

Reação em cadeia da polimerase (PCR): análise da produção científica no período de 2001 a 2021.

Michely Correia Diniz¹
Allany Trajano Nascimento²
Lavínia de Souza Duarte³
Amaro Antonio Silva Neto⁴

Resumo: A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica *in vitro* que permite a amplificação de sequências específicas de ácidos nucleicos, uma vez que se baseia no processo de replicação do material genético. É uma técnica muito utilizada para diagnóstico, inclusive para o novo Coronavírus. Este estudo visou mapear a produção científica entre 2001 e 2021 e verificar algumas categorias bibliométricas. Para isso buscou-se por "PCR", "Reação em Cadeia da Polimerase", "Polymerase Chain Reaction" e "Digital PCR" nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus*. Os dados foram examinados através de uma abordagem quantitativa por meio de estatística descritiva do tipo percentual. Foram recuperados 2.246.423 artigos, dos quais 66% foram localizados na *Scopus*. O Brasil demonstrou ter poucos artigos envolvendo a técnica, enquanto os Estados Unidos e China foram os países que apresentaram o maior número de publicações. O inglês é o principal idioma dos artigos publicados. Tal fato é explicado pela visibilidade que o artigo tem ao serem publicados nesta língua. A *Plos One* é a revista que reuniu o maior número de trabalhos envolvendo a técnica. No espaço amostral, 2020 e 2021 foram os anos que apresentaram a maior quantidade de trabalhos publicados enquanto 2001 e 2002 foram os anos com o menor número de publicações. A técnica é bastante descrita na literatura. Existem diversos trabalhos que a utilizam para resolução de vários problemas biológicos, sendo a saúde a principal área de aplicação.

Palavras-chave: Genética; Marcadores Moleculares; DNA.

Abstract: Polymerase Chain Reaction (PCR) is an *in vitro* technique that allows the amplification of specific sequences of nucleic acids, since it is based on the replication process of genetic material. It is a widely used diagnostic technique, including for the new Coronavirus. This study aimed to map scientific production between 2001 and 2021 and verify some bibliometric categories. For this purpose, we sought "PCR", "Polymerase Chain Reaction", "Polymerase Chain Reaction" and "Digital PCR" in the *Web of Science* and *Scopus* databases. The data were examined through a quantitative approach through descriptive percentage statistics. A total of 2,246,423 articles were recovered, of which 66% were located in *Scopus*. Brazil has shown that there are few articles involving the technique, while the United States and China had the highest number of publications. English is the main language of published articles. This fact is explained by the visibility that the article has when published in this language. *Plos One* is the magazine that brings together the largest number of works involving the technique. In the sample space, 2020 and 2021 were the years that presented the highest number of published papers while 2001 and 2002 were the years with the lowest number of publications. The technique is widely described in the literature, there are several studies that use it to solve various biological problems, and health is the main area of application.

Keywords: Genetics; Molecular Markers; DNA.

¹ UNIVASF, E-mail: michely.diniz@univasf.edu.br

² UNIVASF, E-mail: allany.trajano@discente.univasf.edu.br

³ UNIVASF, E-mail: laviniasouza23duarte@gmail.com

⁴ UNIVASF, E-mail: antonio.amaroaneto@gmail.com

INTRODUÇÃO

A Biologia Molecular é o ramo da Biologia que estuda os organismos a nível molecular. Tal área foca no estudo da estrutura e função do material genético dos seres vivos. Além disso, a Biologia Molecular examina a relação entre Ácido Desoxirribonucleico - DNA, Ácido Ribonucleico - RNA e Proteínas (WATSON *et al.*, 2015). Entretanto, só foi possível entender como o DNA é transcrito e traduzido em proteínas após os estudos de Rosalind Franklin e apresentação do modelo tridimensional deste ácido nucleico em 1953 por Watson-Crick (TSONGALIS; SILVERMAN, 2006).

A Biologia Molecular é um campo muito amplo, compreendendo outras áreas, como a Genética e Bioquímica (WATSON *et al.*, 2015). Vale ressaltar que a Genética só se consolidou como um conjunto de princípios e procedimentos a partir de 1980 com uma série de experimentos realizados pelo monge agostiniano Gregor Mendel (GRIFFITHS *et al.*, 2009).

As técnicas de Biologia Molecular avançaram consideravelmente nos últimos anos, oferecendo novas possibilidades no estudo da Genética (HEPP *et al.*, 2020). Entre as várias áreas de aplicação da Biologia Molecular podemos destacar o agronegócio e pecuária, o controle de qualidade de alimentos, a medicina humana e veterinária, as ciências forenses e a conservação da diversidade biológica do planeta (ZOLET *et al.*, 2017; GRIFFITHS, 2009).

