

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/09/2027.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS ECOTOXICOLÓGICOS DO NECROCHORUME,
POR MEIO DE SIMULAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DE CEMITÉRIOS**

BEATRIZ DA SILVA XAVIER

**Rio Claro – SP
2025**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS ECOTOXICOLÓGICOS DO NECROCHORUME,
POR MEIO DE SIMULAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO DE CEMITÉRIOS**

BEATRIZ DA SILVA XAVIER

Dissertação apresentada ao Instituto de Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Dra. Maria Aparecida Marin-Morales

Coorientador: Dra. Letícia Rocha Gonçalves

**Rio Claro – SP
2025**

X3a

Xavier, Beatriz da Silva

Avaliação dos impactos ecotoxicológicos do necrochorume, por meio de simulação de contaminação de cemitérios / Beatriz da Silva Xavier. -- Rio Claro, 2025

99 f. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Maria Aparecida Marin-Morales

Coorientadora: Letícia Rocha Gonçalves

1. Toxicologia ambiental. 2. Aminas biogênicas. 3. Cultura de células. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação dos impactos ecotoxicológicos do necrochorume, por meio de simulação de contaminação de cemitérios

AUTORA: BEATRIZ DA SILVA XAVIER


ORIENTADORA: MARIA APARECIDA MARIN MORALES

COORIENTADORA: LETICIA ROCHA GONÇALVES


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **MARIA APARECIDA MARIN MORALES**
Data: 08/09/2025 23:39:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP Instituto de Biociências de Rio Claro SP

Documento assinado digitalmente
 **SILVIA TAMIE MATSUMOTO**
Data: 09/09/2025 11:13:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. SILVIA TAMIE MATSUMOTO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Genética / Universidade Federal do Espírito Santo

Documento assinado digitalmente
 **MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO**
Data: 09/09/2025 11:04:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / FHO - Fundação Hermínio Ometto

Rio Claro, 09 de setembro de 2025

Dedico este trabalho aos meus pais, Mauro e Elaine, pelo amor, incentivo e apoio em mim depositados.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me guiar e iluminar durante todo esse caminho, que, muitas vezes, parecia árduo, mas se fez possível pela fé e determinação.

Aos meus pais, Elaine e Mauro, que, sob muito sol, me fizeram chegar até aqui pela sombra e com água fresca. Meus primeiros exemplos de amor, eu não seria absolutamente nada sem vocês. Ao meu irmão, Vitor, às minhas avós, Elena e Hortência, e ao meu avô Vitor, o qual só me resta lembranças e saudades, não há um dia em que eu não pense no senhor.

Agradeço ao meu noivo: Gustavo Salles, que sempre fez questão de estar presente em cada etapa da minha vida. Obrigada por me compreender, me aceitar, dar apoio e me amar. Obrigada por trazer leveza para o nosso ato mais corajoso: viver.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Profa. Dra. Marin, por me aceitar em seu grupo de pesquisa e por toda a confiança depositada em mim. Sua paciência, motivação, conselhos valiosos, sorrisos e comidinhas tornaram esse percurso mais leve e inspirador.

À minha coorientadora, Dra. Letícia Rocha, por ser uma presença fundamental em todo esse processo. A cada conversa aprendo mais com você, sempre me ensinou com sabedoria, carinho e dedicação.

A técnica do laboratório, Adriana (Driiii!). Me ajudou a dar os primeiros passos dentro do laboratório de Mutagênese Ambiental, inteligente, dedicada, parceira, amorosa, engraçada e ótima cozinheira.

Aos meus amigos do laboratório: L. Gigeck (que também me ajudou a dar os primeiros passos), L. Rosa, Julia, Ana Damasceno, Guilherme, Rubens e Yuji. Obrigada por todo o suporte, conhecimento e momentos felizes (os tristes também).

Ao Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro e ao Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA), por fornecerem toda a infraestrutura necessária para a realização deste projeto de mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por fim, gostaria de expressar o meu reconhecimento a todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para esta dissertação.

*“Cada sonho que você deixa para trás, é um
pedaço do seu futuro que deixa de existir”*

- Steve Jobs.

RESUMO

Os cemitérios representam potenciais fontes de contaminação ambiental, em função da disseminação de materiais biológicos (bactérias, fungos e vírus) e liberação de compostos químicos provenientes do processo de decomposição cadavérica e de materiais utilizados no sepultamento. Entre esses resíduos, destaca-se o necrochorume, líquido formado durante a decomposição, que contém aminas biogênicas (como cadaverina e putrescina), metais e diversas substâncias potencialmente tóxicas ao meio ambiente e à saúde pública. Neste estudo, foram avaliados os potenciais citotóxicos e genotóxicos de solubilizados de solos contaminados por necrochorume, obtidos em uma simulação de ambientes de cemitérios, realizada pela inumação de uma carcaça suína (*Sus scrofa domesticus* L.) em estrutura cilíndrica metálica, planejada para este fim. As amostras de solo foram coletadas em quatro períodos (T0: 0 dias; T1: 15 dias; T2: 90 dias; T3: 180 dias, pós-inumação) e em quatro profundidades (P1: superfície; P2: 1,5 m; P3: 1 m; P4: 0,5 m acima da base), sendo submetidas a cinco diluições dos solubilizados de solos (5; 2,5; 2; 1,25; 0,625 µL/mL). Foram avaliados os efeitos citotóxicos (ensaios de MTT, resazurina e azul de trypan) e genotóxicos (ensaio do cometa, versão alcalina) dos solubilizados de solos, utilizando nesta análise a linhagem celular derivada de fígado de *Danio rerio* (ZFL). Os resultados de citotoxicidade demonstraram uma maior sensibilidade para os ensaios MTT, seguido pelos ensaios de resazurina. O ensaio do azul de trypan, mostrou baixa sensibilidade, sugerindo que os compostos tóxicos presentes no necrochorume atuam predominantemente por mecanismos relacionados à disfunção mitocondrial, tendo menor impacto na integridade da membrana celular. A citotoxicidade foi mais pronunciada nos períodos T2 e T3, especialmente nos pontos P2 e P3, associados à percolação vertical do necrochorume. O ensaio do cometa revelou efeito genotóxico em T1, no ponto P2, indicando ação clastogênica de compostos liberados nos estágios iniciais da decomposição cadavérica. Os resultados obtidos no estudo reforçam o potencial tóxico do necrochorume e evidenciam a relevância de monitoramento contínuo em áreas de sepultamento. Além disso, ressaltam a importância de estudos ecotoxicológicos para subsidiar políticas públicas voltadas à gestão ambiental e segurança dos ambientes de cemitérios para a saúde humana, bem como e à proteção dos recursos naturais

Palavras-chaves: Aminas biogênicas; Biomarcadores celulares; Clastogenicidade; Disfunção mitocondrial; Ecotoxicologia; Percolação vertical de necrochorume.

ABSTRACT

Cemeteries represent potential sources of environmental contamination due to the dissemination of biological agents (bacteria, fungi, and viruses) and the release of chemical compounds arising from cadaveric decomposition and burial materials. Among these residues, necroleachate stands out as a liquid byproduct of decomposition that contains biogenic amines (such as cadaverine and putrescine), metals, and a variety of substances potentially hazardous to the environment and public health. In this study, the cytotoxic and genotoxic potentials of soil extracts contaminated with necroleachate were investigated using a simulated cemetery environment. The simulation was conducted by burying a swine carcass (*Sus scrofa domesticus* L.) within a specially designed cylindrical metal structure. Soil samples were collected at four different times (T0: 0 days; T1: 15 days; T2: 90 days; T3: 180 days post-inhumation) and at four depths (P1: surface; P2: 1.5 m; P3: 1 m; P4: 0.5 m above the base), and subsequently subjected to five dilutions of the soil extracts (5; 2.5; 2; 1.25; 0.625 $\mu\text{L/mL}$). The cytotoxic effects (MTT, resazurin, and trypan blue assays) and genotoxic effects (comet assay, alkaline version) of the soil eluates were evaluated, using the cell line derived from the liver of *Danio rerio* (ZFL) in this analysis. The cytotoxicity results demonstrated higher sensitivity for the MTT assays, followed by the resazurin assays. The trypan blue assay showed low sensitivity, suggesting that the toxic compounds present in necro-leachate act predominantly through mechanisms related to mitochondrial dysfunction, with a lesser impact on cell membrane integrity. Cytotoxicity was most pronounced during periods T2 and T3, particularly at points P2 and P3, which are associated with the vertical percolation of necroleachate. The comet assay demonstrated a genotoxic effect during T1 at point P2, indicating the clastogenic action of compounds released in the early stages of cadaveric decomposition. The results of this study reinforce the toxic potential of necroleachate and highlight the importance of continuous monitoring in cemeteries. Furthermore, we emphasize the need for ecotoxicological studies to support public policies related to environmental management, as well as the safety of cemetery environments for human health and natural resources.

