

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL

Luã Alves Lopes Carneiro

**INFLUÊNCIA DAS DROGAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO
DE INSETOS NECRÓFAGOS DE INTERESSE FORENSE. UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.**

Florianópolis
2017

LUÃN ALVES LOPES CARNEIRO

**INFLUÊNCIA DAS DROGAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO
DE INSETOS NECRÓFAGOS DE INTERESSE FORENSE. UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Anicleto Poli.

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Carneiro, Luãn Alves Lopes

Influência das Drogas Sobre o Desenvolvimento de Insetos Necrófagos de Interesse Forense. Uma Revisão Bibliográfica / Luãn Alves Lopes Carneiro ; orientador, Anicleto Poli. Florianópolis, SC, 2017.

96 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Farmacologia.

Inclui referências

1. Farmacologia. 2. Entomologia Forense. 3. Entomotoxicologia. 4. IPM. I. Poli, Anicleto. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. V. Título.

Termo de aprovação

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela proteção nas estradas durante tantas as idas e vindas entre Blumenau e Florianópolis.

À família, pelo apoio.

À Aline, pelo carinho de sempre.

Ao Professor Anicleto, por ter aceitado o desafio de conduzir minha orientação.

Ao corpo docente da Universidade Federal de Santa Catarina e aos colegas de classe, por tanto conhecimento compartilhado.

RESUMO

A entomologia forense é uma área da ciência que órgãos de perícia ao redor do mundo dispõem para, a partir do conhecimento do ciclo de vida dos insetos, estimarem o intervalo decorrido após a morte. Todavia, o uso dessa ciência emergente vai além. Através da entomologia forense é possível identificar a vítima e responder a questões sobre como, onde e quando se deu a morte. Ademais, é possível utilizar os insetos como amostra biológica alternativa para identificação de medicamentos, drogas de abuso, além de outros agentes intoxicantes. O presente trabalho tem por escopo realizar uma revisão bibliográfica apontando os diversos usos da entomologia forense na resolução de óbitos em que se desconhece o momento de sua ocorrência. Além disso, também é utilizada como ferramenta na resolução de crimes, especialmente no que diz respeito à detecção de drogas nos insetos, os efeitos das drogas sobre os seus ciclos de vida, bem como aos respectivos métodos utilizados, algo que vem se mostrando cada vez mais útil, principalmente quando as matrizes biológicas convencionais, como sangue, urina e outros órgãos do corpo humano já não estão disponíveis, muitas vezes em função do elevado estado de decomposição do cadáver.

Palavras-chave: Entomologia Forense. Entomotoxicologia. IPM.

ABSTRACT

Forensic entomology is an area of science used to estimate the interval after death from the knowledge of the life cycle of insects. However, the use of this emerging science goes further. Through forensic entomology it is possible to identify the victim and answer questions about how, where and when death occurred. In addition, it is possible to use insects as an alternative biological sample for identification of medicines, drugs of abuse, and other intoxicants. The present work is a review that points out the various uses of forensic entomology, showing that it goes beyond the estimating of the time of death. It is also used as a tool in the resolution of crimes, especially to the detection of drugs in insects, the effects of these drugs on their life cycles, as well as on the respective methods used, what is quite useful, especially when conventional biological matrices such as blood, urine and other organs of the human body are no longer available, often because of the high decomposition status of the corpse.

Key-words: Forensic Entomology. Entomotoxicology. PMI

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEF - Associação Brasileira de Entomologia Forense
DL - Dose letal
DT - Dosagem terapêutica
EDDP - 2-etilideno-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolideno
FBI - *Federal Bureau Investigation*
FTIR - Microscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
FPIA - Imunoensaio de Fluorescência Polarizada
GDA - Graus-dia acumulados
GHA - Graus-horas acumulados
GC/MS - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas
HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IGP - Instituto Geral de Perícias
IPM - Intervalo Pós-Morte
LC - Cromatografia Líquida
LLE - Extração Líquido-Líquido
LC/MS - Cromatografia Líquida acoplada a Espectrômetro de Massas
MDA - metileno-dioxi-anfetamina
MDMA - 3,4-metileno-dioxi-metanfetamina
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
PCR - Reação em Cadeia da Polimerase
RIA - Radioimunoensaio
SPE - Extração em Fase Sólida
TLC - Cromatografia em Camada Delgada
THC - delta-9-tetra-hidrocanabinol
THCA - ácido tetrahidrocanabinólico
UPLC-MS/MS - Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrômetro de Massas
UV - Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de vida dos insetos.....	40
Figura 2 – Coleta de insetos para fins forenses.....	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. METODOLOGIA.....	27
3. DISCUSSÃO.....	29
3.1. Aplicabilidade da Entomologia Forense.....	29
3.1.1. Intervalo pós-morte.....	29
3.1.2. Forma como a morte ocorreu.....	33
3.1.3. Movimentação do corpo após a morte.....	34
3.1.4. Detecção de fragmentos de DNA.....	34
3.1.5. Negligência com menores e idosos.....	36
3.2. Entomotoxicologia Forense.....	37
3.2.1. FÁRMACOS DE MAIOR INTERESSE FORENSE.....	47
3.2.1.1. AMITRIPTILINA.....	47
3.2.1.2. BENZODIAZEPÍNICOS.....	49
3.2.1.3. CODEÍNA.....	52
3.2.1.4. FENOBARBITAL e TIOPENTAL.....	53
3.2.1.5. FLUOXETINA.....	54
3.2.1.6. METADONA.....	55
3.2.1.7. MORFINA.....	56
3.2.1.8. PARACETAMOL.....	58
3.2.2-DROGAS DE ABUSO.....	59
3.2.2.1. ANFETAMÍNICOS.....	59
3.2.2.2. COCAÍNA.....	61
3.2.2.3. ETANOL.....	63
3.2.2.4. FENCICLIDINA.....	63
3.2.2.5. HEROÍNA.....	64

3.2.2.6. KETAMINA.....	64
3.2.2.7. MACONHA.....	65
3.2.2.8. NICOTINA.....	66
3.2.3-PESTICIDAS.....	67
3.2.3.1. MALATHION.....	67
3.2.3.2. PARAQUAT.....	69
3.2.3.3. PARATHION.....	69
3.2.3.4. PROPOXUR.....	70
3.2.4-METAIS.....	70
3.2.5-OUTROS FÁRMACOS.....	71
3.2.5.1. ANTIBIÓTICOS.....	71
3.2.5.2. ESCOPOLAMINA.....	73
3.2.5.3. ESTEROIDES.....	74
3.2.6. Rastreamento de drogas relacionadas ao gráfico de entorpecentes.....	76
4. CONCLUSÃO.....	77
5. REFERÊNCIAS.....	79
6. APÊNCICE.....	95

1. INTRODUÇÃO

A entomologia forense é uma área da ciência que órgãos de perícia ao redor do mundo dispõem para estimar o intervalo decorrido da morte até o encontro do cadáver, a partir do conhecimento do ciclo de vida dos insetos. Entretanto, através da entomologia forense também é possível identificar a vítima e responder a questões sobre como, onde e quando se deu a morte. Ademais, é possível utilizar os insetos como amostra biológica alternativa para detecção de medicamentos, drogas de abuso e outros toxicantes, além da recuperação de DNA (OLIVEIRA-COSTA, 2008).

Segundo LORD e STEVENSON (1986), a entomologia forense pode ser aplicada em três áreas, até então documentadas:

- urbana: relativa às ações cíveis envolvendo a presença de insetos em bens culturais, imóveis ou estruturas, em que os insetos de maior interesse são aqueles do ambiente humano, como as baratas e os cupins;
- de produtos comerciais estocados, sejam cereais, mantimentos, bebidas, medicamentos etc, contaminações estas que podem variar de pequena a grande extensão;
- médico-legal, que está relacionada com o estudo dos insetos no âmbito da perícia legal.

Nos dois primeiros exemplos – entomologia urbana e de produtos comerciais estocados –, a principal função do entomologista é temporal. Ou seja, estimar quando ocorreu a infestação do bem imóvel, ou dos produtos comerciais estocados, a fim de dar ganho de causa a uma das partes envolvidas. Trata-se, portanto, de áreas eminentemente cíveis.

Já a Entomologia Médico-Legal é um amplo campo em que a ciência dos artrópodes e o sistema judiciário interagem. Os artrópodes são o maior e mais diverso grupo zoológico, dividindo diversos habitats com o homem. Sendo assim, estão geralmente associados às mais diversas atividades diárias, entre as quais se incluem as cenas de crime, podendo, assim, ser utilizados a fim de nortear determinadas investigações criminais (BENECKE, 2001).

É importante ressaltar que, depois dos fungos e das bactérias, os insetos constituem os mais importantes decompositores de cadáveres

animais e/ou humanos, alimentando-se e se reproduzindo na carcaça, de acordo com sua biologia e com o estágio de decomposição do cadáver (MOURA *et al.*, 1997; BENECKE, 2004). Além do mais, a presença ou a ausência dos artrópodes representa um fator que gera uma grande diferença na evolução do processo de decomposição (PAYNE, 1965). LORD & GOFF (1990) verificaram que carcaças expostas, sem nenhuma proteção, perderam cerca de 90% de seu peso em uma semana. Já as carcaças cobertas e protegidas contra a ação dos insetos secaram progressivamente, até se tornarem mumificadas, em um intervalo de tempo maior do que cem dias. A matéria orgânica dos cadáveres serve para os insetos como fonte alimentícia, como local para cópula e como sítio de oviposição.

A Entomologia Médico Legal é, então, o estudo dos insetos e de outros artrópodes associados a cadáveres e suas diversas contribuições para as investigações criminais (SMITH, 1986; CATTS & GOFF, 1992; OLIVEIRA-COSTA, 2003; AMENDT *et al.*, 2007; PUJOL-LUZ *et al.*, 2008). Sua aplicação mais conhecida e aceita dentro do grupo de cientistas forenses é aquela que permite a estimativa do intervalo pós-morte (IPM), seja através do desenvolvimento dos dípteros no cadáver após o óbito, ou pela previsão da sequência na sucessão da fauna dos artrópodes (CATTS & GOFF, 1992).

Apesar de emergente, a entomologia não é uma ciência nova. Seu primeiro uso data de meados do século XIII, na China, conforme é narrado no manual chinês forense e de medicina legal – o mais antigo que se tem conhecimento – *The Washing Away of Wrongs*, em que policiais investigavam um homicídio ocorrido na zona rural, perpetrado por objeto cortocundente. Foi solicitado aos trabalhadores que depositassem suas ferramentas laborais no chão e, após alguns instantes, moscas começaram a pousar sobre uma das foices, na qual foram constatados vestígios de sangue. Posteriormente, quando interrogado, o dono do instrumento confessou a autoria do crime (KOBILINSKY, 2012; SANTANA, 2012).

A literatura especializada em entomologia forense aponta que a primeira utilização dos insetos para determinar o IPM foi em Paris, em 1855, pelo médico francês Louis François Étienne Bergeret, quando foi procedida à necropsia de um cadáver de uma criança encontrada sob o piso de uma residência, oculta por uma camada de gesso. Em função da sucessão da fauna encontrada e do estágio de decomposição do cadáver, ele concluiu que a morte ocorreu há alguns anos, inocentando os novos

moradores da residência, inicialmente principais suspeitos, e culpando os inquilinos anteriores, que vieram a confessar o assassinato (OLIVEIRA-COSTA, 2008; SANTANA, 2012).

A entomologia forense tornou-se mundialmente conhecida com a primeira publicação na área, o trabalho *La faune des cadavres*, do veterinário francês Jean Pierre Mégnin. Em sua obra, ele divide o grupo dos insetos que visita o cadáver em oito ondas de artrópodes, evidenciando que a sucessão das espécies ocorre de forma previsível, de acordo com o estágio de decomposição (OLIVEIRA-COSTA, 2008; SANTANA, 2012).

Em 1890, F. M. Webster realizou estudos a partir do desenvolvimento de *Conicera* sp. em uma vítima de envenenamento por arsênio, que estava enterrada há cerca de dois anos. Apesar de não ter relacionado diretamente suas observações com a entomologia forense, Webster constatou anormalidades nas moscas que se criaram em tecidos contaminados com esse metal (KOBILINSKY, 2012).

No Brasil, os primeiros relatos de estudo da entomologia forense que se têm conhecimento são de Oscar Freire, em 1908, quando, através do pesquisador, a Sociedade Médica da Bahia teve conhecimento da primeira coleção de insetos necrófagos, obtida através de estudos feitos em cadáveres humanos e pequenos animais. Ainda em 1908, Roquette-Pinto publicou o seguinte trabalho: “Nota sobre a fauna cadavérica no Rio de Janeiro”. Seus estudos foram embasados em cadáveres humanos. Essas primeiras pesquisas levaram os cientistas a observar a grande diversidade da fauna de insetos necrófagos nos trópicos. Sendo assim, torna-se muito mais complexa a aplicação direta, aqui no Brasil, dos métodos de sucessão cadavérica desenvolvidos na Europa, como aquele do veterinário francês Mégnin (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008).

Além de Freire e Roquette-Pinto, entre os anos de 1911 e 1941, outros cientistas realizaram pesquisas na área. Podem-se citar os pesquisadores Herman Lüderwaldt, Samuel Pessoa e Frederico Lane, cujos trabalhos consistiram especialmente na descrição da fauna de besouros escarabeídeos necrófagos do estado de São Paulo. Seus achados corroboraram a grande diversidade dos insetos necrófagos nos trópicos (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008).

A falta de profissionais especializados em entomologia forense, somada ao distanciamento desses poucos profissionais dos peritos

criminais oficiais, deixou essa seara da ciência esquecida por muitos anos. Com a publicação de *Entomology and Legal Medicine*, LECLERCQ (1969), e posteriormente *A Manual of Forensic Entomology*, Smith (1986), seu interesse foi retomado (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008).

O uso da entomologia forense é muito amplo. No que diz respeito aos exames periciais realizados em locais de morte, é possível, a partir dessa ferramenta forense, prestar esclarecimentos quanto à identidade da vítima, ao lugar onde a morte ocorreu, se o cadáver foi movimentado após a morte, a indicação de ferimentos ocorridos antes do óbito e até mesmo como a morte foi perpetrada. Ademais, os artrópodes também podem ser utilizados como amostra biológica alternativa para detecção de diversos agentes toxicantes, subcampo conhecido como entomotoxicologia (BYRD & CASTNER, 2010).

A determinação de substâncias tóxicas ocorreu pela primeira vez em um estudo realizado por NUORTEVA (1977), em que foram detectadas as concentrações de mercúrio através da análise de larvas que se alimentavam de um cadáver. As baixas concentrações de mercúrio encontradas acabaram por nortear a investigação, no sentido de determinar a região geográfica à qual pertencia a vítima, uma região quase isenta de contaminação pelo metal pesado.

BEYER *et al.*, (1980), por sua vez, foram os primeiros a propor o uso dos insetos como amostra biológica alternativa para a detecção de drogas. Tratava-se de um caso de suicídio de uma mulher com problemas mentais e já com múltiplas tentativas de autoextermínio reportadas. Seu corpo, já em elevado estado de decomposição, foi encontrado 14 dias após seu desaparecimento. Não havia fluídos biológicos, tampouco órgãos e tecidos para realização das análises toxicológicas convencionais. Sendo assim, foram coletadas para análise larvas da mosca *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) encontradas em seus restos. Procedidos aos exames empregando técnicas de Cromatografia Gasosa (GC) e de Cromatografia em Camada Delgada (TLC), obtiveram-se resultado positivo para fenobarbital em ambas as análises, estabelecendo-se um diagnóstico diferencial da morte por suicídio, através de overdose desse fármaco.

O termo entomotoxicologia foi usado pela primeira vez em 1994 para descrever essa interação entre a entomologia, a ciência forense e a toxicologia. Trata-se de um conjunto de métodos

extremamente úteis, especialmente em casos como o exemplo supracitado, em que o cadáver se encontra em elevado estado de decomposição, prejudicando eventuais análises que seriam feitas em amostras biológicas tradicionalmente usadas em exames toxicológicos, tais como sangue, urina, órgãos internos etc. (KOBILINSKY, 2012).