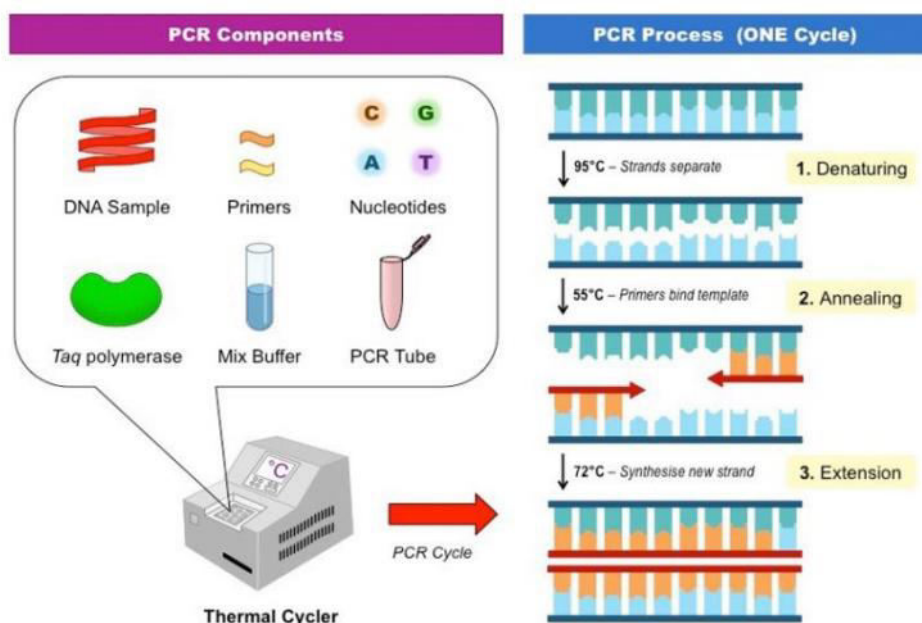
Todavia, existem algumas técnicas fundamentais para qualquer estudo relacionado à Biologia Molecular. Entre elas, podemos destacar a extração de DNA, a Eletroforese e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (ZOLET *et al.*, 2017; GRIFFITHS, 2009). Esta última é uma técnica *in vitro* de multiplicação exponencial de trechos específicos de ácidos nucleicos baseando-se no processo celular de duplicação do DNA (FRUEHWIRTH, DELAI, FOLHA, 2015).

Apesar das inúmeras publicações referentes à utilização da PCR para resolução de vários problemas, nota-se a ausência de estudos que busquem apresentar dados prospectivos no que se refere à produção científica neste tema. Diante do exposto, o presente estudo visou analisar a produção científica brasileira e internacional sobre o uso da PCR nos últimos vinte anos (2001-2021), utilizando dados bibliométricos indexados nas bases de dados da *Web*

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A PCR é uma síntese em laboratório que permite a amplificação de sequências específicas de DNA ou RNA (Ácido Ribonúcleico), sendo este último realizado a partir da síntese de ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA-*complementary deoxyribonucleic acid*) (CHEN, CLEJAN,1993). A técnica consiste em uma série de ciclos onde a fita de DNA é separada (desnaturação), complementada (pareamento) e refeita (extensão), possível de ser observada na Figura 01.

Figura 01: Caracterização dos componentes e processos da PCR convencional.



Fonte: Nunes (2017).

O desenvolvimento da técnica de copiar trechos de DNA, utilizando a PCR ampliou perspectivas em várias áreas do conhecimento. A técnica inicial de PCR utilizava a enzima de DNA polimerase de *Escherichia coli*, em que a temperatura de pareamento é de 37°C, e a cada ciclo de reação ela era adicionada, mas era inativada quando a temperatura chegava a 95°C para promover a desnaturação do DNA molde.

O bioquímico Kary Mullis em 1983 conseguiu uma forma de localizar uma parte específica de DNA e com isso sintetizou várias cópias. Essa técnica ficou conhecida como PCR. Em 1987, Mullis e colaboradores obtiveram a patente (US 4,683,195) por essa invenção que tinha como titular inicial a *Cetus Corporation* e Emeryville, Calif. Além disso, Mullis ganhou o Prêmio Nobel de Química em 1993. Desde então a PCR tem sido utilizada comercialmente e em vários campos da ciência (NATIONAL GEOGRAPHIC, 2021).

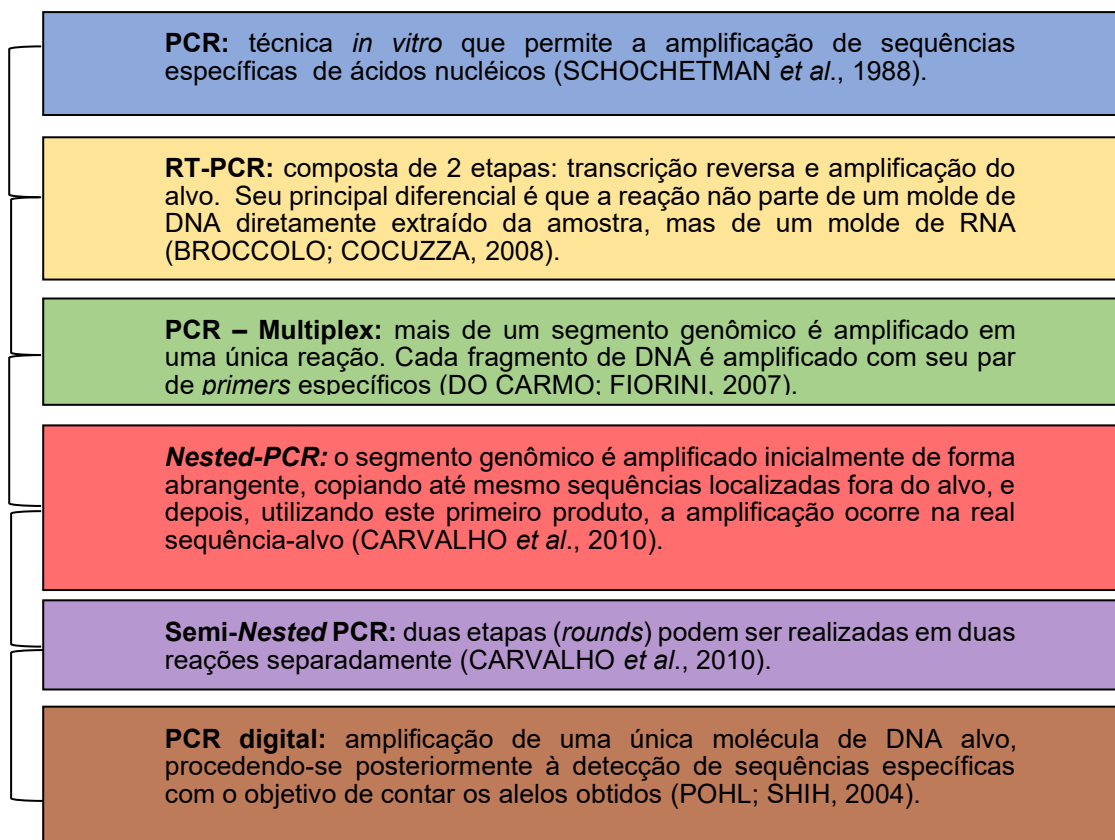
Mais de uma década após o desenvolvimento do primeiro ensaio da PCR para a *Leishmania* sp., foi possível grande avanço no diagnóstico da leishmaniose visceral. O ensaio de PCR para *Leishmania* sp. a fim de amplificar um número diferente de alvos de DNA usando sangue periférico como amostra clínica mostrou ser uma alternativa não invasiva e altamente eficiente para o diagnóstico da infecção, mostrando sensibilidades de 82% a 100% e especificidade de 100% (RODGERS, POPPER, WIRTH, 1990; SINGH *et al.*, 1999; LACHAUD *et al.*, 2000; HU *et al.*, 2000).