Keywords: Biogenic amines; Cellular biomarkers; Clastogenicity; Ecotoxicology; Mitochondrial dysfunction; Vertical percolation of necroleachate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Descarboxilação dos aminoácidos lisina e ornitina	25
Figura 2 - Representação das análises realizadas no Software <i>Comet Assay IV</i>	34
Figura 3 - Estrutura cilíndrica de metal usada para a inumação da carcaça suína e coleta dos solos contaminados.....	36
ARTIGO 1	
Figura 1 - Estrutura cilíndrica de metal usada para a inumação da carcaça suína e coleta dos solos contaminados	45
Figura 2 - Resultado do ensaio MTT - T0	51
Figura 3 - Resultado do ensaio MTT - T1	52
Figura 4 - Resultado do ensaio MTT - T2	53
Figura 5 - Resultado do ensaio MTT - T3	54
Figura 6 - Resultado do ensaio de resazurina - T0	55
Figura 7 - Resultado do ensaio de resazurina – T1.....	56
Figura 8 - Resultado do ensaio de resazurina – T2.....	57
Figura 9 - Resultado do ensaio de resazurina – T3.....	58
Figura 10 - Resultados do ensaio do azul de trypan	59
APÊNDICE	
Figura 1 - Índice pluviométrico do município de Rio Claro–SP.....	99

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 - Concentrações utilizadas nos ensaios	47
Tabela 2 - Resultados gerais de testes de citotoxicidade no T1	61
Tabela 3 - Resultados gerais de testes de citotoxicidade no T2.....	62
Tabela 4 - Resultados gerais de testes de citotoxicidade no T3.....	63
Tabela 5 - Resultados gerais de testes de citotoxicidade no T0, T1, T2 e T3.....	64
Tabela 6 - Resultados do ensaio do cometa no T1	66
Tabela 7 - Resultados do ensaio do cometa no T2.....	66
Tabela 8 - Resultados do ensaio do cometa no T3.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CA – Controle Ambiental

CAD – Cadaverina

CN – Controle negativo

Cm - Centímetro

CP – Controle positivo

DMSO – Dimetilsulfóxido

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

g- Gramas

kg - Quilograma

L - Litro

M – Molar

mg - Miligrama

mL - Mililitros

mm - Milímetro

mM - Milimolar

MMS – Metilmetano Sulfonato

MN – Micronúcleo

NBR – Norma Brasileira

nM – Nanômetro

MTT - Brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

pH – Potencial hidrogeniônico

PUT – Putrescina

Tris – Tris(hidroximetil)aminometano

μL – Microlitro

ZFL – Zebrafish line

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS.....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1 Cemitérios como fonte de contaminação ambiental.....	19
3.2 Contexto histórico dos cemitérios	21
3.3 Necrochorume	23
3.4 Aminas biogênicas: cadaverina e putrescina	24
3.5 Decomposição cadavérica	26
3.6 Utilização do porco doméstico como modelo animal	28
3.7 Biomarcadores.....	28
3.8 Ensaio de viabilidade celular	29
3.8.1 Teste da Resazurina	31
3.8.2 Teste do MTT	30
3.8.3 Teste do Azul de Trypan.....	32
3.9 Teste de genotoxicidade	33
3.9.1 Ensaio do cometa alcalino.....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Coleta de solo contaminado com necrochorume de carcaça suína.....	35
4.2 Obtenção de extratos de solubilizado	37
4.3 Bioensaios com linhagem de hepatócitos do peixe <i>Danio rerio</i> (ZFL).....	37
4.4 Ensaio de viabilidade celular/citotoxicidade - Teste da Resazurina.....	37
4.5 Ensaio de viabilidade celular/citotoxicidade - Teste do MTT	38
4.6 Ensaio de viabilidade celular/citotoxicidade - Teste do Azul de Trypan.....	38
4.7 Ensaio do Cometa Alcalino	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	82
7. REFERÊNCIAS	84
APÊNDICE A –SOLUÇÕES PARA MANUTENÇÃO DA LINHAGEM CELULAR ZFL	98
APÊNDICE B – DADOS PLUVIOMÉTRICOS.....	99

1. INTRODUÇÃO

O crescimento acelerado da população humana tem contribuído significativamente para o agravamento de diversos problemas ambientais, entre os quais se destaca a intensificação da geração de resíduos sólidos. Essa problemática configura-se como um dos grandes desafios socioambientais a serem enfrentados no século XXI, sobretudo em função de seu volume crescente e da complexidade associada ao seu manejo e disposição final (LINDAHL; GRACE et al., 2015; FERREIRA; LOFRANO; MORITA, 2020; FERREIRA; LOPES, 2020). Nesse contexto, torna-se imprescindível compreender os efeitos desses resíduos sobre os sistemas biológicos, o que tem motivado a realização de inúmeros estudos voltados à avaliação de sua toxicidade, com ênfase na identificação de impactos adversos à saúde ambiental e humana (LEME; MARIN-MORALES, 2009; HOORNWEG; BHADA-TATA; KENNEDY, 2013; YANG et al., 2017).

Dentre as fontes antrópicas de contaminação ambiental, destacam-se as atividades agrícolas, industriais e urbanas, sendo essas últimas responsáveis por uma ampla gama de contaminantes, incluindo aqueles derivados das atividades de decomposição cadavérica características dos ambientes de cemitérios (CAMPOS, 2007; JONKER; OLIVIER, 2012; NECKEL et al., 2017; CARVALHO, 2019; GONÇALVES et al., 2021). A contaminação associada aos cemitérios se dá, principalmente, por processos putrefativos que se iniciam logo após a morte. Durante o processo putrefativo é liberado um efluente altamente poluente, denominado de necrochorume, composto por uma mistura de substâncias orgânicas e inorgânicas (CARTER; YELLOWLEES; TIBBETT, 2008; OLIVEIRA, 2015; GONÇALVES et al., 2021; MASON et al., 2022), além de uma alta carga de contaminantes biológicos advindos do corpo sepultado (TERRA; PRATTE-SANTOS; FREIRE, 2008; NECKEL et al., 2020; QUINTON et al., 2020).

Durante o processo de decomposição cadavérica, estima-se a liberação de aproximadamente 0,60 litros de necrochorume por quilograma de massa corporal (SILVA, 1998; MACEDO, 2004; CARNEIRO, 2008; ŻYCHOWSKI; BRYNDAL, 2014). Essa liberação contínua e insidiosa de compostos tóxicos oriundos da degradação orgânica representa uma fonte relevante, porém frequentemente negligenciada, de contaminação ambiental associada aos cemitérios (AMORIM; CRUZ, 2014; KEMERICH et al, 2014). Tal contaminação se dá, predominantemente, por percolação vertical, o que dificulta sua visualização direta e contribui para sua caracterização como um processo oculto e de difícil detecção no solo (RODRIGUÉZ-EUGENIO; MCLAUHLIN; PENNOCK, 2018).

O necrochorume, líquido viscoso de coloração marrom acinzentado e odor pungente, apresenta alta carga patogênica e composição complexa, sendo constituído por 60% de água, 30% de sais minerais e 10% de substâncias orgânicas (SILVA, 1998; CAMPOS, 2007). Dentre os seus compostos orgânicos destacam-se as aminas biogênicas cadaverina ($C_5H_{14}N_2$) e putrescina ($C_4H_{12}N_2$) (BUZZATTE, 2009). Essas aminas possuem sítios nucleofílicos que favorecem sua interação com macromoléculas biológicas essenciais, como DNA, proteínas e lipídeos, conferindo-lhes propriedades tóxicas e potencial genotóxico (GIROTO et al., 2010; HUSSAIN et al., 2011; LUENGO; OLIVEIRA, 2020).

As características físico-químicas do necrochorume facilitam sua percolação no solo, permitindo que os contaminantes atinjam áreas significativamente distantes do ponto de origem, inclusive corpos d'água superficiais e subterrâneos. Essa capacidade de transporte amplia os riscos ambientais, uma vez que os compostos orgânicos e inorgânicos da decomposição podem atingir diferentes compartimentos ambientais e comprometer a qualidade dos ecossistemas afetados (COSTA SILVA; FILHO, 2008; SANTOS et al., 2015; FRANCISCO et al., 2017; NECKEL et al., 2017; FRANCO et al., 2022).