CAMPOBASSO *et al.* (2004) realizaram um estudo comparativo, em que foram tomadas amostras do fígado em dezoito casos nos quais um *screening* toxicológico preliminar indicava a presença de drogas. Ademais, foi feita análise toxicológica usando *Online Abuscreen* (Roche) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (GC/MS) para os fluidos biológicos (sangue, urina e bile). Paralelamente, larvas de mosca (Diptera: Calliphoridae) foram criadas se alimentando dessas amostras de fígado e posteriormente analisadas a fim de tentar identificar as respectivas drogas: morfina, cocaína, fenobarbital, clomipramina, amitriptilina, nortriptilina, levomepromazina, tioridazina. Todas as drogas analisadas pelos exames toxicológicos convencionais foram também detectadas nas análises das larvas de forma qualitativa.

É importante ressaltar que os agentes toxicantes aos quais os insetos necrófagos ficam expostos quando se alimentam de cadáveres contaminados podem alterar os padrões de colonização do cadáver pelas moscas, os padrões de oviposição, assim como as taxas de desenvolvimento dos insetos. Como o IPM se baseia justamente nessa taxa de desenvolvimento, equívocos podem ocorrer em sua estimativa, se esses dados não forem levados em consideração (GOFF, 1993). Isso, por sua vez, pode ter uma repercussão extremamente negativa em um processo de investigação criminal.

Hoje em dia, a aplicação da entomologia forense tornou-se rotina, especialmente na América do Norte e na Europa, onde muitas pesquisas têm sido feitas nessa área (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008). Em 2005, foi criada nos Estados Unidos a *North American Forensic Entomology Association*, a fim de fornecer um fórum científico e profissional para entomologia forense. Ademais, os principais centros de investigação do mundo, como o *Federal Bureau Investigation* (FBI), contam com entomologistas forenses.

Vale destacar que eventuais vestígios entomológicos podem ser coletados por peritos criminais que realizam o levantamento inicial em

um local de crime, desde que sejam devidamente preparados para tal e que disponham do aparato necessário para o trabalho. Entretanto, os exames subsequentes a serem realizados, como, por exemplo, a identificação acurada de um determinado inseto, dependerá de um entomologista experiente e de um laboratório de entomologia forense (CATTS e HASKELL, 1991).

No Brasil, a publicação do livro “Entomologia Forense - Quando os Insetos São Vestígios”, no ano de 2003, por Janyra Oliveira-Costa trouxe uma compilação das literaturas nacional e internacional, apresentando um grande arcabouço teórico, e ajudando a uniformizar a linguagem entre o pesquisador e o perito criminal (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008). Em 2006, o Ministério da Justiça, através da Diretoria Técnico-Científica do Instituto Nacional de Criminalística, da Polícia Federal, publicou uma cartilha intitulada: “COLETA DE AMOSTRAS DE INSETOS PARA FINS FORENSES”, trazendo um Procedimento Operacional Padrão para coleta de insetos em locais de crime, além de alguns termos em entomologia forense. Em 2007, foi criada a Associação Brasileira de Entomologia Forense (ABEF), sediada em Campinas/SP, que, em seu site (<http://www.rc.unesp.br/ib/zoologia/abef/>), acessado dia 11/09/2016, traz os seguintes objetivos:

1. Congregar as pessoas interessadas no desenvolvimento de estudos e pesquisas na área entomológica no que concerne ao campo forense;
2. Auxiliar a promover estudos de levantamentos da fauna de insetos e outros artrópodes de interesse para a área em questão em âmbito nacional;
3. Incrementar a formação e o reconhecimento do entomologista forense e das técnicas por ele aplicadas;
4. Promover a normatização dos procedimentos utilizados pelo entomologista forense;
5. Representar a comunidade de entomologistas forenses brasileiros em âmbito nacional e internacional;
6. Promover e realizar encontros regionais, nacionais e/ou internacionais;
7. Promover a divulgação do conhecimento sobre esta especialidade;

8. Assessorar e aconselhar entidades oficiais, particulares ou a sociedade civil no que concerne ao desenvolvimento de estudos de entomologia forense, nas suas diversas subáreas e/ou especialidades;
9. Reivindicar junto aos órgãos competentes, públicos ou privados e autoridades constituídas, a atenção para a prática e exercício desta especialidade.

No Instituto Geral de Perícias (IGP), órgão responsável pela realização de perícias oficiais no estado de Santa Catarina, não se dispõe de entomologista forense. Em 2014, foi estabelecido um Acordo de Cooperação Técnica entre o IGP e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), que tem por objetivo a soma de esforços das duas instituições, a fim de propiciar avanços no conhecimento sobre a estimativa do IPM, com base na utilização dos insetos encontrados em cadáveres humanos, para posterior utilização pelos peritos criminais do IGP em seus laudos periciais. Entretanto, dentro do IGP, ainda não se tem relatos do uso da entomotoxicologia forense, ou seja, do uso dos insetos como amostra biológica alternativa para detecção de drogas.

Apesar dessas e de tantas outras utilidades da entomologia forense, conforme será discutido de maneira pormenorizada neste trabalho, sabe-se que, no contexto da perícia brasileira, esta ainda é uma ferramenta subexplorada. Sendo assim, faz-se necessária a realização de uma revisão bibliográfica que vise a elencar suas diversas utilidades na elucidação de crimes, o que, por sua vez, pode despertar o interesse público para que investimentos em pesquisa sejam realizados nessa área.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho se trata de uma revisão narrativa da literatura (CORDEIRO, 2007), com uma abordagem crítica, tendo em vista o serviço prestado pelo IGP no estado de Santa Catarina, partindo-se dos principais objetivos de uma perícia, quais sejam: materializar delitos e, a partir dos vestígios deixados em uma cena de crime, também trazer à autoridade policial respostas no que diz respeito a autoria e outros eventos circunstanciais de interesse criminalístico.

Para tal, buscou-se diversos estudos científicos publicados em vários lugares do mundo nas áreas entomologia, toxicologia e, especialmente, entomotoxicologia. Foi feito um exaustivo levantamento nas bases de dados científicos do Google Acadêmico, *Nacional Center for Biotechnology Information*, PubMed, Scielo e *Science Direct*, além de livros textos especializados em entomologia e toxicologia forense.

A produção científica sobre entomologia forense foi analisada de maneira crítica, com foco direcionado à entomotoxicologia forense, mais precisamente sobre a identificação de substâncias químicas nos insetos necrófagos de interesse forense, bem como sobre os efeitos desses agentes tóxicos sobre o ciclo de vida dos referidos insetos e as possíveis consequências desses efeitos sobre uma investigação criminal.

Secundariamente, foram feitos estudos sobre a entomologia forense, sua história, outras aplicações diversas, suas limitações e perspectivas futuras.

3. DISCUSSÃO

A presente revisão bibliográfica foi feita a partir da rotina do IGP no estado de Santa Catarina, buscando-se trazer em evidência quesitos importantes no curso de uma investigação criminal, tais como: o IPM; a forma como a morte ocorreu; se houve, ou não, movimentação do cadáver após a morte; a detecção de fragmentos de DNA que ajudem a identificar o autor de um delito, ou mesmo a vítima; eventuais processos de negligência ou maus tratos com menores de idade ou idosos.

No que diz respeito à revisão acerca da entomotoxicologia forense, houve uma abordagem empírica. Sendo assim, foram pesquisados estudos sobre substâncias químicas usualmente detectadas em material biológico coletado de vítimas de crimes violentos, em que são procedidas análises toxicológicas no Instituto de Análises Forenses, subordinado a este IGP, a fim tentar entender melhor as circunstâncias de um crime. Assim, foram feitos estudos sobre alguns fármacos, drogas de abuso, pesticidas, herbicida e metais pesados. Ademais, também se incluiu nesta revisão um estudo que ajuda a identificar a origem de drogas de abuso a partir dos fragmentos de insetos encontrados no material apreendido.

3.1. Aplicabilidade da Entomologia Forense

3.1.1. Intervalo pós-morte

Uma estimativa acurada do IPM é muito importante nas investigações criminais, especialmente em casos de morte suspeita, a fim de determinar eventos circunstanciais da morte, de conectar um eventual suspeito ao local de crime, ou mesmo a vítima ao possível local de óbito. Através da estimativa do intervalo transcorrido após a morte, também é possível ratificar ou afastar álbis, além de verificar a veracidade das informações dadas pelas testemunhas. Ademais, para fins de herança, já na seara cível, o IPM também pode ser aplicado em diversos casos de morte, seja natural, acidental ou por suicídio (GREENBERG, 2002).

O diagnóstico cronológico da morte, do ponto de vista médico-legal, é determinado tendo em vista as fases de decomposição do cadáver, a partir do momento em que se verificou o óbito, sendo documentados diversos fenômenos cadavéricos. Por exemplo, o esfriamento do cadáver, os livores de hipóstase, a rigidez cadavérica, o aparecimento da mancha verde abdominal, a análise do conteúdo estomacal, entre outros. Todavia, a marcha da morte depende de diversos fatores, tais como idade, compleição física, *causa mortis*, presença ou ausência de vestes, se está submerso e se essa água é parada ou corrente etc. Torna-se, então, de extrema complexidade a determinação exata do IPM (FRANÇA, 2011).

Utilizando-se das técnicas médico-legais, o tempo decorrido após a morte pode ser medido com eficácia de apenas dois ou três dias após o óbito. Já a partir do cálculo da idade/tempo dos estágios imaturos dos insetos necrófagos, bem como a partir da sucessão dessas espécies presentes no cadáver, o IPM pode ser estimado desde um dia até várias semanas (AMENDT *et al.*, 2004).

A entomologia forense subsidia, então, com propriedade essa limitação da medicina legal. Para estimar o IPM, utilizando-se dos insetos necrófagos como evidência, devem-se levar em conta que os insetos, em especial as moscas, são os primeiros a chegar ao cadáver. Segundo BURKPILE *et al.* (2006), a morte é seguida por um processo de decomposição dos constituintes orgânicos do corpo – os lipídios, carboidratos e proteínas –, que começam a ser degradados pela microbiota interna, anteriormente mantida em equilíbrio pelo sistema imunológico. Essa degradação dá origem a derivados líquidos e voláteis, que são detectados pelos adultos a longas distâncias. A presença de compostos ricos em amônia, ou mesmo os ferormônios e estímulos táteis, levam à oviposição dos insetos, quando de encontro ao cadáver (ASHWORTH e WALL, 1994). Uma carcaça pode ser utilizada como fonte de nutrição ou substrato para oviposição das formas imaturas (NORRIS, 1965).

Uma das maneiras de se estimar o IPM, especialmente útil nos processos iniciais da decomposição, é com base no inseto que se encontra no estágio de desenvolvimento mais avançado no cadáver (SMITH, 1986). Esses insetos mais desenvolvidos são coletados e criados até a fase adulta em condições controladas de temperatura e

umidade, a fim de proceder à identificação de sua espécie e estimar a sua idade, por meio da aplicação do cálculo do graus-dia acumulado (GDA)(OLIVEIRA-COSTA, 2008).

Através do modelo GDA – método linear mais aceito para o cálculo do IPM –, pode-se relacionar o tempo que determinado inseto demora a se desenvolver, sob determinada temperatura a qual foi submetido. Através da multiplicação dessas variáveis, é possível calcular a quantidade de energia ou calor acumulado que o inseto demanda para completar as respectivas etapas do seu ciclo de vida. Para tal, deve-se conhecer precisamente a espécie do inseto e seu ciclo de vida, o que deve ser feito por um entomologista forense bem treinado, além de valores de temperatura e fatores ambientais (OLIVEIRA-COSTA, 2008).

Outro método de estimativa do IPM, bastante útil especialmente em casos de putrefação avançada, leva em conta que cada momento da putrefação cadavérica oferece condições e características próprias que atraem um determinado grupo de insetos e, conseqüentemente, a sucessão ecológica das espécies ocorre seguindo um determinado padrão, como já havia sido notado pelo veterinário francês Jean Pierre Mégnin (CATTS e GOFF, 1992).

Sendo assim, o que se observa na prática é uma substituição e/ou adição das espécies, que pode ocorrer de maneira gradual ou abrupta (NUORTEVA, 1977; WATANABE, 1985; SMITH, 1986). Os insetos adultos são observados na carcaça nos cinco estágios de decomposição (BORNEMISSZA, 1957). Todavia, há diversas espécies que visitam o cadáver somente em alguns estágios específicos (GODDARD & LAGO, 1985; CARVALHO *et al.*, 2004). Tendo em vista a competição que surge, seja pelo alimento ou pelo habitat, as diferentes famílias e espécies só conseguem coexistir no ambiente da carcaça, em razão de cada uma apresentar estratégias diferentes para utilizar daquele recurso (DENNO e COTHRAN, 1975).

É importante ressaltar que, conforme já observado por Freire, Roquete-Pinto e outros pioneiros de pesquisa em entomologia forense no Brasil, essa sucessão nos trópicos é algo que ainda demanda bastante estudo, tendo em vista a elevada biodiversidade. Dois estudos pioneiros em Santa Catarina demonstram a dimensão dessa biodiversidade.

Em um estudo realizado por JUK (2013), por exemplo, foi feito levantamento da fauna cadavérica de artrópodes em carcaça de suíno em ambiente silvestre com vegetação de restinga em Florianópolis/SC. A pesquisa foi procedida nos meses de outono e inverno de 2012. Foram coletados 532 espécimes de artrópodes adultos, com maior abundância para a classe Insecta (99,25% do total). As ordens mais abundantes foram Diptera, Hymenoptera e Coleoptera, tendo uma representação significativa da espécie Diptera muscida *Ophyra aenescens*. Dentre os califorídeos, as espécies mais representativas foram *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala*.

Em outro estudo foi conduzido por GAEDKE e MOUGA (2014), analisada a entomofauna de quatro cadáveres atendidos pelo Instituto Médico Legal de Joinville/SC. Em um corpo, que estava na fase fresca da decomposição, foram encontradas três espécimes; em outro cadáver, que estava na fase gasosa, havia oito espécimes; e em outras duas vítimas analisadas já na fase de deterioração, havia 26 insetos. No total, foram 37 exemplares, dos quais 22 eram dípteros, 12 coleópteros e 03 himenópteros.

BENECKE (2004) levanta uma questão de terminologia. Segundo o autor, o IPM não seria uma estimativa de intervalo de morte, uma vez que a morte pode ter ocorrido sem a possibilidade de acesso do cadáver aos insetos. Sendo assim, ele aponta como mais apropriado o termo “intervalo de colonização”.

Destaca-se que o uso dessa ciência, ainda emergente, vai além. A partir da entomologia forense é possível identificar a vítima, responder a questões sobre como, onde e quando a morte ocorreu, além de realizar um diagnóstico diferencial da morte, ou seja, se foi natural, acidental ou criminal (OLIVEIRA-COSTA, 2008).

3.1.2. Forma como a morte ocorreu

A presença de lesões, traumas e/ou extravasamento de sangue atrai imediatamente insetos adultos, uma vez que são locais ideais para postura dos ovos e desenvolvimento das larvas. Além do mais, a presença dos insetos, bem como a quantidade de insetos presentes, torna o processo de decomposição mais ou menos rápido. O raciocínio inverso é verdadeiro, ou seja, em cadáveres cujo acesso dos insetos é dificultado de alguma forma, observa-se um processo de decomposição mais lento (MANN *et al.*, 1990).

OLIVEIRA-COSTA *et al.* (2001), em um estudo conduzido no Brasil, verificaram que em 97% dos corpos em que havia extravasamento sanguíneo obteve-se coleta de insetos. Outros fatores também foram avaliados, como a presença ou ausência de vestimenta ou cobertura, o que não se mostrou significativo; bem como as condições climáticas e o tipo de ambiente (interno ou externo), que se mostraram significativos para a colonização do cadáver.

