**Antibody profiling: uma “impressão digital imunológica” com potencial em ciências forenses**

**Introdução**

 Os vestígios biológicos encontrados em locais de crime representam grande importância na identificação de vítimas e suspeitos, não podendo ser subestimados no que tange à sua importância como elementos probatórios, muitas vezes, utilizados como identificação genética(MICHELIN et al., 2013).

A partir da descoberta de que cada indivíduo produz autoanticorpos específicos que lhe são singulares, denominados autoanticorpos específicos individuais (ISA’s – *individual specific autoantibodies*) e que por meio de sua análise obtinha-se um perfil de anticorpos único individual, surgiu a hipótese do uso destes como ferramenta forense, criando-se a possibilidade de serem utilizados como uma “impressão digital” imunológica para identificação de indivíduos. Assim, o *Antibody Profiling* ou *Antibody Fingerprint* é uma técnica baseada nesta diferença no repertório de anticorpos específicos de cada organismo(ESPERANÇA et al, 2012). Seu fundamento baseia-se na existência de um perfil único de moléculas de anticorpos, secretadas nos fluidos orgânicos (BERNSTEIN et al., 1984).

O presente trabalho visa realizar um estudo de revisão sobre o Antibody Profiling e sua aplicação.

**Material e métodos**

Foi realizada busca de artigos científicos nas bases de dados nacionais e internacionais. Buscas em revistas nacionais mostraram não haver, em língua pátria, publicações sobre o tema e, mesmo nas revistas internacionais a disponibilidade de artigos mostrou-se reduzida em relação aos demais temas da área.

**Resultados e Discussão**

A produção de anticorpos representa, possivelmente, a mais particular e notável das reações de um indivíduo ao ambiente(KING et al., 1976). O sistema imune, apesar de suas características bem consolidadas e compartilhadas por todos indivíduos, responde em cada um de maneira singular aos estímulos recebidos.

O padrão de autoanticorpos específico é obtido por volta dos dois anos de vida extrauterina. No caso de recém-nascidos e crianças com poucos meses de vida, o perfil de ISA’s é idêntico ao materno(FRANCOEUR, 1988). Esta característica pode ser utilizada para identificação em casos de troca de bebês ou sequestro. Pesquisadores utilizaram a análise do perfil de anticorpos para averiguar a origem materna de 54 recém-nascidos, relacionando corretamente mães e bebês, sendo observada pequena diferença entre o perfil de anticorpos materno e da criança em apenas 8 casos sem, que esta diferença interferisse na identificação da mãe(UNGER and STRAUSS, 1995).

A análise dos perfis sanguíneos de autoanticorpos do isotipo IgG em 166 indivíduos, incluindo pessoas saudáveis e com alterações patológicas, frente a um microarranjo de 9486 proteínas humanas nativas mostrou que todos os indivíduos possuíam autoanticorpos IgG, sendo encontrados, em média 1996,9 autoanticorpos deste isotipo por indivíduo, em um padrão singular para cada um, e ainda evidenciou a manutenção do padrão de anticorpos ao longo do tempo, apesar da existência de discretas variações na intensidade das bandas(NAGELE et al., 2013).

As moléculas de anticorpo possuem estabilidade, podendo ser extraídas de manchas de sangue secas e não sofrem interferência de uma série de suportes onde frequentemente são encontradas nos locais de crime (KING et al., 1976). Outros fluidos também podem ser usados na busca de anticorpos, por exemplo saliva e matéria fecal(VETVIK et al.,1998).

O método envolve promover o contato entre a amostra forense biológica e um suporte sólido contendo arranjo antigênico padronizado, de modo que os anticorpos da amostra interajam com os antígenos formando imunocomplexos que são identificados por meio da adição de um anticorpo marcado específico e submetidos a revelação (APEL, 2013). O fingerprint de anticorpos representa, então, a distribuição dos imunocomplexos formados entre os autoanticorpos da amostra e os antígenos padrão preparados e posteriormente revelados.

A realização do processo, desde a adição das amostras questionadas até a leitura dos resultados demandaria cerca de duas horas(ESPERANÇA et al, 2012), mostrando-se uma ferramenta de resultado rápido.

O antibody profiling mostrou resultados promissores quando amostras de sangue foram adicionadas em superfícies como capo de carros e para-brisas, mostrando a capacidade de discriminar corretamente mesmo quando a amostra foi depositada sobre um inseto esmagado no para-brisas. Amostras submetidas a ação de luminol ou contaminantes, como por exemplo, gasolina, também foram corretamente identificadas. Temperaturas maiores que 60°C, porém, inviabilizam o uso da técnica de antibody profiling(THOMPSON et al., 1999). Análise em amostras de sangue congeladas mostrou resultados favoráveis, não tendo havendo resultado falso positivo, e com nível médio de discriminação maior que 1 em 1,8 bilhão(ESPERANÇA et al, 2012).

Uma importante e potencialmente viável aplicação do antibody profiling é a identificação em casos de acidentes em massa, onde há grande quantidade de partes de corpos mutilados, encontradas muitas vezes distantes do local central do acidente. O grande número de partes representa, frequentemente, um obstáculo ao trabalho dos peritos e demais envolvidos (COSMO, 2012). Na maioria destes casos o grande desafio reside no manuseio, análise e comparação de grande quantidade de amostras de DNA, o que demanda uma quantidade apreciável de recursos financeiros, humanos e tecnologias(ALONSO et al, 2013). Nestes casos, a aplicação da técnica de antibody profiling previamente em todos os corpos e partes remanescentes seria importante para realizar a correspondência entre os mesmos e posteriormente proceder a análise genética apenas uma vez para cada vítima.