A qualidade ambiental pode ser avaliada por meio de diferentes ensaios ecotoxicológicos realizados com bioindicadores, os quais permitem estimar impactos aos sistemas biológicos provocados por diferentes classes de poluentes (ASIF; MALIK; CHAUDHRY, 2017). No caso específico da contaminação por necrochorume, a avaliação experimental pode ser conduzida sob condições simuladas, como pela técnica de inumação de carcaças suínas (*Sus scrofa domesticus L.*), que já vem sendo amplamente empregada nos estudos forenses (NIEDEREGGER et al., 2014; MATUSZEWSKI et al., 2020; DEBRUYN et al., 2021; SHARMA; SHARMA; TANWAR, 2025).

A escolha do suíno como modelo experimental justifica-se por suas semelhanças anatômicas, fisiológicas, metabólicas e alimentares (onivoria) com os seres humanos, bem como pelos padrões comparáveis nos processos de decomposição (CAMPOBASSO et al., 2001; KEOUGH; MYBURGH; STEYN, 2016; SZELECZ et al., 2018; DEBRUYN et al., 2021). Dessa forma, as informações obtidas quanto às características físico-químicas e tóxicas do chorume derivado da decomposição de carcaças suínas podem ser extrapoladas para os possíveis efeitos do necrochorume humano. Essa abordagem representa uma alternativa viável e eticamente aceitável para a investigação de potenciais impactos ecotoxicológicos em ambientes de cemitérios, contribuindo para a melhor compreensão dos riscos ambientais associados à disposição de corpos humanos.

Ensaio realizados com linhagens celulares (sistemas *in vitro*) têm sido amplamente empregados em avaliações de toxicidade de agentes químicos ou de amostras ambientais (POTESER, 2017). Esses bioensaios permitem analisar efeitos específicos, tanto de substâncias químicas isoladas como de composições entre diferentes compostos (FENT, 2007; HUANG et al., 2010; ARORA et al., 2012), pois são conduzidos sob condições controladas que minimizam intercorrências de variáveis ambientais externas. Dentre as linhagens celulares mais utilizadas em estudos toxicológicos estão as derivadas de hepatócitos de vertebrados, devido ao seu papel central no metabolismo de xenobióticos (SEFRIED et al, 2018; KIM et al. 2025). Essas células são especificamente indicadas pela capacidade de metabolizar compostos exógenos, o que possibilita avaliar não apenas os efeitos diretos dos agentes testados, mas também dos efeitos tóxicos potenciais de seus metabólitos (GOMEZ-LECHON et al., 2005; SEFRIED et al, 2018).

Linhagem de hepatócitos do peixe *Danio rerio* (ZFL) tem sido amplamente usada em estudos toxicológicos (COLLODI et al.,1992; GHOSH et al., 1994; EIDE et al., 2014; SOUZA et al. 2023), por possuir o genoma completamente sequenciado, o que possibilita um elevado grau de controle genético nos experimentos. Além disso, cerca de 70% dos seus genes apresentam ortologia com os genes humanos, sendo 84% desses relacionados a doenças humanas (HSU et al, 2007; SCHNEIDER et al., 2009; HOWE; CLARK, 2013; EIDE et al., 2014). Adicionalmente, as células ZFL expressam enzimas características do tecido hepático, como a alanina aminotransferase, aspartato transaminase, fosfatase alcalina e albumina sérica (MIRANDA et al., 1993; GHOSH et al., 1994; HE, 2010), além de propriedades funcionais típicas do parênquima hepático. Essas características tornam essa linhagem um modelo experimental robusto e confiável para a avaliação dos efeitos tóxicos e metabólicos de substâncias químicas em sistemas *in vitro*.

Morozesk et al. (2018) avaliaram a citotoxicidade de nanotubos de carbono de paredes múltiplas, oxidadas com cádmio, sobre as células da linhagem ZFL. O estudo foi feito pelos bioensaios do MTT, vermelho neutro, azul de trypan e a liberação de lactato desidrogenase. Os resultados do estudo demonstraram que essa linhagem celular constitui um modelo eficaz para a avaliação da toxicidade de nanomateriais e de poluentes aquáticos. De forma complementar, Kolosa et al. (2023) também utilizaram a linhagem ZFL para avaliar a genotoxicidade de inibidores de tirosina quinase, detectados em águas residuais e superficiais. Os autores observaram, pelos ensaios do cometa e do micronúcleo (MN), que o modelo celular se mostrou eficiente para avaliar a genotoxicidade do contaminante testado.

O ensaio do cometa, também denominado de eletroforese em gel de célula única, é reconhecido como um biomarcador sensível e confiável de genotoxicidade. Esta técnica permite a detecção tanto de quebras no DNA como de eventos de reparos promovidos por agentes alquilantes, intercalantes e/ou oxidantes (PAVLICA et al., 2001; ANDRADE et al., 2004 e MATSUMOTO et al., 2006). O ensaio se destaca pela sua elevada sensibilidade e versatilidade na identificação de danos ao material genético em nível celular, o que o torna particularmente útil em estudos toxicológicos e de biomonitoramento ambiental (CORDELLI; BIGNAMI; PACCHIEROTTI, 2021).

A identificação precisa de efeitos dos xenobióticos sobre o sistema biológico demanda a utilização de bioensaios que possam ser conduzidos sob diferentes condições experimentais, como variações de concentrações do agente químico, tempos de exposição e aspectos físico-químicos do composto avaliado (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008).

A escassez de informações disponíveis à população sobre os riscos ambientais e sanitários associados aos cemitérios é preocupante, especialmente considerando que esses locais podem representar fontes significativas de contaminação. Diversos estudos indicam que cemitérios se caracterizam como ambientes potencialmente perigosos à saúde humana, não apenas para trabalhadores expostos ocupacionalmente, mas também para visitantes eventuais (KEMERICH et al., 2012; NECKEL et al., 2021).

Somado a essas preocupações, observa-se que grande parte dos cemitérios brasileiros opera sem licenciamento ambiental e em desconformidade com os parâmetros técnicos exigidos pela legislação vigente, sobretudo no que diz respeito à impermeabilização do solo e à adequada gestão dos efluentes gerados (OLIVEIRA, 2015; CARVALHO, 2019). Tal negligência favorece a percolação do necrochorume no solo e sua migração para o lençol freático e para águas superficiais. Diante desta problemática, é imprescindível a realização de estudos sistemáticos e multidisciplinares voltados à caracterização dos contaminantes presentes nesses locais, bem como à avaliação do seu potencial tóxico, contribuição esta que pode auxiliar para a mitigação dos impactos ambientais e fomentar a formulação de políticas públicas mais eficazes de controle e fiscalização.

6. CONCLUSÕES GERAIS

O uso de um sistema de simulação de contaminação de cemitérios, por inumação controlada de uma carcaça suína em um cilindro metálico construído para tal, mostrou ser eficaz para reproduzir os processos característicos da decomposição cadavérica, por permitir a realização de coletas tanto ao longo do tempo como da profundidade. Esse delineamento experimental possibilitou identificar a dispersão vertical dos contaminantes no solo.

O presente estudo demonstrou que o necrochorume (líquido resultante da decomposição cadavérica), constitui uma fonte significativa de contaminação de solos urbanos, por agentes citotóxicos e genotóxicos. Os efeitos observados indicam comprometimento da viabilidade celular por mecanismos, predominantemente, relacionados à disfunção mitocondrial.

Os ensaios do MTT e, em segundo plano o da resazurina, apresentaram maior sensibilidade na detecção da citotoxicidade, sugerindo que a principal via de ação dos contaminantes está associada ao comprometimento da atividade metabólica mitocondrial. Em contrapartida, o ensaio do azul de trypan mostrou-se menos responsivo, indicando que a integridade da membrana plasmática é menos afetada em comparação às funções mitocondriais.

As maiores respostas citotóxicas foram observadas nos períodos T2 (90 dias) e T3 (180 dias), após a inumação, especialmente nos pontos P2 e P3, localizados abaixo da carcaça suína. Esses resultados evidenciam que a percolação vertical do necrochorume pode concentrar contaminantes em camadas intermediárias e profundas, que podem favorecer sua persistência no ambiente e aumentar o risco de atingir o lençol freático.

No que se refere à genotoxicidade, este efeito foi detectado apenas no estágio inicial da decomposição (T1, 15 dias), no ponto P2, sugerindo que compostos liberados no início do processo de decomposição cadavérica apresentam elevada reatividade com o DNA.