Outro fator que deve ser levado em conta durante uma investigação criminal é que baratas, formigas e outros animais podem produzir lesões abrasivas na pele que, se mal interpretadas, podem ser confundidas, por exemplo, com sinais de envenenamento (ácido sulfúrico) ou orifícios causados por violência (KLINGELHOFFER, 1898 in BENECKE, 2004). Outro exemplo clássico são artrópodes aquáticos, principalmente pequenos crustáceos, que podem produzir pequenas lesões da pele de partes do corpo que ficam expostas quando submersas.

Ferimentos provocados por disparo de arma de fogo podem variar bastante em função da arma utilizada, da distância do tiro, do tipo de munição e da localização do ferimento. Podem apresentar sinais característicos, como orla de escoriação, halo de enxugo, zonas de tatuagem e esfumaçamento, etc. que, conjuntamente, oferecem elementos técnicos para determinar a distância do tiro, além de vestígios para se afirmar que se trata de um disparo de arma de fogo. Todavia, à medida que o tempo passa, em função dos processos de decomposição, esse ferimento pode ser confundido com uma lesão provocada por arma branca, tais como facas, canivetes, punhais, entre outros. Assim, a entomologia forense pode ser usada para embasar como a morte foi

provocada, a partir da detecção de resíduos de disparo de arma de fogo nas larvas que se alimentaram do corpo, tais como chumbo, bário e antimônio, por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (LAGOO *et al.*, 2010).

3.1.3. Movimentação do corpo após a morte

Tendo em vista que algumas espécies têm distribuição geográfica e habitat específicos, a presença de determinadas espécies de insetos pode indicar a movimentação do corpo após o óbito. Da mesma forma, a ausência de insetos em situações em que eles deveriam estar presentes é uma evidência de que o corpo foi movimentado, ou pelo menos teve o acesso aos insetos restringido durante algum intervalo de tempo após a morte (SMITH, 1986).

Certas espécies de insetos são típicas de centros urbanos. Sendo assim, a associação dessas espécies a corpos encontrados no meio rural sugere que a vítima tenha sido morta na cidade e o cadáver ocultado no meio rural (CATTS e HASKELL, 1991).

3.1.4. Detecção de fragmentos de DNA

Os insetos necrófagos se alimentam do corpo humano em decomposição. Sendo assim, conforme foi demonstrado por DADOUR *et al.* (2003), é possível obter tecidos da vítima no tubo digestivo do inseto, do qual pode ser feita extração de DNA e, por conseguinte, a identificação da vítima.

CAMPOBASSO *et al.* (2005) citam diversas situações em que a recuperação de DNA do intestino das larvas seriam úteis em investigações criminais, tais como em casos de remoção de restos do cadáver de um local suspeito de ser uma cena de crime, ou em casos em que há divergências quanto à idoneidade da cadeia de custódia. A recuperação do DNA através das moscas está associada ao inseto e sua última refeição – no caso, o cadáver. Geralmente, para identificação de tecido humano já bastante degradado pelo processo de putrefação, a técnica de análise do DNA mitocondrial (mtDNA) se faz muito útil, em

razão do elevado número de cópias por célula. Requer somente o DNA padrão de confronto materno.

CARVALHO *et al.* (2005) realizaram um estudo em que fígado fresco de ovelha com algumas gotas de sangue foram colocados em gaiolas. Posteriormente, larvas de *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) foram transferidas para esse local, com a disponibilidade de aproximadamente 1 grama de fígado de ovelha fresco por larva. Cerca de 20 larvas foram amostradas em cada período de desenvolvimento, desde larvas do primeiro instar até o terceiro dia de pupa, já seguidos 11 dias após a oviposição. Posteriormente, as larvas foram mortas. Utilizando-se de água fervente e etanol, as larvas foram descontaminadas, a fim de assegurar que o DNA examinado não era oriundo do contato da superfície do inseto em movimentação no substrato, mas sim em razão da alimentação dos necrófagos. Foi coletado material do trato digestivo dos insetos e fragmentos de DNA com 197 e 87 pares de bases, que foram isolados e amplificados através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os fragmentos de DNA de ovelha foram detectados em todos os estágios imaturos, até 2 dias após a pupariação. Não se logrou êxito na detecção no terceiro dia de pupa, quando não foi possível obter amostra de DNA, que já havia sido degradado. O desenvolvimento de novos *primers*, que permitam a amplificação de fragmentos menores de DNA, talvez possa permitir a detecção em fases posteriores do desenvolvimento.

CHAMOUN (2011) fez um estudo a fim de recuperar DNA do conteúdo gastrointestinal de larvas de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). O trabalho foi direcionado para a identificação de DNA Y-STR, presente no sêmen, o que é especialmente útil em casos de crimes como estupro e/ou violência sexual, em que a vítima é encontrada em óbito e já em processo de decomposição.

Os estudos consistiram na criação de larvas de *C. albiceps* em substratos de carne em decomposição contendo sêmen humano, para recuperação e identificação de DNA. Verificou-se possível a obtenção de material genético humano passível de amplificação por processo de PCR para Y-STR, a partir de amostras provenientes do trato digestivo de imaturos dos dípteros (larvas e pupas). Os resultados permitiram estabelecer um haplótipo com alelos amplificados em 15 locais, os quais foram compatíveis com o haplótipo de referência.

Destaca-se que, no dia a dia da prática pericial, a recuperação de vestígios de sêmen na vagina e/ou no ânus de vítimas em casos em que o cadáver já se encontra em médio a avançado estágios de putrefação é extremamente complexo, dada a degradação a que os vestígios biológicos ficam sujeitos. Sendo assim, o trabalho desenvolvido por Chaumon (2011) apresenta grande utilidade na produção de prova material, especialmente no que diz respeito à materialização do estupro e à produção de autoria com uma prova robusta: o DNA.

3.1.5. Negligência com menores e idosos

BENECK & LESSIG (2001) realizaram um estudo em que foi possível, através da entomologia forense, estimar não apenas o IPM, mas também o tempo que uma criança encontrada morta foi negligenciada. Na superfície da pele da vítima, mais precisamente na área anal-genital, sob a fralda, larvas de terceiro estágio de desenvolvimento de *Muscina stabulans* (Fallén) (Diptera: Muscidae) e de *Fannia canicularis* L. (Diptera: Muscidae) foram encontradas. Adultos de *F. canicularis* são atraídos por fezes e urina. Larvas da mosca varejeira *Calliphora vomitoria* (L.) (Diptera: Calliphoridae) foram coletadas da face. Larvas de *C. vomitoria* são tipicamente os primeiros habitantes de cadáveres.

A partir do tempo de desenvolvimento dos insetos, estimou-se que a área anal-genital da criança não tinha sido higienizada durante aproximadamente 14 dias, com um intervalo possível de 7 a 21 dias. Calculou-se, ainda, um IPM de 6 a 8 dias antes da descoberta do corpo. Sendo assim, ficou comprovada a negligência pelos responsáveis legais da criança antes de sua morte. Os autores desse estudo chamaram a atenção para a importância de uma boa amostragem dos insetos, seja no local de crime, ou no corpo da vítima propriamente dito, bem como a devida documentação de todos os objetos de análise forense, seja através de fotos e/ou vídeos.

BENECKE *et al.* (2004) trazem à tona casos em que o uso da entomologia forense ajudou a entender melhor as circunstâncias da morte, em situações de negligência para com idosos antes do óbito. Seus estudos levam em consideração que as feridas de pessoas vivas são um

alvo em potencial para as mesmas moscas que se alimentam de cadáveres. Isso pode levar a complicações na estimativa do IPM, mas também permite obter informações adicionais que podem ser valiosas durante as investigações, ou mesmo em um tribunal. A entomologia forense permite obtenção de informações de grande valia em casos de abandono dos idosos, seja com ou sem o uso de violência. Isso é especialmente importante, tendo em vista o aumento da expectativa de vida da população, levando ao aumento da negligência dos cuidadores, seja no âmbito profissional, ou pessoal.

Em um dos casos trazidos neste estudo, verificou-se o óbito de uma idosa na Alemanha, cujo apartamento estava bastante desordenado, embora sem a presença de matéria orgânica em decomposição. Sobre seu cadáver, os seguintes insetos foram encontrados: larvas de moscas de *F. canicularis*, larvas de moscas de *Muscina stabulans*, e besouros *Dermestes lardarius*. A presença de *F. canicularis* frequentemente está associada a fezes e urina, em casos de negligência. Além do mais, corroborando a negligência, foram verificadas lesões sobre a pele, com pontos de pressão sobre o pescoço e o peito, levando a formação de escaras, enquanto a vítima ainda estava viva. Foi também relatada a presença de pupas. Todavia, como não foram verificados ovos, tampouco larvas nas regiões dos olhos, nariz ou orelhas, essas pupas foram associadas a uma infestação *pré-mortem*. O filho da mulher foi acusado de negligência. Ele alegou que teria alimentado a mãe na noite anterior ao óbito, e disse às autoridades que ela estava bem, o que, entretanto, foi desmentido por todo arcabouço entomológico levantado pelos peritos.

3.2. Entomotoxicologia Forense

Os insetos necrófagos da ordem Diptera e/ou Coleoptera são os mais recomendados para estudos entomotoxicológicos, por serem os primeiros a colonizar o corpo. Dentro da ordem Diptera, as famílias mais importantes para a Entomologia Forense são Calliphoridae (mosca varejeira ou mosca metálica), Sarcophagidae (mosca da carne ou de pijama) e Muscidae (mosca doméstica), uma vez que são as primeiras espécies a colonizar os cadáveres. Outras famílias merecem destaque, quais sejam Piophilidae (mosca do queijo) e Sepsidae (mosca necrófaga negra), também da ordem também Diptera, e que colonizam o cadáver um pouco mais tarde (GENNARD, 2007).

A ordem Coleoptera, por sua vez, é formada por insetos necrófagos e, em sua maioria, predadores. Como os dípteros são mais ágeis e atingem o cadáver primeiro, como estratégia de competição, os besouros necrófagos chegam mais tarde, em estágios mais secos da decomposição, exceto os predadores, que chegam ao corpo antes que as larvas das moscas o tenham abandonado. Há quatro subordens de maior interesse forense, quais sejam Myxopaga, Archostemata, Adephaga e Polyphaga, com maior destaque para as duas últimas (OLIVEIRA-COSTA, 2008).

A oviposição ocorre em orifícios naturais do corpo, como boca, nariz, orelha, vagina, ânus etc, ou em aberturas produzidas por feridas no cadáver. Os tecidos moles das carcaças frescas geralmente servem de substrato para os insetos da ordem Diptera (moscas), enquanto os insetos da ordem Coleoptera (besouros) usam pele e cabelo do cadáver em decomposição para outros fins (PAYNE 1965; PUTMAN, 1983).

Durante a realização dos exames periciais, podem ser encontrados somente ovos das moscas no cadáver. A verificação do estágio de desenvolvimento embrionário em que esses ovos se encontram permite uma estimativa de IPM (SMITH, 1986; LORD, 1990; ANDERSON, 1999; 2004; BYRD & CASTNER, 2001). As espécies das moscas também podem ser identificadas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), técnica ainda pouco difundida no Brasil, embora seja amplamente usada em diversos países (SOTO, 2008).

Após a morte, a decomposição química que se inicia nas células libera enzimas que, somadas às atividades das bactérias e fungos que se iniciam pelo intestino e ambiente externo, promove uma alteração físico-química no cadáver (AMENDT *et al.*, 2004; GENNARD, 2007), liberando odores que atraem insetos da família Calliphoridae até o local (WALL e WARNES, 1994; ANDERSON, 2001; GENNARD, 2007). A colonização do cadáver pelos insetos se inicia em poucos minutos (ERZINCLIOGLU, 1983; SMITH, 1986; ANDERSON, 2001).

Cada fase do processo de decomposição apresenta características próprias que irão favorecer a colonização do cadáver em um determinado padrão de sucessão ecológica. Para determinação de um IPM mais acurado, é intrínseco determinar se houve oviposição no cadáver logo após a morte, ou se isso foi retardado de alguma forma

(AMENDT, 2008). Segundo (BACHMANN; SIMMONS, 2010), fatores tais como temperatura, profundidade (em caso de sepultamento), ou quando o corpo se apresenta embalado ou coberto irão influenciar essa colonização. Há casos em que o acesso ao cadáver é dificultado, retardando a colonização do cadáver, como em condições de chuva e latitude e/ou altitude extremas (AMENDT, 2004; AMENDT, 2008).

Após a oviposição e a eclosão dos ovos, há três estágios larvais (GOSSELIN *et al.*, 2011), que são seguidos do estágio de pupa e, posteriormente, a emergência do adulto. Após o terceiro estágio, a larva atinge o seu tamanho máximo, quando deixa de se alimentar e procura um lugar para pupariar, geralmente longe da sua fonte de alimento (GOSSELIN *et al.*, 2011; PARRY *et al.*, 2011).

Cada fase pela qual passa o inseto apresenta uma duração, que pode variar em razão de diversos fatores, sejam eles bióticos ou abióticos. Um desses fatores é a exposição prévia a toxicantes. Cada substância química pode desencadear um efeito em uma determinada espécie, podendo acelerar, retardar, ou não alterar o ciclo de vida dos insetos, o que também pode variar com a respectiva concentração dessa substância. Deve-se levar em conta ainda que cada inseto pode absorver, excretar e fixar um determinado agente tóxico dentro de seu metabolismo em taxas variadas (PARRY *et al.*, 2011), sendo que fatores ambientais, tais como temperatura, umidade, radiação ultravioleta etc também influenciam a estabilidade dos agentes tóxicos nos tecidos do inseto (TRACQUI *et al.*, 2004).

A imagem 01, extraída da Cartilha da Polícia Federal – Coleta de Amostras de Insetos para Fins Forenses (2006), traz uma figura adaptada do site <http://www.anatomy.unimelb.edu.au/researchlabs/whitington/index.html>, e ilustra o processo de desenvolvimento pelo qual passa dos insetos, desde quando ocorre a postura dos ovos, passando pelas fases larvais, até a fase de pupa e, por fim, adulto. Esse ciclo de vida é utilizado na estimativa de IPM.

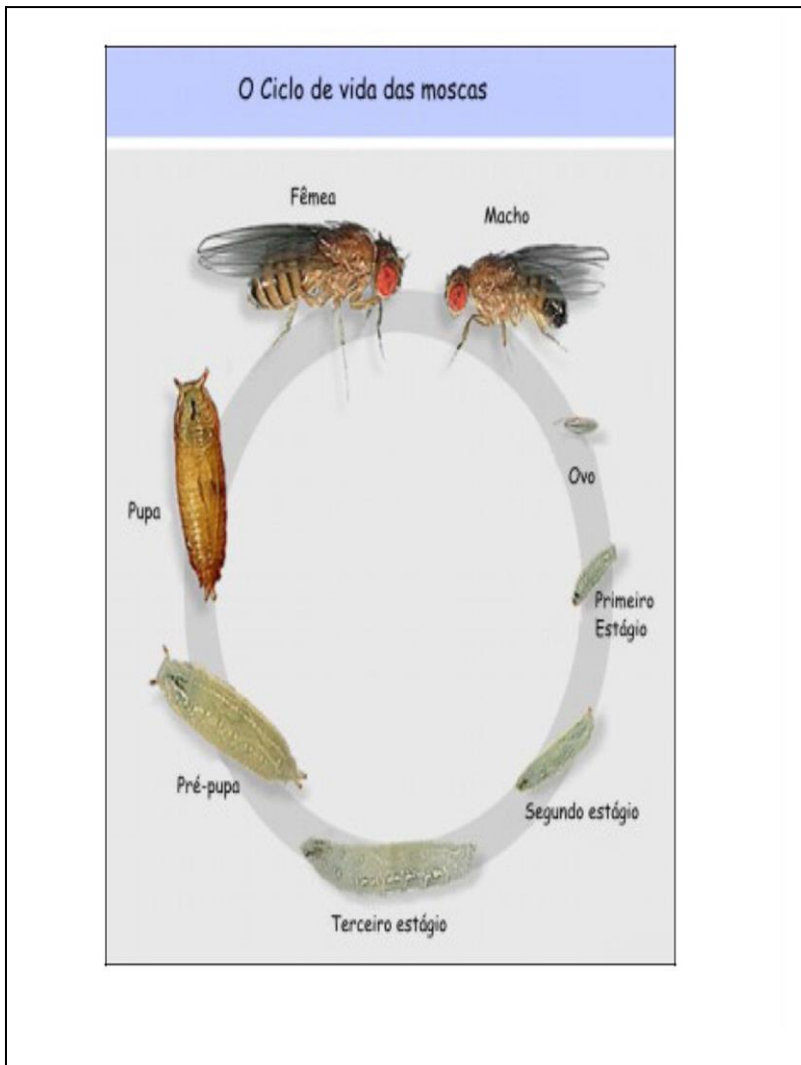


Figura 01: Extraída da Cartilha da Polícia Federal – Coleta de Amostras de Insetos para Fins Forenses (2006), traz uma figura adaptada do site: <http://www.anatomy.unimelb.edu.au/researchlabs/whittington/index.html>, e ilustra o processo de desenvolvimento dos insetos, que é utilizado para estimativa de IPM.