O uso mais recente desta técnica se deu durante a pandemia da COVID-19, visto que a PCR é a base do teste padrão de referência mais comum para detecção do coronavírus SARS-CoV-2 (NATIONAL GEOGRAPHIC, 2021). Dessa forma, o uso da PCR, no diagnóstico microbiológico, estabeleceu uma alternativa viável aos métodos tradicionais de cultura. No entanto, os principais entraves à sua implementação na rotina laboratorial são a dificuldade do método em diferenciar células vivas e mortas, a presença de inibidores da enzima polimerase, o alto investimento em equipamentos e reagentes e a falta de aprovação, padronização e regulamentação por parte dos órgãos oficiais (MARLONY *et al.*, 2003).

O intenso desenvolvimento tecnológico, aliado à complexidade do DNA humano, fez com que técnicas mais eficazes e automatizadas fossem desenvolvidas no decorrer dos anos. Ainda, a possibilidade de sequenciar o genoma completo de vários organismos impulsionou estudos evolucionários em larga escala, os quais seriam impossíveis de concretizar há apenas alguns anos. Com isso, a aplicação mais ampla destas técnicas tem sido a investigação sobre o genoma humano, proporcionando um conhecimento cada vez mais vasto de como as diferenças genéticas afetam a saúde e a doença (METZKER, 2010).

São empregados vários métodos para o sequenciamento gênico, como a extração do DNA, a PCR e a PCR digital, ambas analisadas neste estudo, e que vão estar aliadas a *softwares* de processamento, utilizando assim técnicas digitais como a bioinformática. A Figura 02 ilustra as variedades de PCRs e suas particularidades.

Figura 02: Variações da PCR e suas características



Fonte: Autores, (2022).

METODOLOGIA

Este trabalho consistiu num mapeamento bibliométrico exploratório descritivo com base nas publicações existentes nas bases de dados. O levantamento de dados ocorreu entre os dias 10 e 15 de fevereiro de 2022. A busca foi realizada nas bases de dados *Scopus* e *Web of Science* (WoS).

As pesquisas foram realizadas utilizando os termos “PCR”, “Reação em Cadeia da Polimerase”, “Polymerase Chain Reaction” e “Digital PCR” como palavras-chave. Os critérios de inclusão da amostra foram artigos científicos publicados no período de 2001 a 2021 cujo título e/ou resumo contemplasse as palavras-chave. Os dados obtidos foram alocados em tabelas no *software Microsoft Excel* para posterior análise dos dados. Os dados foram analisados através de uma abordagem quantitativa por meio de estatística descritiva do tipo percentual.

Na análise, foram considerados os seguintes indicadores bibliométricos: país no qual a publicação foi feita, área de pesquisa, ano da publicação, distribuição das publicações por revista, principais idiomas de publicação e palavras-chaves. Foram considerados os dez primeiros resultados de cada tópico, exceto para o ano de publicação do artigo. Nesta categoria, foram considerados os trabalhos publicados entre 2001 e 2021.

Também foi elaborada a rede de coocorrência das palavras-chave dos artigos recuperados nas buscas na plataforma *Scopus*. A construção desta rede de interação foi feita utilizando do *software VOSviewer* versão 1.6.18 (VAN; WALTMAN, 2010). A rede usa linhas e cores para enfatizar conceitos que estão interligados. Configurou-se o *software* para exibir os termos citados mais de 5 vezes, resultando na formação de *clusters* mais significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 2.246.423 artigos no espaço temporal definido. A Tabela 01 evidencia que a *Scopus* foi a base de dados que localizou o maior número de artigos, somando 66% (n=1.480.287) das publicações.