Os resultados do estudo reforçam ainda que os cemitérios, enquanto fontes contínuas de contaminação por compostos orgânicos e inorgânicos, representam um risco potencial para a qualidade do solo e da água subterrânea, demandando estratégias específicas de monitoramento e gestão ambiental.

Pela abordagem inédita do estudo (citotoxicidade e genotoxicidade de solos contaminados com necrochorume, em diferentes tempos pós inumação e profundidade), foi possível obter dados relevantes e também inéditos sobre o tipo de toxicidade associada a este tipo de contaminação. Os dados obtidos nesta avaliação contribuirão para a melhor compreensão dos efeitos tóxicos do necrochorume, dados estes que também podem ser extrapolados para a espécie humana, pois foram realizados com um modelo experimental que

apresenta alta similaridade nas etapas de decomposição cadavérica (porco doméstico), por isso amplamente utilizados na área forense.

Adicionalmente, os ensaios *in vitro*, também foram realizados com linhagem celular de zebrafish (ZFL), bioindicador este que possui uma alta ortologia genética com humanos, o que reforça a possibilidade da extrapolação dos dados para efeitos também em humanos. Os resultados obtidos indicam a necessidade de considerar tanto a citotoxicidade quanto a genotoxicidade em protocolos regulatórios, aplicados em áreas cemiteriais.

Além da contribuição científica, a metodologia adotada, que envolveu simulação de inumação, coleta estratificada do solo e análises por múltiplos ensaios, apresenta-se como um modelo promissor para futuras investigações ecotoxicológicas de solos contaminados.

Dada a complexidade química do necrochorume e suas interações com a matriz do solo, recomenda-se a continuidade de estudos voltados à identificação dos compostos mais reativos do necrochorume, à avaliação de outros *endpoints* de genotoxicidade e a continuidade do monitoramento de sua persistência ambiental. Tais avanços podem subsidiar medidas preventivas e corretivas que reduzam riscos de contaminação ambiental e assegurem a proteção da saúde humana e da biodiversidade.

7. REFERÊNCIAS

- ADAMS, S. M. Status and use of bioindicators for evaluating effects of chronic stress on fish. **American Fisheries Society Symposium**, v.8, p.1-8, 1990.
- ADAN, A.; YAĞMUR K.; BARAN, Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 17, n. 14, p. 1213–1221, 2016.
- ALCÂNTARA, L. A. *et al.* Contaminação de recursos naturais por necrópoles. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, v. 11, n. 1, p. 17–28, 2010.
- ALCANTARA, L. A.; SANTOS, S.A.; KEMERICH, P.D.; SILVA, R. F. Contaminação de recursos naturais por necrópoles. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas**, S. Maria, v. 11, n. 1, p. 17-28, 2010.
- ALMEIDA, A. M., MACEDO, J. A. B. **Parâmetros Físico-Químicos de Caracterização de Contaminação do Lençol Freático por Necrochorume**. In: seminário de gestão ambiental- um convite a interdisciplinaridade, 1, Juiz de Fora. Instituto Vianna Júnior, 2005.
- ALMEIDA, A.M. Parâmetros físico-químicos de caracterização de contaminação do lençol freático por necrochorume. **Seminário de Gestão Ambiental - Um convite a interdisciplinaridade**, 2005.
- ALMEIDA, C. F. *et al.* Necrochorume: impacto ambiental e à saúde pública. **Scire Salutis**, v. 12, n. 3, p.7-15, 2022.
- ANDRADE, M. G. S. *et al.* Micronúcleo: Um importante marcador biológico intermediário na prevenção do câncer bucal. **RevOdonto Ciência**. Porto Alegre, v. 20, n. 48, p. 137-141, 2005.
- ANDRADE, V. M.; FREITAS, T. R. O.; SILVA, J., Comet assay using mullet (*Mugil sp.*) and sea catfish (*Netuma sp.*) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. **Mutation Research**, v.560, p.57–67, 2004.
- ARORA, S.; RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 258, n. 2, p. 151–165, 2012.
- ASIF, N.; MALIK, M.; CHAUDHRY, F. N. A review of on environmental pollution bioindicators. **Pollution**, v. 4, n. 1, p. 111-118, 2017.
- AUGUSTA, M. **Teste cometa**: validação do método e avaliação da exposição ocupacional ao benzeno presente na gasolina através dos biomarcadores de exposição e genotoxicidade, 2018.
- AVELAR-FREITAS, B. A., *et al.* Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2014.
- AZQUETA, A.; COLLINS, A. R. The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. **Archives of Toxicology**, v. 87, n. 6, p. 949–968, 2013.
- BACIGALUPO, R. **Cemitérios**: fontes potenciais de impactos ambientais. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010.
- BAINY, A.C.D. How to evaluate the safety chemical substances in aquatic environments. **Ciência e Cultura**, n. 45, p.10 –11, 1993.
- BARUA, P. *et al.* A rapid and miniaturized system using Alamar blue to assess fungal spore viability: implications for biosecurity. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 1, p. 139–150, 2016.

BAUM, C. A. *et al.* Contamination of groundwater by necro-leachate and the influence of the intervening factors in cemeteries of the municipality of Lages – Brazil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 27, n. 4, p. 683–692, 2022.

BEKEBREDE, A. F. *et al.* The molecular and physiological effects of protein-derived polyamines in the intestine. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 197, 2020.

BELK, A. D.; DEEL, H. L.; BURCHAM, Z. M.; KNIGHT, R.; CARTER, D. O.; METCALF, J. L. Animal models for understanding microbial decomposition of human remains. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 28, p. 117-125, 2019.

BENNINGER, L. A.; CARTER, D. O.; FORBES, S. L. The biochemical alteration of soil beneath a decomposing carcass. **Forensic science international**, v. 180, n. 2-3, p. 70–75, 2008.

BETIATTO, A. C.; SOUZA, F. X. D.; BINI, M. C. A morte, a atividade cemiterial e o meio ambiente. **Gepesvida**, v. 1, n. 2, p. 121-141, 2015.

BHARTI, M.; SINGH, D. Insect faunal succession on decaying rabbit carcasses in Punjab, India. **Journal of forensic sciences**, v. 48, n. 5, 2024.

BIANCHI, J.; CABRAL-DE-MELLO, D. C.; MARIN-MORALES, M. A. Toxicogenetic effects of low concentrations of the pesticides imidacloprid and sulfentrazone individually and in combination in in vitro tests with HepG2 cells and Salmonella typhimurium. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 120, p. 174-183, 2015.

BONASSI, S. *et al.* An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 3, p. 625-631, 2007.

BORN, C. M. Avaliação dos aspectos construtivos e vulnerabilidade das águas subterrâneas em áreas de cemitérios municipais de Curitiba (Paraná) Constructive aspects and vulnerability of groundwater in municipal cemeteries areas in Curitiba (Paraná). **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, 2014.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 335, de 3 de abril de 2003. Dispõe sobre o licenciamento ambiental de cemitérios.

BROOKS, J. W. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the post-mortem interval. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 5, p. 929-940, 2016.

BUSTIN, S. A. *et al.* **The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments.** 2009.

BUSTIN, S.; NOLAN, T. Talking the talk, but not walking the walk: RT-qPCR as a paradigm for the lack of reproducibility in molecular research. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 10, p. 756–774, 2017.

BUZZATTE, J. D. **Aspectos socioeconômicos e jurídicos quanto à perfuração de poços tubulares na cidade de Santa Maria frente ao tesouro subterrâneo armazenado: o Aquífero Guarani.** 2009. 109 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Direito Ambiental) - Faculdade de Direito de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

BYTH, H. *et al.* Assessment of a simple, non-toxic alamar blue cell survival assay to monitor tomato cell viability. **Phytochemical Analysis**, v. 12, n. 5, p. 340–346, 2001.

CAMPOBASSO, C. P.; VELLA, G.; DONNO, A. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1-2, p. 18–27, 2001.