O processo de coleta dos insetos de um cadáver é um passo extremamente importante na análise toxicológica. Há autores que

sugerem a coleta dos insetos de locais variados do corpo, uma vez que agentes toxicantes com diferentes propriedades físico-químicas tendem a se acumular de maneira diferente em órgãos e tecidos que possuem estruturas e composições diferentes (SADLER *et al.*, 1995; TRACQUI *et al.*, 2004; CARVALHO, 2010). Outros estudos sugerem coletas aleatórias, na maior parte das vezes do fígado, mas também da cabeça e dos músculos (INTRONA *et al.*, 1990; DEFINIS-GOJANOVIC *et al.*, 2007) e na superfície da pele (FARIA *et al.*, 1999). AMENDT *et al.* (2006) e CARVALHO (2010) publicaram uma minuta a ser preenchida, quando da coleta dos insetos, que trazem dados da vítima, tais como sexo, idade, peso, estágio de decomposição, possível *causa mortis*, temperatura do corpo, condições climáticas, além de informações a respeito das coletas dos vestígios entomológicos, desde o local em que as amostras foram coletadas até o estágio de desenvolvimento dos insetos.

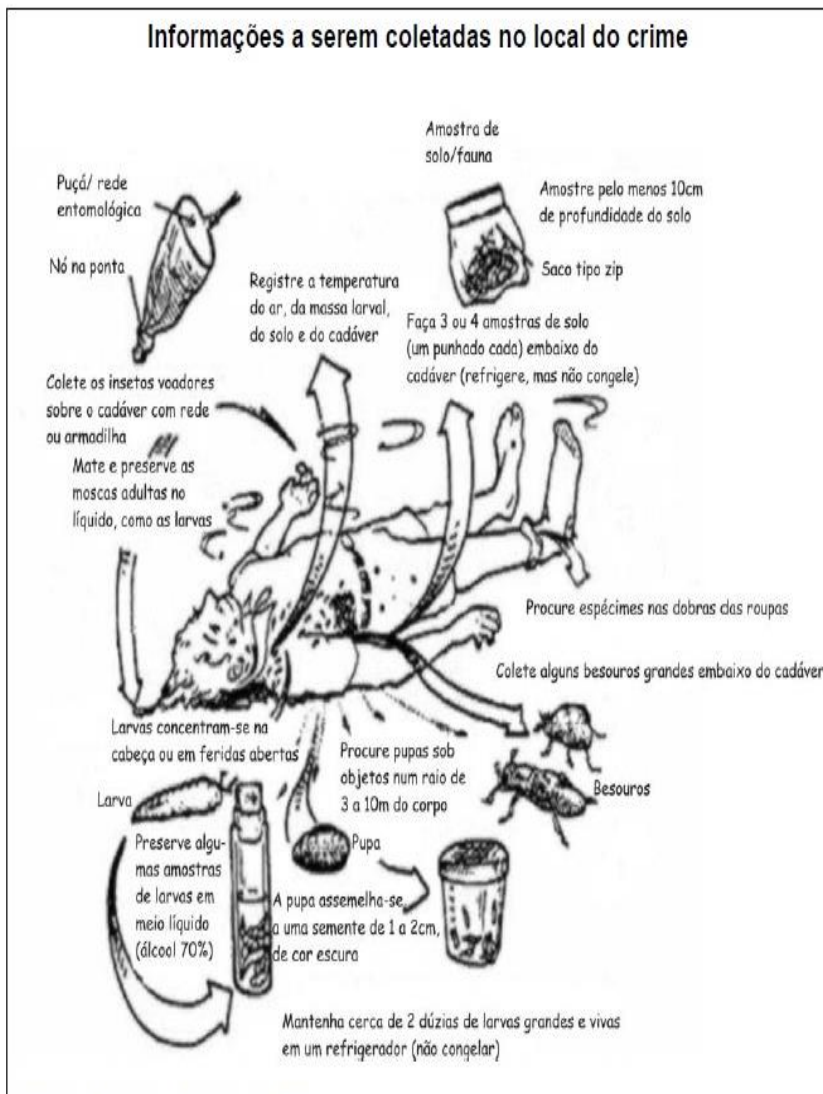
A coleta deve seguir procedimentos que visem à preservação dos insetos. Ao serem removidos do corpo, no transporte até o local de análise, eles devem ser acondicionados em recipiente contendo vermiculita, ou algum outro substrato, como carne moída. Posteriormente, no laboratório, devem ser lavados com água destilada, ou, em sua ausência, com água da torneira, e armazenados a uma temperatura controlada, que pode variar de -20° C a 4° C. Ainda é necessário que eles sejam lavados novamente, a fim de remover eventuais vestígios oriundos do cadáver, ou quaisquer outras possíveis contaminações, para, enfim, seguir os procedimentos laboratoriais (GAGLIANO-CANDELA; AVENTAGGIATO, 2001).

Segundo a Cartilha da Polícia Federal – Coleta de Amostras de Insetos para Fins Forenses (2006), que traz uma figura adaptada de CATTS e HASKELL (1990), e abaixo reproduzida, a coleta dos insetos em locais de crime deve passar pelos seguintes passos:

1. Os insetos voadores devem ser coletados através de uma rede entomológica, também conhecida como “puçá”.
2. Após coletadas, os adultos devem ser anestesiados, através de acetato de etila ou éter, para que não fujam.
3. Insetos adultos menos ágeis, como os besouros, podem ser coletados utilizando-se de pinça.

4. Os adultos coletados devem ser agrupados por espécie, a fim de se evitar o predatismo. Para acondicionamento e transporte, devem ser conservados em álcool 70%.
5. As larvas devem ser procuradas em orifícios naturais do corpo, principalmente aqueles da cabeça, como boca, nariz, orelhas. Também podem ser encontradas em lugares protegidos, como no cabelo, atrás das orelhas, nas axilas e nas dobras das vestes. Elas também se concentrarão em orifícios produzidos por feridas.
6. Os ovos devem ser coletados e acondicionados em papel filtro umedecido a fim de evitar a desidratação.
7. As larvas devem ser coletadas de diferentes sítios do corpo, utilizando-se de pinça e/ou pincel. Para o cálculo de IPM, recomendam-se os imaturos mais velhos, que são oriundos das primeiras posturas de ovos.
8. Como as larvas em último instar se afastam do corpo para pupariar, recomenda-se procura no solo em um raio de aproximadamente cinco metros. Para acondicionamento e transporte das larvas, 50% devem ser acondicionadas em frascos fechados contendo vermiculita e algum substrato, como carne moída. Os outros 50% devem ser mortas em água quente, ou em álcool 70%.
9. Amostras do próprio solo abaixo do cadáver, e também em um raio de cerca de cinco metros devem ser coletadas.
10. Quando da coleta de pupas, sua cor deve ser anotada, já que a cor, inicialmente clara, chega até um tom marrom em cerca de 24 horas. Pupários vazios também devem ser coletados. Para acondicionamento e transporte, devem ser colocadas em frascos fechados e contendo vermiculita.
11. Todo material deve ser encaminhado prontamente ao Laboratório de Entomologia Forense, se disponível. Para encaminhamentos superiores a 12 horas, é importante que no recipiente haja vermiculita e algum substrato, como carne moída.

12. Jamais congelar. Encaminhamento pode ser realizado com gelo-gel.



adaptado de CATTS & HASKELL, 1990

Figura 02: retirada da Cartilha da Polícia Federal – Coleta de Amostras de Insetos para Fins Forenses (2006), por sua vez, adaptada de CATTS e HASKELL (1990). Sintetiza as informações de coleta de formas maduras e imaturas de insetos em locais de crime

A partir de material entregue na Gerência Mesorregional de Perícias de Blumenau pelo Professor Doutor Carlos José de Carvalho Pinto, bem como tendo como referência a minuta anteriormente mencionada que foram publicadas por AMENDT *et al.* (2006) e CARVALHO (2010), este autor e o Perito Criminal Tiago de Camargo Barros Luchetta desenvolveram um Formulário para coleta de amostras de entomologia forense na 3ª Gerência Mesorregional de Perícias de Blumenau/SC, que segue como Apêndice ao presente trabalho, e visa orientar eventuais coletas futuras de provas entomológicas em locais de crime.

Depois de estudados os procedimentos para coleta de vestígios de entomologia forense em local de crime, algumas explicações devem ser feitas da etapa seguinte, qual seja a preparação da amostra. Essa etapa varia grandemente em razão da droga a ser pesquisada (MURTHY; MOHANTY, 2010; GOSELIN *et al.*, 2011). Amostras sólidas podem ser maceradas e homogeneizadas (WOLFF *et al.*, 2004; GUNN *et al.*, 2006), ou digeridas através do uso de ácidos, bases ou enzimas, a fim de quebrar o exoesqueleto quitinoso e liberar possíveis toxinas (ROETERDINK *et al.*, 2004; GAGLIANO-CANDELA; AVENTAGGIATO, 2001). Alternativamente, amostras sólidas podem ser pulverizadas, de forma que as substâncias a serem pesquisadas serão extraídas pela matriz, através de técnicas tais como a extração em fase sólida (SPE), a extração líquido-líquido (LLE) ou precipitação de proteína (GOSELIN *et al.*, 2011).

WYMAN *et al.* (2011) monitoraram o destino de vários tipos de substâncias químicas nos tecidos de suínos em decomposição. Observaram que, à medida que seguia a marcha da decomposição, a concentração dos agentes toxicantes estudados aumentava. Contudo, esse aumento se deu em diferentes taxas para substâncias diversas. Além disso, os autores notaram que a concentração encontrada no fígado foi mais elevada do que aquela encontrada no músculo. Foram coletadas amostras do solo no qual os suínos foram depositados e, uma semana após a morte, também foi possível detectar toxicantes nessas amostras. Estes resultados sugerem que os efeitos das drogas sobre a taxa de desenvolvimento dos insetos podem variar dependendo tanto do tempo de exposição à droga, quanto da fase de decomposição em que se encontra o cadáver.

Destaca-se, ainda, que a farmacocinética das drogas nos insetos depende da espécie, da fase de desenvolvimento em que ele se encontra e se está em processo de alimentação ativa, ou não. Substâncias exógenas poderão ser detectadas nas larvas quando a taxa de absorção exceder a taxa de eliminação. Todavia, a absorção das drogas, seu metabolismo e eliminação, além do processo de bioacumulação e posterior localização no corpo dos insetos, ainda não são totalmente compreendidos. Os metabólitos das drogas, que podem ser em função do metabolismo do corpo e/ou oriundos da atividade metabólica dos próprios insetos, representam outro fator que aumenta a complexidade da análise (KOBILINSKY, 2012).

Exemplificando, CAMPOBASSO *et al.* (2004), já anteriormente citado, realizaram um estudo com 18 casos, em que foram analisadas drogas de abuso e fármacos em larvas e em tecidos humanos. Em quatro dos casos, o estudo com os opiáceos mostraram uma maior concentração da droga em larvas que se encontravam em estágio de alimentação ativa, quando comparadas com amostras de sangue. Ainda, que larvas em estágio de pós-alimentação apresentaram redução significativa de concentração da droga, sugerindo que a taxa de eliminação prevaleceu sobre a taxa de absorção.

Em outros quatro casos desse mesmo estudo de CAMPOBASSO *et al.* (2004), foi estudada a cocaína. Constatou-se que suas concentrações eram iguais tanto em amostras de larvas em processo de alimentação, quanto em amostras de fígado, sendo que a concentração de cocaína presente neste órgão era mais elevada do que aquela presente nas amostras de sangue e de larvas pós-alimentação, salvo em três dos casos analisados. Foram também procedidos estudos com antidepressivos, tais como levomepromazina e amitriptilina, sendo verificado que a concentração era maior em larvas que estavam se alimentando ativamente do que em amostras de sangue. Todavia, a concentração era maior em amostras de fígado. O barbitúrico fenobarbital também foi objeto de estudo, sendo observada maior concentração para larvas em estágio de pós-alimentação em relação àquelas em estágio de alimentação. Entretanto, ainda sendo a concentração menor do que aquela em amostras de sangue e fígado. De todas as drogas analisadas, só a clomipramina foi encontrada na mesma concentração para todas as amostras.

O potencial para a utilização de insetos como amostra biológica alternativa é de grande interesse nos países onde altas temperaturas são observadas ao longo do ano, como é o caso do Brasil. Nessas condições climáticas, a decomposição progride mais rapidamente, levando a um elevado número de casos de decomposição ou esqueletização dos restos das vítimas. Assim, há uma necessidade crítica de pesquisa em larvas de moscas das drogas, fármacos e outros agentes tóxicos comumente associados a ocorrências policiais (KARAMPELA *et al.*, 2015).

Embora tenha ocorrido um grande avanço na detecção de substâncias tóxicas em insetos, ainda existem diversas limitações, tais como o conhecimento insuficiente do desenvolvimento e da atividade dos insetos, o uso inapropriado de procedimentos analíticos, bem como um processo de validação nem sempre adequado, além da falta de um consenso geral sobre fatores como o arranjo experimental e amostragem (BAIA *et al.*, 2016). Outro fator importante a se considerar é que a concentração da droga não será homogênea em todos os tecidos corporais, e tal variação entre tecidos poderia produzir efeitos diferentes, não só sobre as larvas que estão se alimentando de uma carcaça, mas também naquelas larvas em estágio de pós-alimentação (CAMPOBASSO *et al.*, 2004). Ademais, sabe-se que a estabilidade das drogas em tecidos pós-morte é fortemente diminuída, o que torna as análises toxicológicas ainda mais complexas (Schloegl *et al.*, 2006).

3.2.1. FÁRMACOS DE MAIOR INTERESSE FORENSE

3.2.1.1. AMITRIPTILINA

GOFF *et al.* (1993) realizaram um estudo com *Parasarcophaga ruficornis* (Fabricius) (Diptera: Sarcophagidae) expostos ao antidepressivo tricíclico amitriptilina, por infusão venosa na orelha. Foram dadas doses de 300, 600 e 1000 mg, além de haver um grupo controle. O antidepressivo foi identificado através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) em todas as larvas expostas às diferentes concentrações do fármaco. Não foram verificadas diferenças significativas nas taxas de desenvolvimento, até que as larvas atingissem o terceiro instar do estágio pós-alimentação. Uma vez que o tamanho máximo foi atingido, verificou-se maior duração do estágio pós-alimentação nas colônias expostas à droga. A mortalidade larval também foi maior nas colônias tratadas com amitriptilina. Não foram observadas diferenças na mortalidade das pupas. Todavia, para as colônias

alimentadas de tecidos de coelhos que estavam recebendo a DL e 2 x DL, as pupas atingiram tamanho e peso maiores do que o grupo controle, e o período nesse estágio também foi maior. Os resultados deste estudo indicam que uma estimativa do IPM, a 26° C, com base na duração da fase de pupa, poderia levar a um erro de até 47h, caso o uso do fármaco fosse negligenciado. Isso, somado a um erro associado ao aumento da fase larval, poderia levar a um erro de estimativa de IPM de até 77 h.