O termo “*Polymerase Chain Reaction*” foi o que resultou o maior número de artigos recuperados, com um total de 1.122.529. Além disso, é possível verificar que o nome da técnica quando escrito em português, “Reação em Cadeia da Polimerase”, foi o descritor que localizou o menor número de trabalhos, com apenas 77 artigos. Tal fato sugere que há poucas publicações sobre a utilização da técnica na língua portuguesa.

Tabela 01: Quantidade de artigos por base de dados

PALAVRA-CHAVE	Web of Science	Scopus	Total
<i>Polymerase Chain Reaction</i>	228.809	893.720	1.122.529
PCR	531.926	583.537	1.115.466
Reação em Cadeia da Polimerase	6	71	77
<i>Digital PCR</i>	5.395	2.959	8.354
TOTAL	766.136	1.480.287	2.246.423

Fonte: Autores, (2022).

Os dados obtidos na busca foram analisados nos seguintes contextos: país de origem do artigo, ano de publicação, área de pesquisa, idioma da publicação, instituição mais produtiva, principais revistas por base de dados e interação das palavras-chave. Foram examinados os dez primeiros resultados de cada tópico, para confirmação do tema, para cada palavra-chave, exceto o ano de publicação do artigo. Após isso, realizou-se uma somatória, seguida da obtenção da média dos resultados.

Os dez primeiros países localizados nas buscas na *Web of Science* foram a China, Estados Unidos da América, Japão, Alemanha, Coreia do Sul, Inglaterra, Brasil, Itália, Índia e França. A China se destacou como a maior produtora de artigo, com uma média de 48.272 artigos publicados. O segundo lugar é ocupado pelos Estados Unidos da América com 38.444 publicações. Entre esses países, o Brasil realizou o menor número de publicações, uma vez que o país soma apenas 6.734 artigos, ficando na 10^a posição do *ranking*.

Notou-se também que o Canadá possui poucos trabalhos publicados sobre a técnica quando comparado com os outros países acima. Tal fato pode ser explicado pela necessidade do país em investir em inovação (OTTONICAR *et al.*, 2019).

Na *Scopus*, os dez principais países foram a China, Estados Unidos da América, Japão, Alemanha, Reino Unido, França, Itália, Coreia do Sul, Canadá e a Índia. A China e os Estados Unidos da América permaneceram em primeiro e segundo lugar, publicando 104.822 e 76.232 artigos, respectivamente,

enquanto que o Canadá foi o país com o menor número de publicações, com apenas 7.086 artigos. A China e os Estados Unidos são os países que mais desenvolveram estudos envolvendo PCR entre 2001 e 2021.

O idioma inglês se destacou como o mais frequente das publicações tanto na *Scopus* quanto na *Web of Science*. O relatório publicado em 2021 pelo *Institute for Scientific Information (ISI)* revelou que, nos últimos anos, os cientistas brasileiros passaram a publicar os resultados dos estudos em inglês para que eles tivessem uma maior visibilidade e, conseqüentemente, uma maior participação na produção científica a nível global (ANDRADE, 2022).

De acordo com os dados da *Web of Science*, a Universidade da Califórnia é o local que mais publicou artigos relacionados à PCR nos últimos 20 anos enquanto que o *National Institute of Health (NIH)*, Instituto Nacional de Saúde, publicou o menor número. Ambas as instituições se localizam nos Estados Unidos da América.

Segundo as informações coletadas na *Scopus*, 19% (n= 5.940) dos artigos publicados foram feitos por pessoas afiliadas ao Ministério de Educação da China. A Academia Chinesa de Ciências fica em segundo lugar, com 4.511 artigos, enquanto o *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (Instituto Nacional de Saúde e Pesquisa Médica), na França, contabiliza 3.908 publicações nas últimas duas décadas.

A *Plos One* demonstrou-se ser a principal revista científica na qual os artigos foram publicados, uma vez que ela ficou em primeiro lugar nos registros. Em segundo lugar ficou a revista *Scientif Reports* e em terceira posição encontra-se a revista *Molecular Biology Reports*.

A *WoS* publica o *Journal Citation Reports (JCR)*, relatório de responsabilidade da *Clarivate Analytics* (2020), no qual é possível analisar dados referentes ao fator de impacto do periódico científico. Segundo o JCR, o fator de impacto da *PLoS One* atualmente é de 3.240. Por outro lado, a *Scimago Journal & Country Rank* (2021) revela um *H-index* de 367 para tal revista, indicando o alcance das publicações, significando que o periódico tem 367 artigos com 367 citações ou mais.

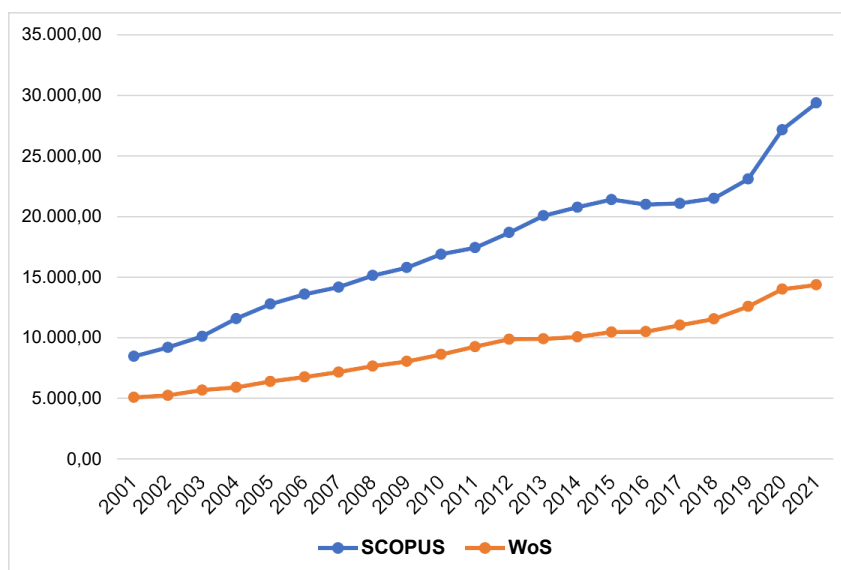
A *PLoS One* possui grande credibilidade em diversos campos da ciência. Segundo os dados do DOAJ (*Directory of Open Access Journals*), a *PLoS Biology*