CAMPOS, A. P. S. **Avaliação do potencial de poluição no solo e nas águas**

- CAMPOS, A. P. S. **Avaliação do potencial de poluição no solo e nas águas subterrâneas decorrente da atividade cemiterial**. 2007. 141f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- CAPUTO, R. F. O Homem e suas Representações Sobre a Morte e o Morrer: Um Percorso Histórico. **Saber Acadêmico: Revista Multidisciplinar da UNIESP**, n.06, p.73-80, 2008.
- CARITA, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, Oxford, v. 72, n.5, p.722-725, 2008.
- CARNEIRO, V.S. **Impactos causados por necrochorume de cemitérios: Meio ambiente e saúde pública**. XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, p. 2-15, 2008.
- CARTER, D. O.; YELLOWLEES, D.; TIBBETT, M. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. **Naturwissenschaften**, v. 94, n. 1, p. 12–24, 2006.
- CARTER, D.; YELLOWLEES, D.; TIBBETT, M. Temperature affects microbial decomposition of cadavers (*Rattus rattus*) in contrasting soils. **Applied Soil Ecology**, v. 40, n. 1, p. 129–137, 2008.
- CARTER, D.; YELLOWLEES, D.; TIBBETT, M. Temperature affects microbial decomposition of cadavers (*Rattus rattus*) in contrasting soils. **Applied Soil Ecology**, v. 40, n. 1, p. 129–137, 2008.
- CARTER, D.; YELLOWLEES, D.; TIBBETT, M. Temperature affects microbial decomposition of cadavers (*Rattus rattus*) in contrasting soils. **Applied Soil Ecology**, v. 40, n. 1, p. 129–137, 2008.
- CARVALHO, L. A. P. F. B. **Necrochorume: aspectos da mobilidade e da mitigação dos impactos**, 43 f. Monografia (Trabalho de Final de Curso) - Faculdade de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora- MG, 2019.
- CARVALHO, L. A. P. F. B. **Necrochorume: aspectos da mobilidade e da mitigação dos impactos**, 43 f. Monografia (Trabalho de Final de Curso) - Faculdade de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora- MG, 2019.
- CASTRO, D. L. Caracterização geofísica e hidrogeológica do cemitério Bom Jardim, Fortaleza – CE. **Revista Brasileira de Geofísica**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, p. 251-271, 2008.
- CAUDURO, F.; MÜLLER, C. R.; RICARDO, G. DA S. Problem of brazilian cemeteries and environment – review of studies. **Holos Environment**, v. 19, p. 1–30, 2019.
- ÇAVAS, T. C.; KONEN, S. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. **Mutagenesis**, v. 22, n. 4, p. 263-268, 2007.
- CECCONELLO, S. T.; CENTENO, L. N.; SIQUEIRA, T. M. As Necrópoles E Seus Impactos Ambientais: Um Estudo De Caso Do Cemitério São Lucas, Pelotas/Rs. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**. 2020.
- CHANGO, A. *et al.* Time course gene expression in the one-carbon metabolism network using HepG2 cell line grown in folate-deficient medium. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 20, n. 4, p. 312-320, 2009.
- CHENG, W.; SUN, D. W.; CHENG, J. H. Pork biogenic amine index (BAI) determination based on chemometric analysis of hyperspectral imaging data. **Lwt**, v. 73, p. 13–19, 2016.

CLARK, M.A.; WORRELL, M.B.; PLESS, J.E. **Postmortem Changes in Soft Tissues**. In: Haglund, W.D. and Sorg, M.H., Eds., *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, CRC Press, Boca Raton, p. 156-164, 1997.

COLLINS, A. *et al.* Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. **Nature Protocols**, v. 18, n. 3, p. 929–989, 2023.

CORDELLI, E.; BIGNAMI, M.; PACCHIEROTTI, F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. **Toxicology Research**, v. 10, n. 1, p. 68–78, 2021.

CORONAS, M.V.; Horn, R.C.; Ducatti, A.; Rocha, J.A.V.; Vargas, V.M.F. Mutagenic activity of airborne particulate matter in petrochemical industrial area. **Mutagenesis Reserach**. v. 650, p. 196–201, 2008.

COSTA SILVA, R. W. C.; FILHO, W. M. Cemitérios como Áreas Potencialmente Contaminadas. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**. Rio Claro, v. 9, n. 9, p. 26–35, 2008.

CROWLEY, L.C *et al.* Measuring Cell Death by Trypan Blue Uptake and Light

DAGUANO, J. K. M. F.; SANTOS, C.; ROGERO, S. O. Avaliação da citotoxicidade de biocerâmicas desenvolvidas para uso em sistemas de implantes. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 12, n. 1, p. 134–139, 2007.

DAVID, J. A. O. **Estudo de *Mytella 127ollusc (127ollusca, bivalvia)* como indicadora de efeitos genotóxicos e citotóxicos no estuário de santos, SP**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências do campus de Rio Claro. 2007.

DAVIS, R.A.H. **Aspectos proteômicos e determinação de elementos-traço em bÍlis de peixe: potencial marcador biológico de exposição ambiental?**. PUC-RJ, Rio de Janeiro, 2012.

DEBRUYN, J. M. *et al.* Comparative Decomposition of Humans and Pigs: Soil Biogeochemistry, Microbial Activity and Metabolomic Profiles. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2021.

DECKER, T.; LOHMANN-MATTHES, M. L. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. **Journal of Immunological Methods**, v. 115, n. 1, p. 61–69, 1988.

EASTMOND, D. A. *et al.* Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/IPCS Harmonized Scheme. **Mutagenesis**, v. 24, n. 4, p. 341–349, 2009.

EIDE, M.; RUSTEN, M.; MALE, R.; JENSEN, K. H. M.; GOKSØYR, A. A characterization of the ZFL cell line and primary hepatocytes as in vitro liver cell models for the zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 147, p. 7–17, 2014.

Environmental damage and public health threat caused by cemeteries: a proposal of ideal cemeteries for the growing urban sprawl. **Revista Brasileira de Gestão Urbana**, v. 9, n. 2, p. 216-230, 2017.

EVANS, H. JOHN. Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleus test: a personal view. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 392, n. 1-2, p. 5–10, 1997.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084–1104, 2007.

- FENECH, M. *et al.* The Human MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 428, n. 1-2, p. 271–283, 1999.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, p. 81- 95, 2000.
- FENT, K. Permanent fish cell cultures as important tools in ecotoxicology. **ALTEX**, v. 24, p. 26–28, 2007.
- FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, 2006.
- FERREIRA, M.C.; LOPES, J. F. O Crescimento Populacional e os Impactos Ambientais. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 5, ed. 6, v. 2, p. 188-195, 2020.
- FERREIRA, R. M.; LOFRANO, F. C.; MORITA, D. M. Remediação de áreas contaminadas: uma avaliação crítica da legislação brasileira. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 25, n. 1, p. 115–125, 2020.
- FIEDLER, S. *et al.* Graveyards—special landfills. **Science of the Total Environment**, v. 419, p. 90-97, 2012.
- FOTAKIS, G.; TIMBRELL, J. A. In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. **Toxicology Letters**, v. 160, n. 2, p. 171–177, 2006.
- FOTHERGILL, J. C.; GUEST, J.R. Catabolism of L-Lysine by *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology**. v. 99, p. 39-155, 1977.
- FRANCISCO, A. M. *et al.* Tratamento do necrochorume em cemitérios. **Atas de Saúde Ambiental**, São Paulo, p. 172-188, 2017.
- FRANCO, D. S. P.; GEORGIN, J.; CAMPO, L. A. V.; MAYORAL, M.A.; GOENAGA, J. O.; FRUTO, C. M.; NECKEL, A.; OLIVEIRA, M. L.; RAMOS, C. G. The environmental pollution caused by cemeteries and cremations: a review. **Chemosphere**, v. 307, pt. 4, 2022. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136025.
- FRENZILLIA, G.; SCARCELLI, V.; BARGA, I. D.; NIGRO, M.; FÖRLIN, L.; BOLOGNESI, C.; STURVE, J. DNA damage in eelpout (*Zoarces viviparus*) from Göteborg harbour. **Mutation Research**, v. 552, p. 187–195, 2004.
- FRESHNEY, R. I. **Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique**. 7. ed. Wiley-Blackwell, 2015.
- GAGLIANO, J.; PEREIRA, E.; TELES, S. **Resíduos de cemitérios: um problema emergente**. In: XV Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. 2011.
- GAJSKI, G. *et al.* Genotoxic potential of selected cytostatic drugs in human and zebrafish cells. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 15, p. 14739-14750, 2016.
- GALLOWAY, A. **The Process of Decomposition: A Model from the Arizona-Sonoran Desert**. 1997.