WILSON *et al.* (1993) analisaram, também por HPLC, larvas de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) criadas em músculo esquelético humano obtido de casos de suicídio por overdose de coproxamol (propoxifeno e acetaminofeno) e amitriptilina. Depois de quatro dias, larvas no terceiro instar foram transferidas para músculo livre de drogas (grupo controle), ou foram mantidas se alimentando do substrato contendo os fármacos. Amitriptilina e nortriptilina foram detectadas no primeiro grupo. Propoxifeno, no segundo. Acetaminofeno não foi detectado em nenhum dos grupos. As análises foram procedidas no terceiro estágio larval, mas as concentrações encontradas foram inferiores àquelas detectadas nos músculos. Os resultados foram negativos nas pupas, nos pupários vazios e nos adultos. A não detecção dessas drogas nesses estágios indica que não foram acumuladas nesses califorídeos, sugerindo eficiente excreção através dos túbulos de Malpighian e/ou dos nefrócitos, apesar das diferentes características físico-químicas dessas substâncias. Em função dessa não detecção, os autores chamam a atenção para o fato de que um resultado negativo para os fármacos não significa, necessariamente, que o cadáver não tenha sido previamente exposto a essas, ou outras drogas.

SADLER *et al.* (1995) mediram a bioacumulação e a excreção pelas larvas da *C. vicina* criadas nos músculos de três casos de suicídio contendo amitriptilina, temazepam, trazodona e trimipramina. Altas concentrações das drogas foram encontradas nas larvas, com pico de concentração no sétimo e oitavo dias da exposição, seguido de grande decréscimo durante a pupariação. As drogas não foram detectadas na fase de pupa. Uma vez que as concentrações das drogas variaram muito dos estágios de imaturo para adulto, os autores concluíram que os insetos estavam metabolizando e eliminando as drogas em diferentes taxas.

Numa outra experiência, SADLER *et al.* (1997) investigaram a acumulação e a eliminação da amitriptilina e da nortriptilina em larvas de *C. vicina*, expostas artificialmente a diversas doses do fármaco, passando pela dose terapêutica, pela dose tóxica, pela DL e por 10 x DL. As análises foram procedidas por HPLC e por GC-MS. Os resultados mostraram um elevado grau de variação nas concentrações das drogas nas larvas, indicando não ser confiável uma extrapolação quantitativa e imprevisível a acumulação das drogas nas larvas quando da exposição de mais de uma droga, ou quando da exposição de diferentes concentrações de um único fármaco. Esse estudo ainda evidenciou a importância do devido tratamento prévio das amostras, uma vez que as larvas e pupas que não foram adequadamente lavadas antes das análises tiveram uma concentração dos fármacos significativamente mais elevada do que em amostras devidamente lavadas.

3.2.1.2. BENZODIAZEPÍNICOS

Revisada a literatura acerca da detecção de benzodiazepínicos em artrópodes, alguns casos podem ser destacados. KINTZ *et al.* (1990) recuperaram triazolam e o oxazepam em larvas de Calliphoridae encontradas em um cadáver putrefeito. Em outra publicação do mesmo ano, KINTZ e outros colaboradores identificaram e quantificaram bromazepam em larvas de *Piophilidae casei*.

SADLER e colaboradores (1995) alimentaram larvas de *C. vicina* em tecido coletado de um caso de suicídio envolvendo temazepam. Após processo de LLE, as larvas e as pupas foram analisadas por HPLC, em conjunto com detecção por ultravioleta (UV). Um grupo de 15 larvas foi necessário para atingir seu limite de detecção de 0,01 µg/g.

WOOD *et al.* (2003) realizaram um trabalho em que desenvolveram um método para a identificação e quantificação simultânea de dez benzodiazepínicos, quais sejam: alprazolam, clonazepam, diazepam, flunitrazepam, lorazepam, nordiazepam, oxazepam, prazepam, temazepam e triazolam em larvas e pupários de *C. vicina*. O trabalho compreendeu um processo de extração simples, seguido de LC-MS-MS em fase reversa, que se mostrou um bom método de escolha para detecção de compostos biologicamente ativos em misturas complexas, podendo aumentar a sensibilidade e a seletividade do processo, com menores tempos de preparação da

amostra e análise. A sensibilidade aumentada pode permitir análises em uma única larva, o que é de grande valia para determinar os efeitos dos benzodiazepínicos sobre o ciclo de vida das larvas. Isso, por sua vez, torna a estimativa do IPM muito mais acurada. A sensibilidade aumentada ainda facilita a quantificação de drogas nos pupários vazios.

SADLER *et al.* (1995) relataram uma diminuição considerável na concentração dos fármacos durante o processo de pupariação. Isso sugere que a concentração da droga nos tecidos quitinizados pode ser de magnitude inferior aos níveis encontrados nas larvas. Portanto, uma sensibilidade aumentada, conforme descrito no trabalho de WOOD *et al.* (2003), amplia em muito as possibilidades de detecção de drogas em amostras biológicas alternativas, especialmente em casos de cadáveres encontrados bastante tempo após o óbito, quando os pupários vazios ainda podem ser identificados próximo ao que restou do cadáver.

CARVALHO *et al.* (2001) criaram larvas de *C. albiceps* (Wiedemann) e *Crysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em tecidos de coelhos que receberam duas vezes a DL de diazepam, a fim de estudar os efeitos desse fármaco no desenvolvimento dessas duas espécies. Foram dados aos coelhos 50mg de diazepam por infusão venosa auricular, enquanto os grupos controle receberam somente solução salina. Posteriormente, os coelhos foram sacrificados e tiveram seus fígados expostos às larvas das espécies mencionadas. A presença de diazepam foi detectada através do GC-MS, sendo positiva em todas as amostras de tecidos dos coelhos expostos ao fármaco e em quase todas as amostras Diptera (negativo somente para adultos de *C. putoria*). No intervalo de tempo compreendido entre 18 a 54h, as larvas se alimentando dos tecidos contendo o fármaco se desenvolveram mais rapidamente do que o grupo controle para ambas as espécies. O tempo requerido para pupariação e emergência do adulto foi significativamente maior para o grupo exposto à droga, em relação ao controle. Essas constatações são significativas para alterar a estimativa de IPM baseada no desenvolvimento das larvas. Ademais, as larvas que se desenvolveram no fígado tratado com diazepam pesaram significativamente mais do que o grupo controle, sendo a diferença de peso quase o dobro. O tempo de exposição ao fígado contendo o fármaco foi significativo para o desenvolvimento da larva, que teve seu peso aumentado de maneira proporcional a esta variável. Isso sugere que a droga é incorporada e afeta o desenvolvimento da larva. A pupariação

também foi afetada do começo ao fim para ambas as espécies, sugerindo que o diazepam também acelera esse estágio de desenvolvimento. O tempo de emergência também foi acelerado pelo grupo que se alimentou da droga. Ainda foram avaliadas as taxas de mortalidade das larvas, das pupas e a quantidade de adultos que não emergiram. Todavia, não foram constatadas diferenças significativas. Em contrapartida, a mortalidade dos adultos foi influenciada pela presença do fármaco. Esses achados do estudo realizado por CARVALHO *et al.* (2001) sugeriram a ocorrência de bioacumulação, uma vez que a presença do diazepam teve um significativo impacto no crescimento das larvas, na pupariação, na emergência e na mortalidade dos adultos. Ainda, o diazepam pôde ser identificado não só nas larvas, como também nas pupas e nos adultos. Destaca-se, todavia, que não foram verificadas correlações entre as concentrações nos tecidos do coelho e aquelas concentrações das larvas, corroborando as dificuldades no que diz respeito às análises quantitativas.

Em outro estudo realizado por PIEN *et al.* (2004) com nordiazepam, um benzodiazepínico de ação longa e o principal metabólito do diazepam, larvas de *C. vicina* foram criadas em alimentação artificial enriquecida com três diferentes concentrações de nordiazepam, além do grupo controle. Foi estudada a dinâmica da bioacumulação do nordiazepam e da sua conversão para o seu metabólito, o oxazepam. A análise foi realizada através do método de LC-MS-MS, que apresenta baixos limites de detecção e, assim como no estudo feito por WOOD *et al.* (2003), permitiu a detecção e quantificação de nordiazepam e oxazepam em uma única larva em estágio de pós-alimentação e no pupário vazio. Além disso, a influência de nordiazepam no desenvolvimento e crescimento das larvas em estágio de pós-alimentação foi estudada. No entanto, não foram observadas grandes diferenças para esses parâmetros entre as larvas alimentadas em dietas contendo nordiazepam e o grupo controle.

Um pequeno efeito foi observado no desenvolvimento e no peso para a larvas criadas em alimentos com uma concentração de 1 µg/g de nordiazepam, em comparação com os outros grupos. No entanto, nenhum efeito foi visto no parâmetro comprimento das larvas. É importante ressaltar que o objetivo deste estudo foi detectar nordiazepam e oxazepam, mesmo em doses baixas (terapêuticas). No entanto, os autores destacam a necessidade de mais experimentos com

concentrações mais elevadas de nordiazepam, como ocorre em casos de overdoses, a fim de determinar um possível efeito desse tipo de exposição sobre a taxa de desenvolvimento de larvas da *C. vicina*.

Outro estudo foi realizado por ALTUNSOY *et al.* (2014) com lorazepam em larvas de *C. vicina* e *Calliphora loewi* (Diptera: Calliphoridae). Larvas dessas espécies foram criadas em tecidos pulmonares bovinos tratados com diferentes concentrações desse benzodiazepínico, tendo como base os níveis de uso para fins terapêuticos, narcóticos e suicidas, a fim de avaliar a confiabilidade dessas amostras alternativas nas investigações toxicológicas. Comprimento do corpo, peso, taxas de morte das larvas e pupa foram comparados com os grupos controle.

Os resultados mostraram diferenças significativas nas curvas de peso e comprimento larval dos grupos expostos ao fármaco, em comparação com o controle. Tendo como base os valores de peso e comprimento larvais alcançados pelo grupo controle, os desvios constatados nos grupos expostos ao fármaco poderiam levar a desvios no IPM de 6 a 36h. A presença de lorazepam em concentrações menores parece acelerar a taxa de crescimento de *C. vicina* durante a fase larval, ao passo que retarda o desenvolvimento em concentrações maiores, sendo também observada maior emergência dos adultos. O tempo necessário para pupariação foi significativamente maior para colônias alimentadas com tecidos de dietas contendo lorazepam. Ademais, a taxa de mortalidade total aumentou à medida que aumentava a dose de lorazepam, variando de 3,6% no grupo controle, e chegando a 36,2% no grupo exposto a maior quantidade do fármaco (1,5 µg/g).

BAIA *et al.*, 2016, por sua vez, desenvolveram um método para identificar e discriminar flunitrazepam em moscas necrófagas (*C. megacephala*, *C. albiceps* e *C. macellaria*), utilizando de Microscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). O método apresentou grande potencial de uso na entomotoxicologia forense, tendo em vista vantagens instrumentais como: sensibilidade, rapidez, baixo custo e simplicidade.

3.2.1.3. CODEÍNA

FATHY *et al.* (2008) estudaram o efeito do fosfato de codeína em coelhos em decomposição, tendo sido utilizados dois grupos controle e dois grupos expostos à DL de codeína. Foram coletados diferentes estágios de desenvolvimento de *C. albiceps*. Os insetos foram

dissecados e, através de microscopia de luz, foram estudados no que diz respeito às modificações biológicas e morfológicas. Nos grupos expostos à codeína, as larvas apresentaram mudanças morfológicas na forma dos segmentos, coloração mais pigmentada na superfície dorsal e anormalidades na forma dos espiráculos anterior e posterior. Nas moscas adultas foram constatadas asas rudimentares, bandas anormais na superfície inferior do abdômen, e perda da coloração. Também houve alterações biológicas no ciclo de vida e emergência incompleta de algumas moscas adultas a partir de suas pupas no grupo exposto. As larvas que se desenvolveram em coelhos injetados com codeína apresentaram crescimento mais rápido, quando comparados aos controles em quase todas as horas de observação. O tempo total de desenvolvimento das larvas nos grupos expostos foi de 72 horas e o tempo para emergir o adulto foi de 168 horas, enquanto que, para os grupos controles, esses tempos foram, respectivamente, de 96 horas e 192 horas. Considerando essa aceleração no desenvolvimento, poderia haver um erro na estimativa do IPM de até 24h, se fosse feita estimativa com base no desenvolvimento larval; e um equívoco do IPM de até 48h, se a estimativa fosse feita tendo como base o desenvolvimento de pupa.

Esse estudo está de acordo com os achados de KHARBOUCHE *et al.* (2008), em que larvas de *Lucilia sericata* foram criadas em amostras de fígado de porco contendo diferentes concentrações de codeína: doses terapêutica, tóxica e potencialmente letal. Nos intervalos de tempo de 24 a 96 horas, a cada 12 horas, 10 larvas de cada grupo foram coletadas para análise. Codeína foi detectada por LC-MS em todas as larvas testadas, ratificando a confiabilidade desse método toxicológico alternativo. A morfina e norcodeína, dois metabólitos da codeína, foram também detectadas. A codeína e/ou seus metabólitos também aceleraram o desenvolvimento das larvas. Considerando o peso larval, poderia haver um erro na estimativa do IPM nos intervalos de tempo de 48 a 96 horas, já que as larvas expostas se desenvolveram mais rapidamente. Ademais, a emergência dos adultos no grupo exposto à codeína foi observada 21 horas antes em relação ao grupo controle.

3.2.1.4. FENOBARBITAL e TIOPENTAL

SOTO (2008) desenvolveu um estudo utilizando larvas de três espécies de califorídeos, *C. megacephala*, *C. putoria* e *C. albiceps*, em que foram testadas três dosagens diferentes de fenobarbital (Gardenal®)

e tiopental (Thiopentax®) em suas dietas. Constatou-se que, quando as dosagens dos barbitúricos eram menores, a taxa de desenvolvimento dessas larvas foi retardada em até duas vezes. Já o aumento da dosagem foi associado a uma maior taxa de mortalidade.

3.2.1.5. FLUOXETINA

DIAS (2014) criou larvas de *C. vicina* em cinco concentrações diferentes de fluoxetina: 7,5, 15,0, 22,5, 30,0, 45,0 e 90,0 µg/g, além de haver um grupo controle, ao qual foi dado somente solução salina. As doses mencionadas foram adicionadas a músculo de porco, que serviu de substrato para criação das larvas. Verificou-se que à medida que se aumentava a concentração de fluoxetina, havia diminuição do comprimento e do peso das larvas. Essa redução foi estatisticamente significativa a partir de 30,0 µg/g de fluoxetina. O grupo controle apresentou comprimento de $16,4 \pm 0,3$ mm, enquanto que, para a concentração de 90,0 µg/g, observou-se a maior redução do tamanho das larvas, que atingiram o comprimento médio de $15,7 \pm 0,5$ mm. Da mesma forma, em relação ao peso, observou-se que as larvas do grupo controle apresentaram um peso médio de $67,9 \pm 5,2$ mg. Já para a dose de 90,0 µg/g constatou-se a maior diminuição, sendo registrado um peso médio de $53,8 \pm 3,3$ mg.

Outro parâmetro avaliado por DIAS (2014) foi o Graus-horas acumulados (GHA), ou seja, a quantidade de calor necessário para o desenvolvimento do inseto. Como o desenvolvimento dos insetos depende da temperatura, o GHA é obtido pelo produto da temperatura média pela duração da exposição a uma determinada temperatura, desde a hora de postura dos ovos até a emergência do adulto (AMENDT *et al.*, 2007). Assim como nas variáveis anteriores, para a maior dose utilizada observou-se a maior necessidade de GHA para o desenvolvimento das larvas (1326 ± 43). O grupo controle, por sua vez, apresentou GHA de 1175 ± 49 . Para este parâmetro, entretanto, as mudanças provocadas pela fluoxetina foram estatisticamente significativas a partir da concentração de 15,0 µg/g.

DIAS (2014) conclui que, como a determinação do IPM se vale de parâmetros como comprimento e peso larvais, além do cálculo do GHA, a negligência do uso da fluoxetina pode levar a um cálculo de IPM equivocado.