ScientiaTec

é a revista de maior impacto na categoria *Biology*. Nas Ciências da Saúde, como é o caso da *PLoS Medicine*, a revista possui o maior fator de impacto na categoria de *Medicine, General & Internal* (LEITÃO *et al.*, 2015).

A Figura 03 expõe a produção média anual dos artigos recuperados pelos descritores. Foi observada uma média de aproximadamente 28 mil artigos publicados por ano. Notou-se que 2001 e 2002 foram os anos com o menor número de publicações, somando cerca de 14.585 e 15.684 artigos publicados, respectivamente. Além disso, a Figura 03 revela que 2020 e 2021 foram os anos com o maior número de artigos publicados sobre esta temática, com um total de 41.227 e 43.788 publicações.

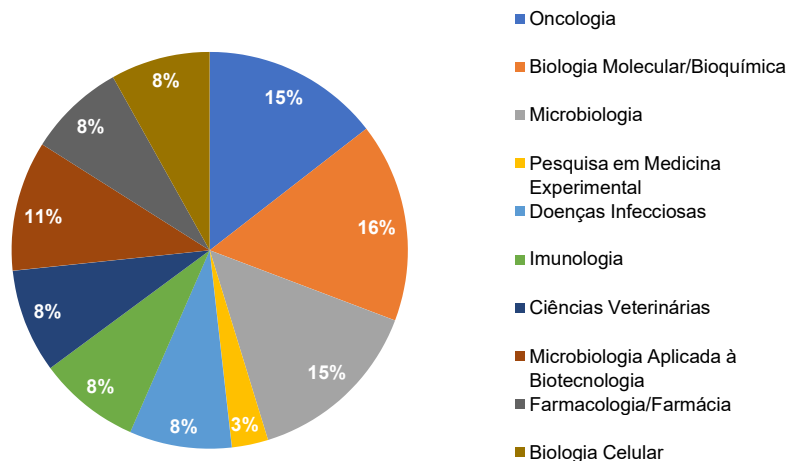
Figura 03: Número de artigos publicados nos últimos 20 anos (2001-2021).



Fonte: Autores, (2022).

A Figura 04 apresenta as principais áreas de pesquisa que utilizam a PCR de acordo com os dados obtidos no *Web Of Science*. A partir dela, observa-se que a Biologia Molecular e a Bioquímica são as principais áreas que usam a PCR nos estudos, uma vez que se recuperou 16% (n=81.783) dos artigos publicados nestas áreas. Por outro lado, Pesquisa em Medicina Experimental expressou o menor número de trabalhos publicados, com cerca de 3% (n=14.967) dos artigos.

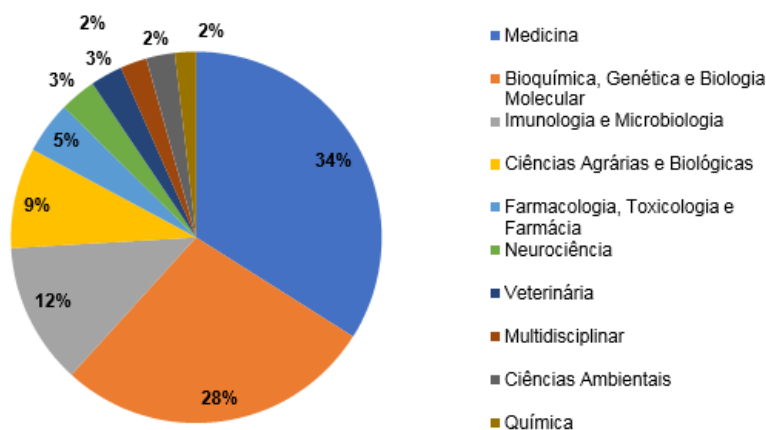
Figura 04: Principais áreas de pesquisa, segundo as informações da *Web of Science*.



Fonte: Autores, (2022).

A Figura 05 ilustra a distribuição dos artigos localizados na *Scopus* por área de pesquisa. Nota-se que a Medicina foi a área que teve o maior número de artigos publicados nos últimos 20 anos, com um total de 779.988 estudos. Além disso, também é possível verificar que a Química e as Ciências Ambientais foram as áreas com o menor número de artigos publicados, somando apenas 42.397 e 57.524 trabalhos, respectivamente.

Figura 05: Principais áreas de pesquisa, de acordo com os dados da *Scopus*.