- GERNER, E. W.; MEYSKENS, F. L. JR. Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. **Nat Ver Cancer, Arizona**, v. 4, n. 10, p. 781-92, 2004.
- GHOSH, C.; ZHOU, Y. L.; COLLODI, P. Derivation and characterization of a zebrafish liver cell line. **Cell Biology and Toxicology**, v. 10, n. 3, p. 167–176, 1994.
- GIACOIA, J. O.; **A visão da morte ao longo do tempo**. Medicina (Ribeirão Preto), v. 38, n.1, p.13-19, 2005.
- GIROTO, J. M.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C. Biogenic amines in sausages and other foods. **Braz J Food Technol**, v. 13, n.1, p. 1-10, 2010.
- GOFF, M. L. Early postmortem changes and stages of decomposition. **Current concepts in forensic entomology**, p. 1-24, 2010.
- GOMEZ-LECHON, M. J. et al. Human hepatocytes in primary culture: the choice to investigate drug metabolism in man. **Current drug metabolism**, v. 5, n. 5, p. 443-462, 2004.
- GONÇALVES, L. R. *et al.* Another casualty of the SARS-CoV-2 pandemic—the environmental impact. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 2, p. 1696–1711, 2022.
- GONÇALVES, L. R. *et al.* Another casualty of the SARS-CoV-2 pandemic—the environmental impact. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-16, 2021.
- GONÇALVES, L. R. et al. Another casualty of the SARS-CoV-2 pandemic—the environmental impact. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-16, 2021.
- GONÇALVES, L. S. D. **Teste de Ames**: contributo para o estudo da genotoxicidade das águas. Mestrado em Biologia Humana e Ambiente – Universidade de Lisboa, 2016.
- GONZALEZ, R. J.; TARLOFF, J. B. Evaluation of hepatic subcellular fractions for Alamar blue and MTT reductase activity. **Toxicol In Vitro**, v. 15, p. 257–9, 2001.
- GURAFI, L.M.A.; MOHAMED E. A. R. **Decomposition and arthropod Succession on two monkeys (cercopithecus aethiopicus)**. 2012.
- HARTMANN, A. *et al.* Use of the alkaline in vivo Comet assay for mechanistic genotoxicity investigations. **Mutagenesis**, v. 19, n. 1, p. 51–59, 2004.
- HAU, T. C. et al. Decomposition process and post mortem changes. **Sains Malaysiana**, v. 12, p. 1873-1882, 2014.
- HE, S. **Cancer and inflammation studies using zebrafish cells**. Doctoral thesis, Leiden University. 2010.
- health: an overview. **Water and Environment Journal**, v. 27, n. 1, p. 99–106, 2012.
- HEATHER, M.; WALLACE, A.; FRASER, V. HUGHES, A. A perspective of polyamine metabolism. **Biochem. J.**, v. 376, p. 1–14, 2003.
- HOORNWEG, D.; BHADA-TATA, P.; KENNEDY, C. Environment: Waste production must peak this century. **Nature**, v. 502, p. 615-617, 2013.
- HOWE, K.; CLARK. D. M. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, Grã-Bretanha, v. 496, p. 498-502, 2013.
- HSIEH, K. *et al.* Simple and Precise Counting of Viable Bacteria by Resazurin-Amplified Picoarray Detection. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 15, p. 9449–9456, 2018.

- HSU, C.-H., WEN, Z.-H., LIN, C.-S., & CHAKRABORTY, C. The Zebrafish Model: Use in Studying Cellular Mechanisms for a Spectrum of Clinical Disease Entities. **Current Neurovascular Research**, 4(2), 111–120. . (2007). doi:10.2174/156720207780637234.
- HUANG, Y.-W.; WU, C.; ARONSTAM, R. S. Toxicity of Transition Metal Oxide Nanoparticles: Recent Insights from in vitro Studies. **Materials**, v. 3, n. 10, p. 4842– 4859, 2010.
- HUSSAIN, S. S. et al. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 3, p. 300-311, 2011.
- JIAN LIN CHEN; TERRY; STUCKEY, D. C. Metabolic reduction of resazurin; location within the cell for cytotoxicity assays. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 115, n. 2, p. 351–358, 2017.
- JONKER, C.; OLIVIER, J. Mineral contamination from cemetery soils: case study of Zandfontein Cemetery, South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Florida, n. 9, p. 511-520, 2012.
- JÓZEF, Ž.; TOMASZ, B. Impact of cemeteries on groundwater contamination by bacteria and viruses – a review. **Journal of Water and Health**, v. 13, n. 2, p. 285–301, 2014.
- KARLSSON, H. L. The comet assay in nanotoxicology research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 2, p. 651–666, 2010.
- KASHINA, E.; AHOLA, M.; MANNERMAA, K. Ninety years after: New analyses and interpretations of Kubenino hunter-gatherer burials, north-western Russia (c. 5000 cal BC). **Quaternary International**, v. 574, p. 78–90, 2021.
- KEMERICH, P. D. C.; BIANCHINI, D. C.; FANK, J. C.; BORBA, W. F.; WEBER, D. P.; UCKER, F. E. A questão ambiental envolvendo os cemitérios no Brasil. **Revista Monografias Ambientais**, v. 13, n. 4, p. 3777–3785, 2014.
- KEOUGH, N.; MYBURGH, J.; STEYN, M. Scoring of Decomposition: A Proposed Amendment to the Method When Using a Pig Model for Human Studies. **Journal of Forensic Sciences**, v. 62, n. 4, p. 986–993, 2016.
- KIM, Y.; KIM, H.; KIM, Y. Advancing hepatotoxicity assessment: current advances and future directions. **Toxicological Research**, v. 41, n. 4, p. 303–323, 2025.
- KIRSCH-VOLDERS, M. *et al.* Report from the in vitro micronucleus assay working group. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 540, n. 2, p. 153-163, 2003.
- KOLOŠA, K. et al. Adverse Toxic Effects of Tyrosine Kinase Inhibitors on Non-Target Zebrafish Liver (ZFL) Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3894, 2023.
- KOMAR, D. **Forensic taphonomy in a cold climate region: a field study in central Alberta and a potential new method of determining time since death.** University of Alberta. Department of Anthropology, 1999.
- KONSTANTIN, P. *et al.* Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. **Methods in molecular biology**, p. 1–17, 2017.

- LEE, R. F.; STEINERT, S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 544, n. 1, p. 43-64, 2003.
- LELI, I. T. *et al.* Estudos ambientais para cemitérios: indicadores, áreas de influência e impactos ambientais. **Boletim de Geografia**, v. 30, n. 1, 2012.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p. 71-81, 2009.
- LI, W.; ZHOU, J.; XU, Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical Reports**, v. 3, n. 5, p. 617–620, 2015.
- LINDAHL, J. F.; GRACE, D. The consequences of human actions on risks for infectious diseases: a review. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2015.
- LOBO, A. M. B. O.; LOBO, R. N. B. Considerações Estatísticas na Análise de Dados de Expressão gênica Gerados pela Técnica de RT-qPCR. **Embrapa Caprinos e Ovinos Documentos (INFOTECA-E)**, Sobral, 2014.
- LOPES, J. L. **Cemitério e seus impactos ambientais - Estudo de caso: Cemitério Municipal do Distrito de Catuçaba/SP, Trabalho de Conclusão de Curso, Centro Universitário SENAC, São Paulo, 2000.**
- LOPES, M. P. **Avaliação do dano ao DNA pelo ensaio cometa e análise dos pontos de variação dos genes CYP2E1, CYP1A1 e OGG1 em etilistas do município de Goiânia-GO.** 2018. 84 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.
- LOPES, S. F. T. **Forensic entomology: DNA barcoding for Coleoptera identification.** Tese de mestrado (Biologia Humana e Ambiente). Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, 2012.
- LUENGO, J. M.; OLIVERA, E. R. Catabolism of biogenic amines in Pseudomonas species. **Environmental microbiology**, v. 22, n. 4, p. 1174-1192, 2020.
- MACEDO, J. A. B. **Parâmetros físico-químicos de caracterização da contaminação do lençol freático por necrochorume.** Juiz de Fora, Instituto Vianna Júnior, 2004.
- MACGREGOR, J. T. *et al.* Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation research**, v. 189, n. 2, p. 103–112, 1987.
- MADORRAN, E. *et al.* An Overview of the Current State of Cell Viability Assessment Methods Using OECD Classification. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 1, p. 220–220, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26010220>.
- MAGNANI, E.; BETTINI, E. Resazurin detection of energy metabolism changes in serum-starved PC12 cells and of neuroprotective agent effect. **Brain Research Protocols**, v. 5, n. 3, p. 266-272, 2000.
- MARQUES, A. M. A. **Entomologia Forense: Análise da Entomofauna em Cadáver de Susscrofa (Linnaeus), na região de Oeiras, Portugal.** 2008. 66 f.. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) –Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2008.
- MARTINS, R. F. *et al.* Análise bibliométrica sobre efluentes cadavéricos como fonte potencialmente poluidora do meio ambiente. **Revista Caribeña de Ciencias Sociales**, v. 12, n. 6, p. 2829–2855, 2023.