O uso de métodos imunoenzimáticos, que acompanham a técnica consiste também em uma vantagem, permitindo o uso de pequenas quantidades de amostras e reagentes, necessitando de reduzido processamento previamente à realização da análise(ESPERANÇA et al, 2012). Assim, poderia ser particularmente útil naquelas amostras nas quais não exista DNA em quantidade ou qualidade suficientes para um resultado confiável, pois demanda pequena quantidade de amostra biológica, bem como seria de grande utilidade em localidades distantes dos grandes centros (THOMPSON et al., 1999). uma vez que não requer que as amostras sejam processadas em laboratórios altamente aparelhados.

Entre suas vantagens está a possibilidade de aplicação nos casos onde uma mesma amostra apresente material biológico de mais de um indivíduo. Neste caso, obtém-se o perfil de anticorpos correspondente à sobreposição dos perfis de cada um, sobressaindo o que estiver em maior quantidade. Isoladamente, esse resultado não permite determinar se a amostra contém material de mais de um indivíduo, porém, sabendo-se o perfil de um suspeito, o segundo perfil poderia ser obtido por subtração(THOMPSON et al., 1999).

Esta técnica não se destina a suplantar a análise genética, haja vista suas limitações no que tange à produção de um banco de dados e à sua recenticidade em termos forenses, e tecnologia de DNA está estabelecida como recurso de importância inquestionável ou até indispensável(FONSECA, 2013). Todavia, o método apresentado se propõe a reduzir o número de exames genéticos necessários e, consequentemente reduzir o tempo e aporte financeiro empenhados. Neste cenário de escassez de recursos financeiros, a implantação de técnicas que reduzam gastos sem gerar prejuízos de ordem técnica mostra-se sobremaneira interessante.

**Conclusão**

O Antibody Profiling ou Antibody Fingerprint permite identificar corretamente amostras biológicas de fontes variáveis de diferentes indivíduos e, obtendo-se o perfil de cada suspeito, por meio de comparação chegar-se a um resultado confiável em termos de identificação forense. Favoravelmente, pesam o pouco tempo necessário entre o processamento das amostras e a obtenção dos resultados, custos reduzidos, exigência de menor qualificação dos profissionais para sua realização, menor complexidade dos equipamentos e insumos necessários, possibilidade de realização em locais com menos recursos tecnológicos como ocorre geralmente no interior do país e a possibilidade de diferenciar indivíduos geneticamente idênticos. Em seu desfavor estão a inexistência de um banco de dados e as limitações ainda existentes em razão da sua recenticidade. Todavia, o Antibody Profiling desponta como ferramenta forense de grande potencial podendo ser, futuramente, um grande aliado juntamente com os perfis de DNA ou de modo independente em algumas situações.

Referências bibliográficas

1. ALONSO et al. Challenges of DNA profiling in mass disaster investigations. *Croat Med J*, 46(4) 2005.
2. APEL, W., THOMPSON, V. S. Antibody profile sensitivity through increased reporter antibody layering. *United States Reissued Patent*, 2013.
3. BERNSTEIN, R.M. et al. Cellular protein and RNA antigens in autoimmune disease. *Molecular Biology & Medicine*, v.2, n. 2, p. 105-120, 1984.
4. COSMO, S. BARBERA, J. A. Rapid disaster victim identification in mass fatality incidentes: decision-support to facilitate human remains identification. *Disaster Med Public Health Preparedness*, v. 6, n. 3, p. 277-290, 2012.
5. ESPERANÇA, et al. Validation study of antibody profiling as an identification tool for forensic samples. *IGNA*, 2012.
6. FONSECA, C. Mediações, tipos e figurações: reflexões em torno do uso da tecnologia DNA para identificação criminal. *Anuário Antropológico*, p. 09-33, 2013.
7. FRANCOEUR, A.M. Antibody fingerprinting: a novel method for identifying individual people and animals. *Biotechnology*, v.6, p. 822-825, 1988.
8. KING, L.A., WERRET, D.J., WHITEHEAD, P.H. Antibody profiling of bloodstains. *Forensic Science*, v. 8, p. 151-154, 1976.
9. MICHELIN, K. FREITAS, J. M., KORTMANN, G. L. Vestígios Biológicos. In: VELHO, J. A. COSTA, K. A. DAMASCENO, C. T. M. (Orgs). *Locais de crime*: dos vestígios à dinâmica criminosa. Campinas: Millennium Editora, 2013, p.83-124 .
10. NAGELE et al. Natural IgG autoantibodies are abundant and ubiquitous in human sera and their number is influenced by age, gender and disease, PLOS ONE, v. 8, n. 4, p. e60726, 2013.
11. THOMPSON, V. S. et al., Antibody profiling as an identification tool for forensic samples. *SPIE*, v.3576, p. 52 -59, 1999.
12. UNGER, T.F; STRAUSS, A. Individual-specific antibody profiles as a means of newborn infant identification. *J Perinatol*. v. 15, n. 2, p. 152-155, 1995.
13. VETVIK, H. et al. Mucosal antibodies can be measured in air-dried samples of saliva and feces. *J Immun. Methods*, v. 215, p. 153-162, 1998.