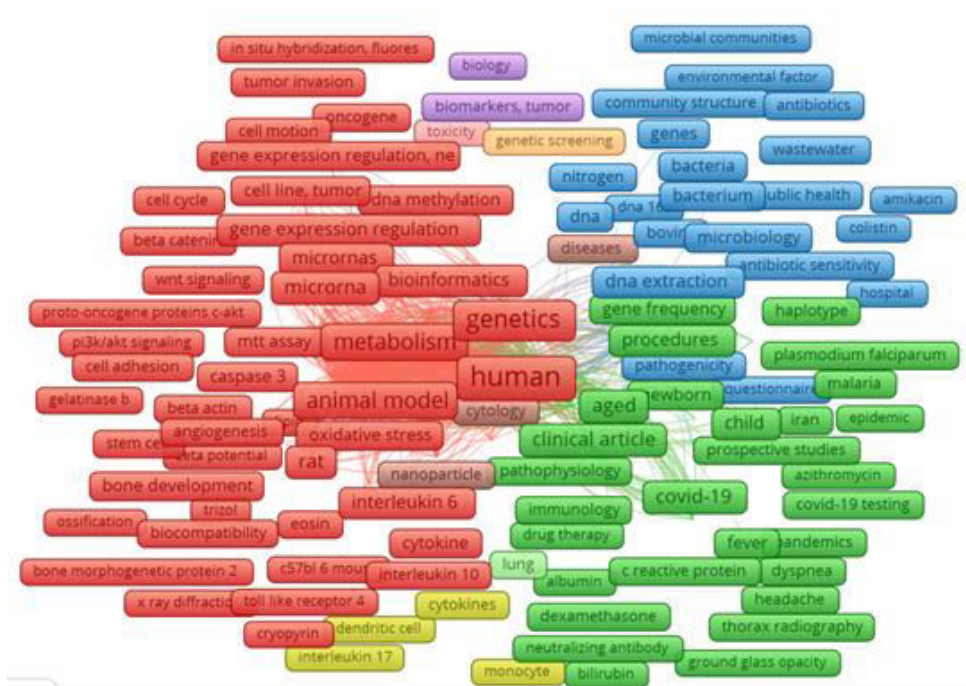
Fonte: Autores, (2022).

ScientiaTec

A Figura 06 mostra a análise de coocorrência de termos obtidos nos resultados da plataforma *Scopus*. A plataforma permite exportar até 2.000 registros por arquivo. Foram selecionados os 2.000 resultados iniciais com o termo “*Polymerase Chain Reaction*”, que resultou maior número na plataforma *Scopus*, para análise no VOSViewer.

Percebe-se a formação de quatro *clusters* principais (vermelho, azul, verde e amarelo) que possuem as palavras evidenciadas aparecendo no mínimo 10 vezes nos 2.000 estudos iniciais resultantes da palavra-chave “*Polymerase Chain Reaction*”.

Figura 06: Rede multivariada de co-ocorrência de palavras-chaves no resultados do *Scopus*.



Fonte: Autores, (2022).

Após o fim da Guerra Fria, os Estados Unidos da América têm buscado estabelecer uma supremacia ao redor do mundo (JUNG *et al.*, 2017). Todavia, o rápido crescimento econômico da China fez com que o país passasse a se destacar em várias áreas, como por exemplo, na pesquisa científica (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Segundo Torres-Freire *et al.*, (2014), a China ficou entre os cinco países com maior crescimento percentual na publicação de artigos entre 1981 e

2009.

Fernandes *et al.* (2015) analisaram a participação dos BRICS (sigla para se referir ao grupo de países emergentes- Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) na produção científica e tecnológica mundial no período de 1996 à 2013. Os autores notaram que a produção científica e tecnológica dos BRICS saiu de 8% em 1996 para 25% em 2013, e que dentro do grupo, a China teve um aumento de 36% no período analisado, sendo responsável por 66% da produção científica e tecnológica.

Entre 2000 e 2012, a China aumentou o investimento do seu PIB em Pesquisa e Desenvolvimento, saindo de 0,9% para 1,98%. Os Estados Unidos da América, por outro lado, aplicaram 2,62% do seu PIB em 2000 e 2,64% em 2011 no mesmo setor, representando um aumento de 0,02% no investimento (FERNANDES *et al.*, 2015).

Finardi; Guimarães (2017) discorrem que a frequente publicação dos trabalhos em inglês cria um círculo vicioso no qual os países que mais publicam em inglês têm cada vez mais relevância na produção científica internacional, atraindo assim mais recursos e acadêmicos internacionais.

O primeiro artigo referente à técnica da PCR publicado foi em 1986 na revista *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* pelo bioquímico Kary Mullis e colaboradores. No trabalho, os autores relatavam como desenvolveram e no que se baseava o método da PCR, que é amplamente utilizada até os dias atuais.

A PCR é uma metodologia muito utilizada em várias áreas, como a saúde, agricultura, biotecnologia, dentre outras (REINHARDT *et al.*, 2017; LIECHESKI *et al.*, 2022; HAAS, TORRES, 2016; FELIX *et al.*, 2020). Tal fato explica o grande número de publicações envolvendo a técnica nos últimos 20 anos. Devido à pandemia da COVID-19, a utilização da RT-PCR, uma variação da técnica de PCR, na detecção do SARS-CoV-2, foi imprescindível para um diagnóstico confiável e rápido do novo coronavírus (CORMAN *et al.*, 2020; TAN *et al.*, 2021). Isso pode explicar o aumento das publicações em 2020 e 2021.

O VOSViewer é um *software* gratuito da Universidade de Leiden, Holanda, e pode ser utilizado em qualquer conjunto de dados de redes e adota o método conhecido como VOS (*Visualization of Similarities*) para definir os nós e ligações

de sua rede (MOREIRA; TSUNODA, 2020).