Em outro estudo, ZANETTI *et al.* (2016) detectaram e quantificaram a fluoxetina a partir de amostras de larvas, pupas e adultos de *Dermestes maculatus* (Coleoptera: Dermestidae), que foram criados em dieta artificial de músculo de porco previamente tratado com uma superdosagem do fármaco: 2000 mg/kg. Também havia um grupo controle, que se alimentava somente de carne de porco sem a droga. Depois de 2, 7 e 12 dias de experimento, larvas e adultos foram removidos da fonte de alimentação. Exúvias também foram coletadas. Utilizando-se de espectrofotômetro (PG INSTRUMENTS UV-V T60), foram feitas análises em triplicata nos seguintes comprimentos de onda: 270nm e 277nm. A fluoxetina foi detectada em todos os estágios de desenvolvimento de *D. maculatus*, inclusive nas exúvias.

3.2.1.6. METADONA

GOSELIN *et al.* (2010) desenvolveram um método para a quantificação de metadona e seu principal metabólito, 2-etilideno-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolideno (EDDP), em larvas do terceiro instar de *L. sericata*, que foram criadas em substrato contendo 4 µg/g de metadona. O método compreendeu em uma simples LLE, seguida de análise por LC-MS-MS. O método se mostrou sensível o suficiente para identificação da metadona e do EDDP em uma única larva. Posteriormente, esse método desenvolvido foi utilizado em um caso concreto de uma morte por overdose de heroína, tendo sido identificado metadona e EDDP na amostra encaminhada.

GOSELIN *et al.* (2011) descreveram um método sensível para a quantificação de metadona e de EDDP, através de Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrômetro de Massas tipo tandem (UPLC-MS/MS), utilizando-se como amostra um único pupário vazio de *L. sericata*. Para tal, as larvas de *L. sericata* foram criadas em dieta artificial contendo substratos enriquecidos com diferentes concentrações de metadona: controle T0: sem metadona; T1: 0,2 mg/g de metadona; T2: 0,4 mg/g de metadona; T3: 0,8 mg/g de metadona; T4: 4 mg/g de metadona.

Somente foi possível verificar a acumulação de metadona em pupários vazios nos grupos T3 e T4. Este resultado corrobora os estudos feitos por BOUREL *et al.* (2001), demonstrando que, enquanto ocorre a excreção do opioide pelos órgãos larvais (via túbulos de Malpighi ou nefrócitos), uma quantidade de droga é incluída na cutícula

do pupário. Ratifica também os achados de INTRONA *et al.* (2001), que estabelece que uma droga só pode ser detectada nos insetos quando sua taxa de absorção excede a taxa de eliminação. Para a metadona, a proporção entre as taxas de eliminação e acumulação é superior a 1 e, portanto, abaixo de T3 não se observou qualquer bioacumulação na cutícula. Destaca-se que a metadona não foi detectadas em todos os pupários analisados, confirmando a variabilidade dentro de um grupo de insetos expostos a um fármaco. Essa variabilidade confirma os estudos de WILSON *et al.* (1993), MILLER *et al.* (1994) e GOFF *et al.* (1997), sugerindo que a ausência de um fármaco a partir da análise das larvas, pupas ou pupários não indica, necessariamente, que os insetos não foram previamente expostos a alguma droga. Não foi verificada uma relação linear entre a concentração de metadona no substrato e aquela em um pupário vazio.

Não foram verificados efeitos da metadona sobre a proporção dos sexos dos insetos. Uma diferença significativa foi constatada para adultos emergidos, mas sem seguir nenhum padrão. Por exemplo, T4 obteve a maior taxa de emergência: 86,4%, enquanto T3 obteve a menor: 69,2%. Em relação à curva de desenvolvimento, foi observada uma pequena desaceleração de crescimento no grupo exposto a elevadas concentrações de metadona, mas os autores não julgam essas alterações suficientes para modificar as estimativas de IPM.

3.2.1.7. MORFINA

KINTZ *et al.* (1990), através dos métodos de LC e Imunoensaio de Fluorescência Polarizada (FPIA), detectaram morfina e fenobarbital em larvas de Calliphoridae que haviam se desenvolvido sobre o cadáver de um usuário crônico de heroína, cujo corpo putrefeito havia sido encontrado cerca de 10 dias após sua morte.

INTRONA *et al.* (1990) criaram larvas em fígados amostrados de corpos com histórico de morte por intoxicação por opioides. A análise foi feita através de Radioimunoensaio (RIA) e foi positiva para morfina. INTRONA *et al.* (1996), através de FPIA, identificaram a presença de morfina em pupários vazios de *C. vicina* criadas com uma dieta contendo concentrações conhecidas da droga.

HEDOUIN *et al.* (1999) infundiram três concentrações diferentes de hidrocloreto de morfina em coelhos, que posteriormente serviram de substrato para criação de larvas de *L. sericata*. Foi possível identificar morfina nas larvas analisadas através de RIA. Todavia, em

uma concentração de 30 a 100 vezes menor do que aquelas encontradas nos tecidos dos coelhos, evidenciando a dificuldade de extrapolação das análises quantitativas, ou seja, de se estabelecer uma correlação entre as concentrações do fármaco encontradas nas larvas e aquelas de fato administradas.

BOUREL *et al.* (1999) demonstraram o potencial de erro no cálculo de IPM baseado no desenvolvimento das larvas da mosca *L. sericata*, que se alimentaram de tecidos de coelho previamente perfundidos com várias concentrações de morfina. Verificou-se uma subestimação do IPM em até 24h, tendo em vista que os estudos indicaram que a morfina diminuiu a taxa de desenvolvimento das larvas, especialmente em concentrações maiores.

BOUREL *et al.* (2001) realizaram um experimento em que verificaram os efeitos de três concentrações de morfina sobre o desenvolvimento de *L. sericata*. Observou-se que as taxas de desenvolvimento foram semelhantes entre as larvas do grupo controle e aquelas criadas com baixa concentração da droga. Entretanto, o aumento da concentração da morfina foi associado a um desenvolvimento mais lento das larvas.

BOUREL *et al.*, (2001a) relatam um estudo em que foi detectada morfina nas larvas de *Calliphora vicina* (Linnaeus), no 3º estágio de desenvolvimento, que foram criadas em substrato contendo cloridrato de morfina. A detecção foi feita através do método de avidina-biotina-peroxidase e, nas larvas que apresentaram exame positivo para morfina, a cor da hemolinfa era bastante característica, tendo sido verificada uma intensa imunorreação no limite entre a exocutícula e a endocutícula. Esse resultado sugere que, enquanto se desenvolviam, as larvas armazenavam morfina dentro da cutícula e, quando a cutícula larval do terceiro estágio é esclerotizada para formar o pupário, a morfina depositada próximo aos poros dos canais seria incorporada ao pupário. Sendo assim, o pupário vazio também poderia ser utilizado para as análises toxicológicas, quando outras amostras, sejam de seres humanos ou dos próprios insetos, não estiverem mais disponíveis.

BOUREL *et al.*, (2001b) apresentaram uma alternativa para a detecção de morfina em pupário e adultos de *L. sericata* e em pupas dessecadas de *Dermestes frischii*. As análises toxicológicas nessas amostras alternativas foram feitas por RIA. As concentrações obtidas foram maiores nos 2º e 3º estágios, enquanto quase nenhuma morfina foi

detectada nos estágios pré-pupa e após a pupariação. A concentração nos pupários foram maiores do que nos adultos, resultados que sugerem que as larvas excretam a droga no período em que não estão se alimentando ativamente. O estudo ainda sugere que, enquanto a morfina é excretada em órgãos larvais, uma quantidade da droga é incluída na cutícula do pupário.

BOUREL *et al.*, (2001c) apresentaram um estudo com duas espécies necrófagas de Coleoptera: *Dermestes frischi* Kugelann (Diptera: Dermestidae) e *Thanatophilus sinuatus* Fabricius (Diptera: Silphidae), que foram criados em uma dieta artificial contendo morfina. As colônias de *D. frischi* foram criadas em carcaças de coelhos as quais foram dadas 10, 20, e 40 mg/h de cloridrato de morfina, através de perfusão arterial auricular, por um período de 3 horas antes da morte. Um quarto coelho serviu como controle. *T. sinuatus* foi criado em uma dieta artificial contendo carne e cloridrato de morfina nas concentrações de 1.000, 2.500, 5.000, e 10.000 ng/g, além de também haver um grupo controle. Os autores utilizaram essas dosagens a fim de simular concentrações de morfina semelhantes às encontrados em casos de morte por overdose dessa droga. As análises foram procedidas por RIA. Todos os estágios de desenvolvimento de *D. frischi* foram positivos para a morfina. Já para *T. sinuatus*, as melhores correlações foram encontradas em larvas do segundo e terceiro estágios de desenvolvimento.

3.2.1.8. PARACETAMOL

O'BRIEN e TURNER (2004) realizaram um estudo com *C. vicina* utilizando quatro concentrações diferentes de paracetamol: 1000mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg, 100 mg/kg, além de haver um grupo controle sem a droga. Essas concentrações foram definidas conforme os estudos realizados por SADLER *et al.* (1997), em que a concentração de paracetamol em casos de overdose do fármaco é da ordem de 250mg/kg.

Não foram constatadas diferenças significativas entre as várias doses de paracetamol estudadas. No entanto, a ingestão de paracetamol pelos insetos acelerou as taxas de crescimento das larvas entre o segundo e o quarto dias de exposição à droga, o que poderia gerar uma diferença na estimativa do IPM de até 12 horas, se o cálculo fosse feito nesse intervalo de dias.

3.2.2-DROGAS DE ABUSO

3.2.2.1. ANFETAMÍNICOS

GOFF *et al.* (1992) avaliaram o efeito da metanfetamina sobre os padrões de desenvolvimento da *P. ruficornis*, que foram criadas em tecidos de coelho previamente expostos a 0,5 x DL, 1,0 x DL e 2,0 x DL de metanfetamina, por infusão venosa auricular. De 30 a 60 horas, as larvas que se alimentaram nos substratos contendo 1,0 x DL e 2,0 x DL de metanfetamina se desenvolveram mais rapidamente do que as larvas do grupo controle e do grupo exposto à dose subletal. A partir de 60h de experimento, a taxa de crescimento da colônia exposta à dose letal média diminuiu. As colônias alimentadas com metanfetamina atingiram menor comprimento máximo, quando comparadas com o grupo controle. O estudo demonstrou que as diferenças observadas nas taxas de desenvolvimento foram suficientes para alterar as estimativas de IPM com base no desenvolvimento larval em até 18h; e estimativas de IPM tendo em vista o estágio de pupa em até 48h. O tempo necessário para pupariação foi significativamente maior para as colônias alimentadas com tecidos de coelhos contendo anfetamina, em relação ao grupo controle.

Em 1997, GOFF e colaboradores verificaram os efeitos da 3,4-metileno-dioxi-metanfetamina (MDMA), uma droga derivada da metanfetamina e principal componente do *ecstasy*, sobre a taxa de desenvolvimento das larvas de *P. ruficornis*. Larvas de *P. ruficornis* foram criadas em fígados de coelhos previamente expostos a 0,5 x DL, 1,0 x DL e 2,0 DL de MDMA. Após a extração em meio básico, foram procedidas análises através de LC-MS. MDMA e seu metabólito, metileno-dioxi-anfetamina (MDA), foram detectados nas larvas e nos pupários vazios em concentrações diretamente proporcionais à dose administrada nos coelhos. As larvas de colônias criadas em tecidos que receberam 2,0 x DL de MDMA e aquelas do grupo controle desenvolveram mais rapidamente a partir de 24h até 114h. O tamanho máximo das larvas (20 mm) foi atingido no grupo controle em 84h. Para as larvas do grupo exposto a 2,0 x DL de MDMA, entretanto, o tamanho máximo foi de 19,1mm e atingido somente após 108h, enquanto a pupariação ocorreu somente com 190h. Este último tratamento também teve a menor taxa de mortalidade total durante o desenvolvimento. No que diz respeito à duração do período de pupa, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

LIMA (2009), por sua vez, realizou um estudo em larvas de moscas das espécies *C. megacephala*, *C. putoria* e *C. albiceps*, que foram criadas em dieta artificial contendo três doses diferentes de MDMA: 0,5 x DL, 1,0 x DL e 2,0 x DL. O desenvolvimento larval foi acompanhado através da pesagem em intervalos de 12 horas após a eclosão. Dentre as espécies estudadas, somente a *C. megacephala* teve seu desenvolvimento acelerado em 36h, quando comparadas ao grupo controle. Esse resultado corrobora com os achados de GOFF *et al.* (1997), quando as larvas de *P. ruficornis* foram submetidas a dieta contendo 2,0 x DL de MDMA. O grupo controle atingiu o peso máximo 96h após o início do experimento. Aquele submetido a 0,5 x DL atingiu esse mesmo peso com 74h, havendo uma diferença de 24h. Além disso, o peso máximo atingido pelos grupos expostos a 1,0 DL e 2,0 x DL foi menor que os grupos mencionados. As espécies *C. putoria* e *C. albiceps* não apresentaram mudanças significativas.

No mesmo estudo, LIMA (2009) submeteu as larvas de moscas das espécies *C. megacephala* e *C. putoria*, a uma dieta artificial contendo três doses diferentes de anfetamina, o principal metabólito da metanfetamina. As larvas foram submetidas a 1,0 x Dosagem Terapêutica (DT), 2,0 x DT e 5,0 x DT. O desenvolvimento larval novamente foi acompanhado através da pesagem das larvas de 12 em 12 horas, após a eclosão dos ovos. Amostras de larvas de terceiro estágio de desenvolvimento foram analisadas por imuno-histoquímica, método que, neste caso, mostrou-se inconclusivo para a detecção da droga. A anfetamina pareceu não afetar o desenvolvimento larval de *C. megacephala*. Todavia, influenciou a taxa de desenvolvimento das larvas de *C. putoria*, aumentando seu período de pupa, com uma diferença no intervalo de emergência de 24h.

CARVALHO (2005) submeteu coelhos a 2,0 x DL de anfepramona, por via endovenosa, através da orelha dos animais. Havia também um grupo controle, que recebia somente solução salina. Depois de sacrificados e necropsiados, os fígados dos coelhos foram expostos às seguintes espécies de califorídeos: *C. albiceps* e *C. putoria*. As larvas foram pesadas de 6 em 6h, até completarem 54h de desenvolvimento. Foi também avaliado o tempo de pupariação (início e fim), bem como o tempo de emergência do adulto. Foram procedidas análises nos tecidos dos coelhos e nos insetos necrófagos, através de GC-MS. Até o fim das 54 horas, não foram verificadas diferenças entre o grupo controle e as

larvas de *C. albiceps* que se alimentaram no fígado contendo anfetramona. Da mesma forma, não foram constatadas divergências em relação ao início e ao final da pupariação. Embora a emergência dos adultos tenha sido anterior para o grupo exposto ao fármaco, as diferenças apresentadas não eram significativas. Esses resultados vão ao encontro daqueles obtidos por LIMA (2009) em seus estudos sobre a anfetamina com *C. megacephala*. Já para a *C. Putoria*, a partir de 24 horas de contato com o fármaco, houve uma diferença significativa no desenvolvimento das larvas em relação ao controle, sendo que, no fim das 54 horas, o peso do grupo exposto à droga era quase o dobro do controle. As larvas de *C. putoria* empuparam mais rapidamente do que aquelas do grupo controle e a emergência dos adultos apresentou uma diferença de 48 horas entre o grupo experimental e o controle.

3.2.2.2. COCAÍNA

GOFF *et al.* (1989) detalharam os efeitos da exposição à cocaína e à benzoilecgonina, seu principal metabólito, sobre a taxa de desenvolvimento de larvas de *Boettcherisca peregrina* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Sarcophagidae). As larvas foram alimentadas com tecidos de coelhos expostos a 0,5 x DL, 1,0 x DL e 2,0 x DL de cocaína. Paralelamente, o grupo de coelhos controle recebeu solução salina.