- MARTINS, R. F.; RIGOLIN, L. C.; SHIMANO, M. M.; DANTAS, S. C.; SILVA, P. P. Análise bibliométrica sobre efluentes cadavéricos como fonte potencialmente poluidora do meio ambiente. **Revista Caribeña de Ciencias Sociales**, v. 12, n. 6, p. 2829–2855, 2023.
- MASON, A. R. *et al.* Body Mass Index (BMI) Impacts Soil Chemical and Microbial Response to Human Decomposition. **MSphere**, v. 7, 2022.
- MASON, A. R. *et al.* Body Mass Index (BMI) Impacts Soil Chemical and Microbial Response to Human Decomposition. **MSphere**, v. 7, 2022.
- MATSUMOTO, S. T. *et al.* Assessment of the genotoxic and mutagenic effect of chromium residues present in tannery effluents using the micronucleus and comet assay in *Oreochromis niloticus* and chromosomes aberrations in of *Allium cepa*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.
- MATUSZEWSKI, S. *et al.* Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. **Forensic science international**, v. 194, n. 1-3, p. 85-93, 2010.
- MATUSZEWSKI, S. *et al.* Pigs vs people: the use of pigs as analogues for humans in forensic entomology and taphonomy research. **International Journal of Legal Medicine**, v. 134, n. 2, p. 793–810, 2019.
- MAZZEO, D. E. C. *et al.* Application of micronucleus test and comet assay to evaluate BTEX biodegradation. **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1030-1036, 2013.
- MCKELVEY-MARTIN, V. J. *et al.* The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. **Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.** 288,47–63, 1993.
- MEERLOO, J. Van; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Cell sensitivity assay: The MTT Assay. **Methods Mol Biol.**, v. 731, n. 3, p. 237–245, 2011. Microscopy. **Cold Spring Harb Protoc.** Queensland, 2016.
- MIRANDA, C. L.; COLLODI, P.; ZHAO, X.; BARNES, D. W.; BUHLER, D. R. Regulation of cytochrome P450 expression in a novel liver cell line from zebrafish (*Brachydanio rerio*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 305, n. 2, p. 320–327, 1992.
- MISE, K. M.; ALMEIDA, L. M.; MOURA, M. O. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 51, n. 3, p. 358–368, 2007.
- MOINARD, C.; CYNOBER, L.; BANDT, J.P. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 97-184, 2005.
- MOROZESKA, M. *et al.* Interactions of oxidized multiwalled carbon nanotube with cadmium on zebrafish cell line: The influence of two co-exposure protocols on in vitro toxicity tests. **Aquatic Toxicology**, v. 200, p. 136–147, 2018.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- MYBURGH, J. *et al.* Estimating the postmortem interval (PMI) using accumulated degree-days (ADD) in a temperate region of South Africa. **Forensic Science International**, v. 229, n. 1-3, p. 165, 2013.
- NECKEL, A. *et al.* Hazardous elements in the soil of urban cemeteries; constructive solutions aimed at sustainability. **Chemosphere**, v. 262, 2021.

- NECKEL, A.; COSTA, C.; MARIO, D. N.; SABADIN, C. E. S.; BODAH, E. T.
- NECKEL, A.; KORCELSKI, C.; KUJAWA, H. A.; SCHAEFER DA SILVA, I.; PREZOTO, F.; WALKER AMORIN, A. L.; MACULAN, L. S.; GONÇALVES, A. C.; BODAH, E. T.; BODAH, B. W.; DOTTO, G. L.; SILVA, L. F. O. Hazardous elements in the soil of urban cemeteries; constructive solutions aimed at sustainability. **Chemosphere**, v. 262, p. 1-13, 2020.
- NETO, J. A. F.; JÚNIOR, I. M. P.; SILVA, G. S. D. **Necrochorume**: conceitos, leis e influências. *Ciências exatas e tecnológicas, Alagoas*, v. 5, p. 141-158, 2019.
- NIEDEREGGER, S. et al. Case report: Time of death estimation of a buried body by modeling a decomposition matrix for a pig carcass. **Legal Medicine**, v. 17, n. 1, p. 34–38, 2014.
- O'BRIEN, J. *et al.* Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5421-5426, 2000.
- OCAMPO, I. Z. *et al.* In vitro cytotoxic and genotoxic evaluation of peptides used in nuclear medicine (DOTATATE and Ubiquicidin29-41) in CHO-K1 cells. **Cytotechnology**, v. 68, n. 6, p. 2301–2310, 2016.
- OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. **Nature Protocols**, v. 1, n. 1, p. 23–29, 2006.
- OLIVEIRA, B. *et al.* Burial grounds' impact on groundwater and public
- OLIVEIRA, F. G.; BALDAN, L. T. **Fundamentos de Ecotoxicologia**: Princípios e aplicações. Palotina: UFPR, p. 13, 2022.
- OLIVEIRA, K. F. **Cemitérios como fonte potencialmente poluidoras**, 42f. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental em Municípios) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.
- OLIVEIRA, K. F. **Cemitérios como fonte potencialmente poluidoras**, 42f. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental em Municípios) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.
- OLIVEIRA, R. M. **Citoesqueleto e alterações nucleares em células tumorais: Uma abordagem tridimensional ao microscópio confocal**. 2000. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências/Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2000.
- OSTLING, O.; JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 123, n. 1, p. 291-298, 1984.
- PACHECO, A. **Meio Ambiente e cemitérios**. São Paulo. Editora Senac São Paulo, 2012.
- PACHECO, A.; MATOS, B. A. Cemitérios e meio ambiente. **Revista Tecnologias do Ambiente**. Lisboa, ano 7, n. 33, p. 13-15, 2000.
- PAKOSH, C. M.; ROGERS, T. L. Soft Tissue Decomposition of Submerged, Dismembered Pig Limbs Enclosed in Plastic Bags. **Journal of Forensic Sciences**, v. 54, n. 6, p. 1223–1228, 2009.
- PAVLICA, M. *et al.* Detection of DNA damage in haemocytes of zebra mussel using comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 490, n. 2, p. 209-214, 2001.

- PAYNE, J. A. A summer carrion study of the baby pig *sus scrofa Linnaeus*. **Ecology**, v. 46, n. 5, p. 592-602, 1965.
- PECHAL, J. L. et al. Delayed insect access alters carrion decomposition and necrophagous insect community assembly. **Ecosphere**, v. 5, n. 4, p. 1-21, 2014.
- PEDROSA, F. A. C. Entre túmulos, anjos e capelas: história e historiografia dos cemitérios brasileiros. **Revista Eletrônica Trilhas da História**, v. 12, n. 24, p. 279–307, 2023.
- PEGG, A. E. Toxicity of polyamines and their metabolic products. **Chemical research intoxicology**, v. 26, n. 12, p. 1782-1800, 2013.
- PEREIRA, D. C. **Estudo dos efeitos biológicos da poliamina putrescina em diferentes organismos-teste**. Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Rio Claro - SP, p. 165. 2017.
- PERROT, S. *et al.* A new nondestructive cytometric assay based on resazurin metabolism and an organ culture model for the assessment of corneal viability. **Cytometry**, Part A, v. 55^a, p. 7–14, 2003.
- PETRUSKI, M. R. A cidade dos mortos no mundo dos vivos - Os cemitérios. **Revista de História Regional**, v. 11, n. 2, 2007.
- PINHEIRO, J.; CUNHA, E. **Forensic Investigation of Corpses in Various States of Decomposition**. 2006.
- PINHEIRO, T. M. D. Contaminação ambiental causada pelo necrochorume proveniente de cemitérios. **INOVAE**, São Paulo, v. 6, p. 145-171, 2018.
- POTESER, M. Cell-based in vitro models in environmental toxicology: a review. **Biomonitoring**, v. 4, n. 1, 2017.
- PRÄBST, K. *et al.* Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. **Methods in molecular biology**, p. 1–17, 2017.
- PRIETO, J. et al. Interpretation of postmortem change in cadavers in Spain. **Journal of forensic sciences**, v. 49, n. 5, 2004.
- PROBST, C.; GETHMANN, J.; LUTZ, L.; TEIFKE, J. P.; CONRATHS, F. J. Estimating the postmortem interval of wild boar carcasses. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 6, p. 1-22, 2020.
- QUINTON, J. M.; ÖSTBERG, J.; DUINKER, P. N. The influence of cemetery Governance on tree management in urban cemeteries: A case study of Halifax, Canada and Malmö, Sweden. **Landscape and Urban Planning**, v. 194, 2020.
- RACUSEN, L. C. *et al.* The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. **Kidney International**, v. 55, n. 2, p. 713–723, 1 fev. 1999.
- RACUSEN, L.C., *et al.* The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. **Kidney Int**. 1999.
- READER, S. J. **A Vital Dye Release Method for Assessing the Short-term Cytotoxic Effects of Chemicals and Formulations** - Sandra J. Reader, Verity Blackwell, Richard O’Hara, Richard H. Clothier, Gilly Griffin, Michael Balls, 1989.
- RENDU, W. et al. Evidence supporting an intentional Neandertal burial at la Chapelle-aux-Saints. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 1, p. 81–86, 2014.