Assim, a rede multivariada obtida neste trabalho corroborou com os achados das áreas de pesquisa dos resultados anteriores, ressaltando as palavras que mais se repetiram nas publicações pesquisadas.

Com base nos dados, verificou-se que o principal campo de utilização da PCR é a saúde, seja ela humana, animal ou ambiental. Este fato foi corroborado tanto pela presença da Biologia Molecular, Bioquímica, Microbiologia e Imunologia nas principais áreas de pesquisa quanto pelos termos relacionados a estas áreas na rede.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que os Estados Unidos procuram ser a grande potência mundial em vários campos. Todavia, o rápido crescimento econômico da China nas últimas décadas alavancou também a ciência. Tais países alternam a liderança mundial no campo da ciência, visto o quantitativo de artigos publicados sobre a temática PCR.

Apesar dos poucos investimentos em Ciência, Tecnologia e Inovação, o Brasil demonstra ter uma boa comunicação científica devido à quantidade de trabalhos recuperados neste estudo. Entretanto, nota-se uma baixa ocorrência da utilização do português nas publicações que culmina com um menor reconhecimento do idioma nos artigos.

A quantidade de artigos relacionados à PCR cresceu exponencialmente nos últimos vinte anos, principalmente nos anos de 2020 e 2021. Este fato pode estar associado ao surgimento, aplicação e comparação das variações da técnica para resolução de problemas. Mais recentemente, a PCR Digital surpreendeu os centros de pesquisas por possuir uma quantificação absoluta e sensibilidade muito maior.

Durante toda a história da civilização, o surgimento e o desenvolvimento de novos artifícios tecnológicos foram de suma importância para o avanço da humanidade. Entretanto, tal progresso só ocorreu devido à ciência e ao conhecimento científico adquirido ao longo dos anos.

A PCR é considerada uma das grandes invenções da ciência, por ser rápida, versátil e muito sensível. Devido à pandemia da COVID-19, uma variação da PCR, a RT-PCR, se tornou uma grande aliada ao diagnóstico do novo Coronavírus. Os

dados obtidos nas buscas reforçam a vasta aplicabilidade da técnica, visto a quantidade de artigos científicos publicados envolvendo tal metodologia.

REFERÊNCIAS

ACQUAAD, G. Practical protein electrophoresis for genetic research. Portland: Discorides Press, p.131. 1992.

ANDRADE, R. O. Idioma em baixa. In: Pesquisa FAPESP. 312. Ed. [S. I.], 2022. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/idioma-em-baixa/>. Acesso em: 28 fev. 2022.

BROCCOLO, F.; COCUZZA, C. E. Automated extraction and quantitation of oncogenic HPV genotypes from cervical samples by a real-time PCR-based system. Journal of virological methods, v. 148, n. 1-2, p. 48-57, 2008.

BRUFREM, L.; PRATES, Y. O saber científico registrado e as práticas de mensuração da informação. Ciência da Informação, Brasília, v.34, n. 2, p. 9-25. 2005.

CARMO, E. F. S.; FIORINI, A. Principais técnicas moleculares para detecção do Papilomavírus humano. Saúde e Biologia, Maringá, v. 2, n.1, p.29-31, jun. 2007.

CARVALHO, C. V.; RICCI, G; AFFONSO, R. Guia de Práticas em Biologia Molecular. São Caetano do Sul, SP: Yendis, 2010.

CARVALHO, N. O. *et al.* Comparison of HPV genotyping by type-specific pcr and sequencing. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 105, n.1, p. 73-78, Feb. 2010. Disponível em: [http://www. Bioline.org.br/ pdf?oc10011](http://www.Bioline.org.br/pdf?oc10011). Acesso em: 12 maio 2022.

CHEN, B.; CLEJAN, S. Rapid preparation of tissue DNA from paraffin-embedded blocks and analysis by polymerase chain reaction. J Histochem Cytochem, v. 41, n. 5, p. 765-768, 1993.

CLARIVATE ANALYTICS. Journal Citation Reports Science. Clarivate Analytics, 2020. Disponível em: [https://jcr-clarivate.ez21.periodicos.capes.gov.br/jcr- jp/journal-profile?journal=PLOS%20ONE&year=2020&fromPage=%2Fjcr%2Fhome](https://jcr-clarivate.ez21.periodicos.capes.gov.br/jcr-jp/journal-profile?journal=PLOS%20ONE&year=2020&fromPage=%2Fjcr%2Fhome) Acesso em: 26 mai. 2022.

CORMAN, V. M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Eurosurveillance, v. 25, n. 3, p. 2000045, 2020.

DO CARMO, E. F. S.; FIORINI, A.. Principais técnicas moleculares para detecção do papilomavírus humano. Sabios-Revista de Saúde e Biologia, v. 2, n. 1, 2007.

FELIX, F. C. *et al.* Aplicações de marcadores issr em estudos de diversidade genética de *Pityrocarpa moniliformis*. Revista Caatinga, v. 33, n. 4, p. 1017-1024,

2020.

FERNANDES, L.; GARCIA, A.; CRUZ, P. Desenvolvimento desigual na era do conhecimento: a participação dos BRICS na produção científica e tecnológica mundial. *Contexto Internacional*, v. 37, n. 1, p. 215-253, 2015.

FINARDI, K. R.; GUIMARÃES, F. F. Internacionalização, rankingse publicações em inglês: a situação do Brasil na atualidade. *Estudos em Avaliação Educacional*, v. 28, n. 68, p. 600-626, 2017.