Dois grupos foram distintos no que diz respeito à taxa de desenvolvimento das larvas: primeiro: o grupo controle e aquele ao qual foi dada a dose subletal; segundo: os grupos que foram administrados a DL e 2 x DL. Nos primeiros estágios de desenvolvimento, ambos os grupos tiveram taxas similares. A partir do momento em que as larvas atingiam o segundo instar, com cerca de 30h, o desenvolvimento larval foi significativamente maior para o segundo grupo. Esse desenvolvimento acelerado continuou até que fosse atingido o tamanho máximo e alcançado o estágio de pré-pupa. A fase de pré-pupa, marcada por uma diminuição no comprimento total do corpo e emigração para longe da fonte de alimento – o cadáver, assim como a fase de pupa, ocorreu mais cedo nas larvas alimentando-se de tecidos de coelhos que receberam doses de cocaína, em relação ao controle. A pupariação teve início antes nos tecidos com concentrações mais elevadas da droga, da benzoilecgonina, ou de ambos. A eclosão dos adultos seguiu a mesma ordem. Não foram observadas diferenças no tamanho e no peso das pupas, na duração desse estágio, nem em suas taxas de mortalidade.

CARVALHO *et al.* (2012) realizaram um estudo que teve como escopo a determinação do efeito da cocaína no desenvolvimento e crescimento de imaturos e varejeiras adultas. Foram injetadas 2,0 x DL de cocaína em coelhos. Paralelamente, no grupo controle era injetada somente solução salina. Posteriormente, os coelhos foram sacrificados, autopsiados e os fígados de ambos os grupos foram expostos às larvas recém-eclodidas de *C. putoria* e *C. albiceps*, duas moscas de interesse forense no Brasil. Pedacos de tecido do fígado foram colhidos, pesados e submetidos à análise qualitativa utilizando GC-MS para confirmar a presença da droga nas amostras.

CARVALHO *et al.* (2012) pesaram as larvas individualmente a cada 6 horas, até 54 horas de exposição, sendo depois colocadas em dieta artificial para continuar o seu desenvolvimento. As larvas de ambas as espécies que se alimentavam de fígados contendo cocaína se desenvolveram mais rapidamente do que aquelas do grupo controle, levando à conclusão de que a cocaína estimula o crescimento larval. A diferença de crescimento entre os grupos foi mais notável a partir de 12h de exposição. A exposição ao substrato afetou o peso corporal de maneira diferente entre as duas espécies avaliadas (*C. albiceps* e *C. putoria*), o que, provavelmente, ocorreu em função de uma diferença nas taxas de excreção e bioacumulação da droga. A presença de 2,0 x DL de cocaína nos fígados de coelho encurtou a fase larval de *C. albiceps* e *C. putoria*. O tempo necessário para pupariação e emergência dos adultos foi reduzido, sendo que em maior grau para *C. putoria*. Para as colônias de larvas que se alimentam de tecidos de coelho do grupo contendo cocaína, a pupariação começou e terminou mais cedo e houve uma redução significativa na duração da fase de pupa. Os adultos tratados também emergiram antes do que aqueles do grupo controle. Essa diferença foi de 2 dias, o que poderia gerar um erro significativo no cálculo do IPM. A mortalidade dos adultos expostos à cocaína foi menor para ambas as espécies, em relação ao grupo controle.

Estes estudos realizados por CARVALHO *et al.* (2012) corroboram com os achados de GOFF *et al.* (1989), embora sugiram que Sarcophagidae e Calliphoridae respondem de forma diferente às drogas, e essa variação pode existir mesmo entre espécies da mesma família.

3.2.2.3. ETANOL

TABOR *et al.* (2005) estudaram os efeitos da ingestão *ante-mortem* de etanol por porcos domésticos, *Sus scrofa L.*, sobre os padrões de sucessão e o desenvolvimento de larvas de *Phormia regina* (Meigen). As larvas foram coletadas das carcaças durante 10 dias após a morte de animais tratadas oralmente e por via intravenosa com etanol, ou de porcos pertencentes ao grupo controle. Foram realizados dois estudos seguidos. Foram coletadas 29 espécies para as carcaças de porcos tratados com etanol e 27 espécies para o grupo controle. Os dípteros foram os primeiros a chegar a ambas as carcaças, sendo representados pelas famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae. *P. regina* e *Phaenicia coeruleiviridis* (Macquart) foram os califorídeos mais comuns. Besouros de seis famílias foram coletados nas carcaças de porcos tratados com etanol, mas apenas três dessas famílias foram coletadas em carcaças dos porcos não tratados. Apesar dessas divergências relatadas, não foram constatadas diferenças estatísticas no padrão sucessional de colonização dos porcos tratados com álcool e do grupo controle. Também não foram verificadas divergências nos padrões de decomposição em ambos os grupos.

Os resultados do estudo de TABOR *et al.* (2005) sobre o desenvolvimento das larvas de *P. regina* mostraram que houve uma diferença significativa no comprimento das larvas criadas em tecidos dos porcos tratados com etanol em relação àqueles não tratados. Larvas que se alimentavam de tecidos de suínos tratados com etanol levaram, em média, 11,9 horas a mais para chegar ao estágio de pupa do que aquelas não expostas ao etanol, o que poderia gerar um equívoco na estimativa do IPM. O maior tempo de desenvolvimento das larvas no tecido de suínos tratados com etanol deveu-se principalmente ao maior período de pós-alimentação de larvas no terceiro instar.

3.2.2.4. FENCICLIDINA

GOFF *et al.* (1994), utilizando-se de larvas de *P. ruficornis*, investigaram os efeitos da fenciclidina. Três diferentes concentrações da droga foram administradas em coelhos que, depois de sacrificados, serviram de substrato para as larvas.

A fenciclidina foi detectada em todas as três concentrações estudadas nas larvas através de GC-MS. Todavia, não foi possível estabelecer uma relação direta entre a dosagem administrada da droga e

a concentração detectada nos tecidos, o que evidencia as dificuldades das análises quantitativas em larvas. Não foram observadas diferenças significativas na taxa de crescimento das larvas entre as colônias, embora a duração do estágio de pós-alimentação foi menor para as larvas alimentadas com tecidos que continham a droga. As diferenças médias de duração da fase larval em colônias tratadas com a fenciclidina foram de 3 a 17 horas a menos, em relação às larvas do grupo controle. A mortalidade durante a fase larval foi diretamente relacionada com a dose administrada de fenciclidina, variando de zero no grupo controle, a 29% nas colônias expostas à maior concentração da droga. A duração da fase de pupa foi maior para colônias alimentadas com tecidos contendo o tranquilizante.

3.2.2.5. HEROÍNA

GOFF *et al.* (1991) realizaram um estudo em larvas de moscas *B. peregrina*, que foram criadas em tecidos contendo heroína. Depois da eclosão dos ovos, no intervalo de tempo de 18h a 96h, observou-se maior desenvolvimento das larvas expostas à heroína, em relação ao grupo controle, até atingir o comprimento máximo, em 96h. As diferenças observadas nas taxas de desenvolvimento do grupo exposto à heroína e do grupo controle foram suficientes para alterar as estimativas de IPM com base no desenvolvimento larval em até 29 horas. Como o tempo necessário para pupariar foi maior no grupo exposto à droga, as estimativas de IPM poderiam apresentar um equívoco de 18 a 38h, se as pupas fossem analisadas negligenciando o uso da droga.

3.2.2.6. KETAMINA

ZOU *et al.* (2013) investigaram o efeito da ketamina no desenvolvimento de *L. sericata*. Pares de coelhos foram expostos por via intravenosa a 0,25 x DL, 0,50 x DL, 1,0 x DL e 2,0 x DL de ketamina. Paralelamente, ao grupo controle foi dada somente solução salina. Os coelhos foram então sacrificados e tiveram seus músculos e fígado retirados. Ovos de *L. sericata* foram separadamente criados sobre os músculos e sobre os fígados contendo as diferentes doses de ketamina. Os autores constataram que a ketamina pode encurtar a fase larval. Os grupos controle tiveram fase larval com duração de 108 horas, até atingir o estágio de pupa. Para as larvas criadas em fígado contendo 1,0 x DL de ketamina, a fase larval caiu para 96h, enquanto que, para as colônias criadas no músculo contendo 0,5 x DL de ketamina, o estágio larval também caiu para 96h, atingindo seu menor valor, 84h, com 2,0 x

DL, e ocorrendo um aumento abrupto para 108h na 1,0 x DL. Ketamina poderia atrasar o início do desenvolvimento de larvas criadas nos músculos e expostas a altas dosagens do fármaco. As amostras de larvas coletadas nas primeiras 12 horas, que foram tratadas com 1,0 x DL e 2,0 x DL estavam no primeiro instar, enquanto que as outras colônias já tinham entrado no segundo instar. No que diz respeito ao comprimento do corpo da larva, para as larvas alimentadas com o fígado, de 12h a 36h, foram observadas diferenças significativas entre controle e outras colônias, exceto a colônia criados em 0,25 x DL; e de 48h a 60h, diferenças significativas também ocorreram entre o grupo controle e aquele exposto a 0,25 x DL. Sendo assim, todos os grupos tratados com ketamina apresentaram alguma diferença em relação ao grupo controle. Para larvas alimentadas no músculo, foram observadas diferenças significativas entre o grupo controle e aqueles expostos à droga, mas de maneira flutuante. Já em relação ao peso corporal das larvas, aquelas que se alimentaram em fígado contendo ketamina apresentaram diferenças em relação ao grupo controle, especialmente nos tempos de 12h, 48h e 60h. Todavia, com 24h e 36h nenhuma diferença significativa foi observada entre o grupo controle e aquele exposto a 0,25 x DL. Também foram verificadas diferenças em relação ao peso corporal das larvas alimentadas do músculo, mas essas diferenças foram dispersas. Foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e tratamento nas colônias de *L. Sericata* em cada fase da vida, e o efeito da ketamina era dependente da dosagem e do tempo de exposição à droga. Não foram verificadas diferenças no tamanho do corpo nem no peso larval. A observação patológica revelou que a ketamina poderia promover o crescimento de trofócitos de tecido adiposo da *L. sericata*. Por fim, ZOU *et al.* (2013) chamam a atenção para as diferenças observadas entre os parâmetros medidos para as larvas expostas às mesmas dosagens da ketamina, mas em tecidos diferentes (músculo e fígado), evidenciando que o local de coleta da amostra entomológica pode afetar os exames toxicológicos nessas amostras alternativas.

3.2.2.7. MACONHA

CARVALHO (2005) submetem coelhos a 2,0 x DL de *Cannabis sativa* por via endovenosa. Esses animais foram sacrificados posteriormente. Seus fígados foram então separadamente expostos a larvas de *C. albiceps* e de *C. putoria*. Amostras de larvas foram então pesadas de 6 em 6h, até 54h, quando se verificou que ambas as espécies

expostas à droga tiveram uma diferença no peso significativamente superior ao controle. O tempo de pupariação de ambas as espécies expostas à maconha foi significativamente mais rápido, em relação aos respectivos controles. Para *C. albiceps*, somente o término da pupariação foi estatisticamente significativo. Já para *C. putoria* exposta à maconha, tanto o início quanto o término desse processo foi significativamente alterado. Embora os adultos de ambos os grupos controle tenham empupado após o grupo exposto à maconha, a emergência das moscas ocorreu antes para o primeiro grupo mencionado. Por fim, destaca-se que as taxas de mortalidade de *C. albiceps* e *C. putoria* expostas à maconha foram significativamente maiores que as verificadas nos grupos controle.

Em outro estudo, KARAMPELA *et al.* (2015) aplicaram a técnica de LC-MS para a identificação e quantificação de delta-9-tetra-hidrocanabinol (THC) e do seu metabólito ácido tetra-hidrocanabinólico (THCA) nas larvas de *L. sericata*, método que se mostrou sensível para a detecção mesmo na amostra de uma única larva. Posteriormente, aplicou-se a técnica desenvolvida em um caso concreto forense.

Uma mulher de 30 anos de idade com histórico de transtornos psiquiátricos foi encontrada enforcada. O corpo estava na fase inicial de decomposição, com uma extensa população de larvas de *L. sericata*. Após investigação policial e autópsia completa, determinou-se suicídio como a causa da morte. Foi feito um *screening* toxicológico em amostra de urina. Larvas do segundo instar foram coletadas para análise por LC/MS. A análise toxicológica da urina e do fígado mostrou a presença de canabinoides. O resultado foi negativo para cocaína, opiáceos, benzodiazepínicos e álcool. A análise toxicológica em tecidos biológicos humanos foi corroborada com o exame em larvas de *L. sericata*.

3.2.2.8. NICOTINA

O estudo realizado por PARRA *et al.* (2016) objetivou verificar se a *Nicotiana tabacum* L. pode alterar a colonização do cadáver por insetos necrófagos, de forma a interferir na decomposição cadavérica dos usuários de nicotina e, conseqüentemente, alterando a estimativa de IPM. No estudo, camundongos foram submetidos à inalação passiva de fumaça de cigarro comercial (alcatrão 13,0 mg, nicotina 1,10 mg, monóxido de carbono 10 mg), inalando a fumaça de 14 (quatorze)

cigarros por dia, em duas sessões diárias de 30 minutos, seis dias por semana, durante 45 dias. Posteriormente, os camundongos do grupo experimental e aqueles do grupo controle, que não foram expostos à nicotina, foram sacrificados e acondicionados em gaiolas.

Enquanto o grupo controle foi extensamente colonizado por diversas espécies Dípteras, tais como *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819), *C. megacephala*, *C. albiceps*, *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805), e teve sua decomposição em oito dias, seguido do fenômeno de mumificação; o grupo exposto à nicotina não foi colonizado por dípteros, tampouco se observou oviposição durante o período de coleta. A única entomofauna presente foi de Hymenópteros, mais precisamente de formigas, que aceleraram o processo de decomposição. Em cinco dias, a carcaça atingiu o estágio de esqueletização.

Em outro estudo realizado por Moratore *et al.* (2009), populações de *Drosophila melanogaster* M. foram expostas às concentrações de 0, 5, 10 e 15% do extrato aquoso de *Nicotiana tabacum* L. Foram medidas as taxas de mortalidade 24h e 48h após os experimentos. A mortalidade no grupo controle foi igual a zero, enquanto que, em 24h, o extrato aquoso na concentração a 10% matou 50% das moscas. À medida que se aumentava a concentração de fumo, a taxa de letalidade também crescia.

Os achados de Moratore *et al.* (2009) e PARRA *et al.* (2016) mostram as ações repelente, inseticida e larvicida da nicotina, evidenciando a ocorrência de uma quebra no padrão de sucessão da entomofauna cadavérica, o que, por sua vez, pode alterar a estimativa do IPM.

3.2.3-PESTICIDAS

3.2.3.1. MALATHION

GUNATILAKE e GOFF (1989) identificaram a presença de malathion em um homem com histórico de tentativas de suicídio, que havia sido encontrado morto abaixo da casa de sua mãe, em Honolulu, no Havaí. Próximo ao corpo da vítima, havia uma garrafa de malathion com parte de seu conteúdo faltando. Tecidos da vítima foram analisados por GC, sendo detectado Malathion. Também foram coletadas duas larvas, uma de *Chrysomya rufifacies* (Macquart) e outra de *C. megacephala*, que também foram analisadas, corroborando com a

presença do inseticida. Destaca-se, neste caso, que o estado de desenvolvimento das larvas coletadas sugeriam um IPM de cerca de 5 dias. Todavia, a última vez que a vítima foi vista com vida teria sido há 8 dias. Os autores sugeriram que o malathion, um inseticida organofosforado, alterou os padrões comportamentais de oviposição, atrasando a postura dos ovos. Além dessa alteração, observou-se que a biodiversidade encontrada no cadáver estava muito aquém daquela esperada, considerando um cadáver no Havaí, em área aberta e com intervalo de morte entre 5 e 8 dias. Isso corrobora essa alteração do malathion nos padrões de colonização do cadáver pelos insetos.