- REPETTO, G.; DEL PESO, A.; ZURITA, J. L. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. **Nature Protocols**, v. 3, n. 7, p. 1125–1131, jun. 2008.
- REZENDE, N. *et al.* Standardization of a resazurin-based assay for the evaluation of metabolic activity in oral squamous carcinoma and glioblastoma cells. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 26, p. 371–374, 2019.
- RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. 1 ed. Brasil: ULBRA, p. 355, 2003.
- RISS, T. L. *et al.* Cell Viability Assays. In: **Assay Guidance Manual**. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>. Acesso em: 5 jun. 2025.
- RODRIGUES DE SOUZA, I. *et al.* Cytotoxicity Assays with Zebrafish Cell Lines. **Journal of Visualized Experiments**, n. 191, 2023.
- RODRÍGUEZ, E. N.; MCLAUGHLIN, M.; PENNOCK, D. Soil Pollution: a hidden reality. Rome: **FAO**, 2018.
- ROMÉO, M. GIAMBÉRINI, L. History of biomarkers. **Ecological Biomarkers, Indicators of Ecotoxicological Effects**. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton London, New York, 2013.
- RYAN, P. B. *et al.* Using Biomarkers to Inform Cumulative Risk Assessment. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 5, p. 833–840, 2007.
- SABA, E. D. *et al.* Evaluating the impact of a cemetery on groundwater by multivariate analysis. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 2, 2023.
- SANTOS, A. G. S.; MORAES, L. R. S.; NASCIMENTO, S. A. M. Qualidade da água subterrânea e necrochorume no entorno do cemitério do Campo Santo em Salvador-BA, Brasil. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, v. 3, n. 1, p. 39-60, 2015.
- SANTOS, F. R. N.; LIMA, J. J. S. **Uma abordagem historiográfica das práticas de sepultamento entre os séculos XVIII a XIX: estudo de caso da igreja de Mazagão Velho**. In: III Encontro de Discentes, 2017, Macapá. Anais do III E A CASE STUDY IN TANGARÁ DA SERRA - Encontro de Discentes de História da UNIFAP, 2017.
- SARAIVA, F. A. **Avaliação de métodos geofísicos no comportamento espacial de plumas de necrochorume**. Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 137, 2010.
- SCHLENK, D. Necessity of defining biomarkers for use in ecological riskassessments. **Marine Pollution Bulletin**, v.39, p.48-53, 1999.
- SCHULTZ, D. C. A.; LIMBERGER, D. C. H. **Análise dos impactos socioambientais do cemitério de Tapes, RS**. VII SIEPEX-Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da UERGS, Brasil, 2017.
- SEFRIED, S. *et al.* Suitability of hepatocyte cell lines HepG2, AML12 and THLE-2 for investigation of insulin signalling and hepatokine gene expression. **Open Biology**, v. 8, n. 10, 2018.
- SHARMA, P.; SHARMA, S.; TANWAR, R. Forensic entomology based seasonal study of decomposition of pig carcasses on and below the ground. **Discover Applied Sciences**, v. 7, n. 5, 2025.

SILVA, L. M. Cemitérios: fonte potencial de contaminação dos aquíferos livres. In: **Congresso Latino-Americano De Hidrologia Subterrânea**, Montevideo. Memórias. Montevideo: ALHSUD, v. 2, p. 667-681, 1998.

SILVA, R. W. C.; FILHO, W. M. O emprego de métodos geofísicos na fase de investigação confirmatória em cemitérios contaminados. **EngSanitAmbient** v.14 n.3 327-336, 2009.

SILVA, R. W. C.; MALAGUTTI, F. W. CEMITÉRIOS COMO ÁREAS POTENCIALMENTE CONTAMINADAS. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (RBCIAMB)**, Rio de Janeiro, n. 09, p. 26–35, 2008.

SINGH, N. P. *et al.* A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v. 175, n. 1, p. 184–191, 1988.

SOUZA, L. R. D. **Citogenotoxicidade de solo contaminado por necrochorume e toxicidade de aminas biogênicas derivadas de processos putrefativos**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências, Rio Claro, 2021.

SPEIT, G.; VASQUEZ, M.; HARTMANN, A. The comet assay as an indicator test for germ cell genotoxicity. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 3-12, 2009.

SPONCHIADO, G. *et al.* Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 178, p. 289–296, 2016.

STEGEMAN, J. J. *et al.* Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: **Biomarkers**. CRC Press, 2018. p. 235-336.

STODDART, M. J. Cell Viability Assays: Introduction. **Methods in molecular biology**, p. 1–6, 2011.

STROBER, W. Trypan blue exclusion test of cell viability. **Current Protocols in Immunology**, v. Appendix 3, p. Appendix 3B, 2001.

STROBER, W. **Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability** *Current protocols in immunology*. 2015.

SUTHERLAND, A. *et al.* The effect of body size on the rate of decomposition in a temperate region of South Africa. **Forensic science international**, v. 231, n. 1-3, p. 257–262, 2013.

SYLVESTER, P. W. Optimization of the Tetrazolium Dye (MTT) Colorimetric Assay for Cellular Growth and Viability. In: SATYANARAYANAJOIS, S. D. (Ed.). **Drug Design and Discovery**. Totowa, NJ: Humana Press, v. 716, p. 157–168, 2011.

SZELE CZ, I. *et al.* Soil chemistry changes beneath decomposing cadavers over a one-year period. **Forensic Science International**, v. 286, p. 155–165, 2018.

TERRA, V. R.; PRATTE-SANTOS, R.; FREIRE, D. N. Impacto do necrochorume nas águas subterrâneas do cemitério de Santa Inês, Vila Velha-ES, Brasil. **Águas Subterrâneas**, [S. l.], 2008.

THOMPSON, B. Cemitérios verticais, espaço urbano e meio ambiente: Onovo discurso científico universitário de incentivo à verticalização do cemitério e à cremação. **Revista Primeiros Estudos**, São Paulo, n.7, p.7-27, 2015.

THORNTON, B.; BASU, C. Rapid and simple method of qPCR primer design. In: **PCR Primer Design**. Humana Press, New York, NY, 2015. p. 173-179.

- TURKEZ, H.; ARSLAN, M. E.; OZDEMIR, O. Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 13, n. 10, p. 1089–1098, 2017.
- ÜÇİSİK, A. S.; RUSHBROOK, P. The Impact of Cemeteries on the Environment and Public Health an Introductory Briefing. **World Health Organization Regional Office for Europe**, Nancy Project Office, Denmark, 1998.
- VAN DER OOST, R., BEYER, J., VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57–149, 2003.
- VITTA, A. et al. A preliminary study on insects associated with pig (*Sus scrofa*) carcasses in Phitsanulok, northern Thailand. **Tropical biomedicine**, v. 24, n. 2, p. 1-5, 2007.
- WANG, Y. et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **The Journal of Cell Biology**, v. 217, n. 6, p. 1915–1928, 2018.
- WESELSKY, P. Neue Derivate des Resorcins. **Chemische Berichte**, v. 4, n. 1, p. 32–33, 1871.
- YANG, H.; MA, M.; THOMPSON, J. R.; FLOWER, R. J. Waste management, informal recycling, environmental pollution and public health. **Journal of Epidemiology and Community Health**, p. 1-7, 2017.
- ZHANG, Q.; WIDMER, G.; TZIPORI, S. A pig model of the human gastrointestinal tract. **Gut Microbes**, v. 4, p. 193-200, 2013.
- ZHU, L.; HUANG, Y.; LIU, G. Using DNA damage to monitor water environment. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 23, n. 3, p. 340-348, 2005.
- ZOBY, J. L. G. **Panorama da qualidade das águas subterâneas no Brasil**. In: XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. 2008.
- ZUANG, V. The Neutral Red Release Assay: A Review. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 29, n. 5, p. 575–599, 2001.
- ŻYCHOWSKI, J.; BRYNDAL, T. Impact of cemeteries on groundwater contamination by bacteria and viruses—a review. **Journal of water and health**, v. 13, n. 2, p. 285-301, 2015.
- WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B. **Principles of Ecotoxicology**. Taylor & Francis. Londres, 1996.