FRUEHWIRTH, M.; DELAI, R. M.; FOLHA, R. DE. A. Técnicas De Biologia Molecular Aplicadas A Perícia E Ciência Forense. *Derecho y Cambio Social*. p. 1-25.2015.

GRIFFITHS, A.J.F., WESSLER, S., LEWONTIN, R.C., CARROLL, S. Introdução a genética. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 800 p. 2009.

HAAS, D. J.; TORRES, A. C. D. Aplicações das técnicas de PCR no diagnóstico de doenças infecciosas dos animais. *Rev Científica de Medicina Veterinária*, v. 14, n. 26, 2016.

HEPP, D. *et al.* Análises de extrações de DNA: ponto de partida para aplicações biotecnológicas na área da biologia molecular. *ScientiaTec*, v. 7, n. 03, 2020.

HU, X. *et al.* Sequencing a specific kinetoplast DNA fragment of *Leishmania donovani* for polymerase chain reaction amplification in diagnosis of leishmaniasis in bone marrow and blood samples. *Journal of Parasitology*, v. 86, n. 4, p. 822-826, 2000.

ISOLA, J.; DE VRIES, S. CHU, L. *et al.* Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor samples. *Am J Pathol*, v. 145, n. 6, p. 1301-1308, Dec. 1994;

JUNG, D. W.; DOS SANTOS FILHO, J. E.; BORGES, M. S. Tensões no Mar do Sul da China. *Relações Internacionais Para Educadores*, v. 4, p. 37-55, 2017.

LACHAUD, L. *et al.* Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *Journal of clinical microbiology*, v. 40, n. 1, p. 210-215, 2002.

LEITÃO, H.; BORGES, M. M.; SIMÕES, M. G. Resumos Científicos em Saúde—Estudo exploratório de resumos de artigos das revistas *Nature* e *PLOS One*. VII Encontro Ibérico EDICIC 2015, 2015.

LIECHESKI, C.; FEDATTO, P. F.; DE FREITAS, F. A. Genética forense: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 5, n. 2, p. 6722-6742, 2022.

MALORNY, B. *et al.* Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. *International journal of food microbiology*, v. 83, n. 1, p. 39-48, 2003.

METZKER, M. L. Sequencing technologies - the next generation. *Nature Review Genetics*, 11, 31-46, 2010.

MOREIRA, P. S. C.; GUIMARÃES, A. J. R.; TSUNODA, D. F. Qual ferramenta

bibliométrica escolher? um estudo comparativo entre softwares. P2P e Inovação, v. 6, p. 140-158, 2020.

MULLIS, K. *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. In: Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 263-273, 1986.

OTTONICAR, S. L. C.; VALENTIM, M. L. P.; MOSCONI, E. Políticas públicas aplicadas à indústria 4.0: estudo comparativo entre o Brasil e o Canadá com foco na competência em informação. Revista Ibero-Americana de Ciência da Informação, v. 12, n. 2, p. 558-584, 2019.

POHL, G.; SHIH IE, M. Principle and applications of digital PCR. Expert Review Molecular Diagnostics, 4, 41-7, 2004.

REINHARDT, G. *et al.* Desenvolvimento e aplicações de vacinas gênicas no tratamento e prevenção de doenças. Revista Saúde e Desenvolvimento, v. 11, n. 7, p.245-261, 2017.

RODGERS, M. R.; POPPER, S. J.; WIRTH, D. F. Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of Leishmania. Experimental Parasitology, v. 71, n. 3, p. 267-275, 1990.

SAIKI, R. K. *et al.* Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science, v. 230, n. 4732, p.1350-1354, 1985.

SCHOCHETMAN, G.; OU, C.; JONES, W. K. Polymerase chain reaction. The Journal of infectious diseases, v. 158, n. 6, p. 1154-1157, 1988.

ScImago Journal & Country. Disponível em: <https://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=10600153309&tip=sid&clean=0>
Acesso em: 26 maio 2022.

SEPP, R.; SZABÓ, I.; UDA, H. *et al.* Rapid techniques for DNA extraction from routinely processed archival tissue for use in PCR. J Clin Pathol, v. 47, n. 4, p. 318-323, Apr. 1994.

SHENDURE, J.; JI, H. Next-generation DNA sequencing. NaturalBiotechnology, 26, p. 1135-45, 2008.

SINGH, N. *et al.* Diagnostic PCR with Leishmania donovani specificity using sequences from the variable region of kinetoplast minicircle DNA. Tropical medicine & international health, v. 4, n. 6, p. 448-453, 1999.

SPINAK, E. Indicadores cientiométricos. Ciência da Informação, Brasília, v.27, n. 2, p. 141-148, 1998.

TAGUE-SUTCKIFFE, J. An introduction to informetrics. Information Processing and Management. Oxford, v. 28, n. 1, p. 1-3, 1992;

TAN, C. *et al.* Applications of digital PCR in COVID-19 pandemic. View, v. 2, n.2, p. 20200082, 2021.

TORRES-FREIRE, C.; GOLGHER, D.; CALLIL, V. Biotecnologia em saúde humana no Brasil: produção científica e pesquisa e desenvolvimento. Novos estudos

ScientiaTec

CEBRAP, p. 69-93, 2014.

VAN ECK N. J.; WALTMAN, L. Software Survey: VOSviewer, a Computer Program for Bibliometric Mapping. *Scientometrics*, v84, n.2: 523–38, 2010.

ZOLET, A. C. T. *et al.* Marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 181 p. 2017.