62] J. Adserias-Garriga; N.M. Quijada; M. Hernandez; D. Rodríguez Lázaro; D. Steadman; L.J. Garcia-Gil. Dynamics of the oral microbiota as a tool to estimate time since death. *Molecular Oral Microbiology*, **32** (6): 511–516 (2017).
- [63] K. Dong *et al.* Succession of oral microbiota community as a tool to estimate postmortem interval. *Scientific Reports*, **9** (1): 13063 (2019).
- [64] J.L. Pechal; T.L. Crippen; M.E. Benbow; A.M. Tarone; S. Dowd; J.K. Tomberlin. The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing. *International Journal of Legal Medicine*, **128** (1): 193–205 (2014).
- [65] E.C. Ashe; A.M. Comeau; K. Zejdlik; S.P. O’Connell. Characterization of bacterial community dynamics of the human mouth throughout decomposition via metagenomic, metatranscriptomic, and culturing techniques. *Frontiers in Microbiology*, **12** (689493): 1–23 (2021).

APÊNDICES OU ANEXOS

Abaixo encontra-se um esquema ilustrativo das fases da decomposição com os respectivos táxons predominantes em cada uma a fim de facilitar a compreensão dos principais achados neste estudo teórico.