LIU *et al.* (2009) realizaram um estudo na China a fim de determinar a concentração de malathion em tecidos de coelho e larvas de *C. megacephala*, as espécies mais comuns encontradas em cadáveres durante as fases iniciais da decomposição, no sul da China. Os coelhos foram expostos a 0,5 x DL, 1,0 x DL e a 1,5 x DL de malathion. As análises foram feitas por GC-MS. Malathion foi encontrado em amostras de músculo e fígado dos coelhos, bem como nas larvas que se alimentaram deles. A concentração do pesticida reduziu no estágio de pré-pupa, e foi completamente eliminado no estágio de pupa. A presença de malathion parece retardar a taxa de crescimento das larvas de *C. megacephala*. Larvas de todas as colônias alimentadas com tecidos de coelhos tratados com malathion eram menores e atingiam o comprimento máximo mais tarde do que aquelas do grupo controle. A duração das fases de larva e de pupa foi significativamente prolongada nos grupos expostos ao malathion, em relação àqueles do grupo controle. A diferença de duração das fases de larva e de pupa em conjunto nas colônias que se alimentaram dos músculos contendo malathion alteraria a estimativa do IPM em até 36 horas. Quanto às colônias que se alimentaram de fígado, seria verificada uma alteração de IPM em até 28h. Evidencia-se, portanto, que o tecido do qual as larvas de *C. megacephala* se alimentam pode alterar sua taxa de crescimento, o que deve ser levado em conta na elaboração de modelos animais que visem estimar o IPM.

Os estudos feitos por MAHAT *et al.* (2009) em Kelantan, na Malásia, por um período de 1 ano, corroboraram um retardo no tempo de desenvolvimento das larvas e pupas de *C. megacephala*, espécie mais abundante a infestar as carcaças de coelhos, seguida por *C. rufifacies*. A presença de malathion nas carcaças adiou a oviposição inicial por 1 a 3

dias, o que também vai ao encontro do trabalho realizado por GUNATILAKE e GOFF (1989), e prolongou o período de pupa por 2 a 3 dias. Esse estudo também avaliou a influência da chuva sobre o padrão de colonização dos cadáveres, sendo constatado um retardo da oviposição de 1 a 2 dias e o prolongamento do tempo de pupa de 1 a 3 dias. Estes achados merecem consideração ao estimar o IPM.

3.2.3.2. PARAQUAT

Mahmood *et al.* (2015) realizaram um estudo a fim de observar o efeito da DL do paraquat, um dos principais agentes utilizados em suicídios em muitos países em desenvolvimento, no processo de decomposição de coelhos brancos da Nova Zelândia, que, depois de sacrificados, foram expostos às larvas de *C. rufifacies*. As análises toxicológicas foram feitas por HPLC. As concentrações mais altas do herbicida foram observadas em larvas no terceiro instar, verificando-se seu decréscimo no estágio de pupa e sua completa eliminação no estágio de adulto. Destaca-se, ainda, que o paraquat pode ter desempenhado um impacto nos adultos, já que algumas moscas emergiram para essa fase sem asas.

3.2.3.3. PARATHION

WOLFF *et al.* (2004), através de HPLC, separaram e quantificaram parathion em artrópodes coletados de coelhos tratados com a DL do composto. Foram detectados parathion em estágios diferentes de artrópodes das seguintes ordens: Diptera, Coleoptera, Himenóptera, Isopoda e Acari, os quais foram coletados em todos os estágios de decomposição, do estágio inicial até os restos secos. Apesar do pequeno tamanho, Isopoda e Acari acumularam Parathion em quantidades suficientes para detecção. O composto apresentou efeitos inseticidas na entrada da boca dos coelhos tratados, o que é bastante relevante, uma vez que a maioria dos insetos necrófagos põem seus ovos nas cavidades do corpo, sejam elas naturais, ou produzidas por feridas. Ademais, não foram observadas alterações na sucessão dos insetos, divergindo dos resultados observados em no estudo realizado por GUNATILAKE e GOFF (1989), com o malathion, ocasião em que foram constatados um atraso na oviposição e uma alteração dos insetos colonizadores dos cadáveres.

3.2.3.4. PROPOXUR

WOLFF *et al.* (2006) estudaram a detecção e quantificação de propoxur em Dípteros e Coleópteros em insetos coletados durante a sucessão ecológica em carcaças de coelhos, através de análise por HPLC. No estudo em tela, três coelhos foram submetidos à eutanásia com uma sobredose de propoxur, além de haver um quarto coelho como grupo controle negativo que foi sacrificado através de deslocamento cervical. Os coelhos foram monitorizados durante 28 dias, três vezes ao dia (7, 13 e 18 horas). Durante este período foram recolhidos insetos imaturos e adultos, e se mediu a temperatura ambiente, a temperatura do corpo e a perda de peso. Cinco fases de decomposição dos coelhos foram registradas: fresca, inchado, decomposição ativa, decomposição avançada e mumificado. Não fora observada fase de restos. A maioria dos indivíduos que colonizaram os coelhos foi de Diptera e Coleoptera. Entre os Dípteros, primeiros a chegar aos cadáveres, pode-se citar as famílias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae e Phoridae. Já entre os Coleópteros, foram constatadas as famílias Trogidae, Staphylinidae, Dermestidae e Cleridae. Com relação ao consumo de cadáveres, a presença do veneno não alterou os estágios sucessionais em insetos. Foram coletados 73 indivíduos entre imaturos (larvas I, II, III e pupas) e adultos. Houve um resultado positivo em 56% das amostras, desde larva I até adulto, e em todos os estágios sucessionais de decomposição.

3.2.4-METAIS

SOHAL e LAMB (1979) estudaram o armazenamento e a excreção de diversos metais, incluindo o Zinco (Zn), o Cálcio (Ca) e Cobre (Cu) em adultos de *Musca domestica* Linnaeus (Muscidae). Entre 01 e 25 dias, após a eclosão dos ovos, os adultos foram criados em diferentes grupos, como segue: A: solução de sacarose à vontade; B: solução de sacarose mais sulfato de Zinco 0,05%; C: solução de sacarose mais fosfato de Cálcio 0,05%; D: solução de sacarose mais sulfato de Cobre 0,03%. Em todos os grupos, havia água da torneira livremente disponível. As moscas fêmeas de diferentes idades foram dissecadas e os túbulos de Malpighi, o intestino médio e o restante do corpo das moscas foram analisados quanto ao teor de minerais, através de espectrofotometria de absorção atômica. Verificou-se um aumento no conteúdo de metal total das moscas à medida que se passavam os dias. O Zn e Ca foram armazenados principalmente nos tubos de Malpighi, enquanto o Cu foi sequestrado no intestino médio. Os exames microscópicos das células epiteliais dos tubos de Malpighi e do intestino

médio também revelaram um aumento da mineralização dessas células, associados ao aumento da idade das moscas. Não houve diferenças significativas na expectativa de vida das moscas nos diferentes grupos expostos aos respectivos metais, quando comparados ao grupo controle negativo.

SOHAL *et al.*, (1976 e 1977) também estudaram a acumulação de Fósforo, Enxofre, Cloro e Ferro, que se acumularam similarmente nos túbulos de Malpighi; além do Potássio, que também se acumulou de maneira semelhante no intestino médio.

NUORTEVA e NUORTEVA (1982) relataram a presença de mercúrio em larvas, pupários e adultos de Calliphoridae criados em substrato de peixe contendo mercúrio em sua forma metilada. Detectou-se mercúrio também em Staphylinidae (Coleópteros) que predaram as larvas Dipteras que se alimentaram dos peixes. Esses experimentos entomotoxicológicos posteriormente serviram na resolução de um caso de um cadáver do sexo feminino encontrado em estágio avançado de decomposição em uma área rural da Finlândia.

Por fim, em 1985, LECLERCQ e BRAHY demonstraram a presença de arsênio em moscas das famílias Piophilidae, Psychodidae e Fanniidae em um caso de envenenamento na França.

3.2.5-OUTROS FÁRMACOS

3.2.5.1. ANTIBIÓTICOS

SHERMAN *et al.* (1995) realizaram um experimento sobre a ação de sete antibióticos sobre as larvas de *Phaenicia sericata* (Diptera: Calliphoridae) (Meigen). Foram estudados os efeitos dos seguintes fármacos sobre as larvas: penicilinas (ampicilina), penicilinas de espectro estendido (mezlocilina), cefalosporinas de primeira geração (cefazolina), cefalosporinas de terceira geração (ceftizoxima), aminoglicosídeos (gentamicina, clindamicina e vancomicina). As concentrações avaliadas foram de 1, 10, 100 e 1.000 vezes a média mínima bactericida ou bacteriostática contra organismos altamente susceptíveis. Estes antibióticos foram adicionados ao meio de cultura nas várias concentrações ora mencionadas, e larvas com um dia de desenvolvimento foram colocados a esse meio. Houve uma redução na sobrevivência das larvas em meios com gentamicina na concentração de

1.000 vezes o nível médio farmacológico, ou 4.000 ug / ml (2,7% de sobrevivência), enquanto que nas concentrações mais baixas a taxa de sobrevivência variou de 80 a 88%. A maturação das pupas que sobreviveram também diminuiu nesta concentração. Neste mesmo meio, contendo a concentração mais elevada de gentamicina, a taxa de emergência dos adultos foi nula. Os meios com concentrações de cefazolina de 100 vezes o nível bacteriostático, ou 800 ug/ml, também levaram a uma diminuição significativa na sobrevivência das larvas (70%). Não houve diferenças na sobrevivência das larvas, na taxa de maturação, nos pesos das pupas ou na duração de quaisquer estágios larvais dos organismos cultivados nos meios contendo ampicilina, ceftizoxima, clindamicina, mezlocilina e vancomicina. As larvas de *P. sericata* amadureceram normalmente, quando expostas a níveis padrões farmacológicos dos sete antibióticos testados.

FERRAZ *et al.* (2014) estudaram os efeitos do antimicrobiano ciprofloxacino sobre bactérias *C. putoria*. Foram testadas três tratamentos em quatro replicatas, (3,33 µg/mL, 6,66 µg/mL, e 13,33 µg/mL), através do uso do antibiótico Hifloxan® 400mg (cloridrato de ciprofloxacino), além de haver um grupo controle. A concentração de 3,33 µg/mL teria aproximadamente um valor intermediário da concentração sérica, após administração oral (500 mg via oral, administração de 12 em 12 horas, concentração sérica de 2,97 µg/mL), ou após administração intravenosa (400 mg via intravenosa, administração de 12 em 12 horas, concentração sérica de 4,56 µg /mL). FERRAZ *et al.* (2014) não constataram diferenças entre os quatro tratamentos testados no que diz respeito aos seguintes parâmetros: a média dos pesos das larvas, a média do período de inoculação da larva até o abandono do substrato, a duração dos estágios de larva e pupa, e a duração total do período de desenvolvimento. A taxa de sexo constatada entre os adultos após o desenvolvimento larval também não foi alterada. Apenas o tratamento de 6,66 µg/mL diferiu significativamente no que diz respeito à viabilidade das larvas e dos adultos, obtendo-se a maior taxa de viabilidade em relação aos outros tratamentos e ao grupo controle. No geral, o ciprofloxacino não parece alterar o desenvolvimento da *C. putoria* no período pós- embrionário.

Em outro estudo, FERRAZ *et al.* (2014) avaliaram o efeito da Gentamicina sobre o desenvolvimento das larvas de *C. putoria*, através do uso do antibiótico Hytamicina® 40mg (sulfato de gentamicina).

Larvas no primeiro instar, de terceira geração, foram criadas em três concentrações de gentamicina: 4,44 mg/ml, 13,33 mg/ml, e 66,66 mg/ml. A primeira concentração é próxima à concentração sérica, após administração intravenosa; a segunda é próxima à concentração sérica máxima, também pela mesma via de administração; e a terceira é aproximadamente cinco vezes segunda concentração. Havia também um grupo controle, ao qual foi dado água destilada, em detrimento ao antibiótico. Cada concentração foi replicada quatro vezes, utilizando 40 larvas a cada repetição. Não foram observadas diferenças no que tange ao peso das larvas (medido após o abandono da dieta), à duração dos estágios larval e de pupa, e ao tempo total de desenvolvimento. A taxa de sexo obtida foi comparada com aquela esperada e também não houve discrepâncias. Todos os adultos de todos os tratamentos emergiram normais. Destaca-se somente que, para a gentamicina na concentração de 13,33 mg/ml, obteve-se maior viabilidade larval em relação ao grupo controle e aos outros tratamentos, embora em todos os casos a viabilidade tenha sido superior a 60%. Todas as larvas de todos os tratamentos foram consideradas normais. Conclui-se que a gentamicina não altera de maneira significativa o desenvolvimento de *C. putoria*, de forma que seu uso não alteraria a estimativa de IPM, corroborando com os estudos realizados por SHERMAN *et al.* (1995).

FERRAZ *et al.* (2015) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações da ampicilina sobre o crescimento e a taxa de desenvolvimento de *C. putoria*. Além do grupo controle, foram estudadas as seguintes concentrações: T1 = 41,66 mg/mL, T2 = 81,33 mg/ml e T3 = 166,66 mg/ml, valores estipulados a partir da administração de 1g de ampicilina via intravenosa, quando se atinge 40 µg/ml no soro. Não houve diferenças significativas entre os quatro tratamentos nos seguintes parâmetros: massa corporal das larvas, bem como a duração dos estágios de larva, pupa e da taxa de desenvolvimento total. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para a viabilidade larval e, embora a viabilidade das pupas tenha diferido entre os grupos, o antibiótico não pareceu alterar significativamente o desenvolvimento de *C. putoria*, também indo ao encontro do trabalho realizado por SHERMAN *et al.* (1995).

3.2.5.2. ESCOPOLAMINA

Utilizando-se de larvas de *C. Megacephala*, Oliveira *et al.* (2009) estudaram os efeitos de brometo da butilescopolamina

(Buscopan®), fármaco utilizado como analgésico e do qual existem registros de intoxicação. A DL da droga é 1270 mg/kg e os autores estudaram o efeito de 0,25 x DL; 0,5 x DL; 1 x DL; 2 x DL, além de haver um grupo controle. Foi verificado que as larvas expostas ao fármaco tinham uma diminuição da taxa de desenvolvimento, apresentando menor peso e comprimento corporal, quando comparadas com o grupo controle. A mortalidade das moscas também foi influenciada pela presença da droga. Os imaturos expostos a 2 x DL não tiveram ganho significativo de peso e tamanho até a morte, que ocorreu com 54h de experimento.

Um estudo similar foi feito por THYSSEN e GRELLA (2011) a fim de verificar o efeito da escopolamina sobre a taxa de desenvolvimento larval de *C. putoria*. Considerando o mesmo valor de dose letal, os imaturos foram expostos a 0,25 x DL; 0,5 x DL; 1 x DL; 2 x DL, além do grupo controle. Novamente, foi constatado que o fármaco retarda a taxa de desenvolvimento das larvas, principalmente a partir de 0,5 x DL. Enquanto o grupo controle levou 254 horas para emergir o adulto, com taxa de viabilidade de 95,6%, o grupo exposto à dose letal demorou 312 horas para emergir, com taxa de viabilidade de somente 69,2%. Já os imaturos expostos a 2 x DL novamente apresentaram taxa de mortalidade de 100% decorridas somente 60 horas da eclosão dos ovos.

3.2.5.3. ESTEROIDES

FERRARI *et al.* (2008) investigaram a influência da testosterona no desenvolvimento larval de *C. albiceps*. O arranjo experimental foi realizado a partir de ovos de uma colônia dessa espécie mantida em laboratório. Os ovos foram divididos em quatro grupos de 30 e colocados em potes de vidro com 50g de dieta artificial cada, tendo sido a dieta acrescida de testosterona em dois deles. Foram realizadas pesagens de 12 em 12 horas durante todo o intervalo de crescimento larval. As larvas do grupo controle e do grupo testosterona não apresentaram diferença em relação ao tempo de desenvolvimento nos diferentes estádios larvais. Entretanto, além de apresentar um tamanho aumentado, aquelas larvas expostas à testosterona apresentaram o peso cinco vezes maior do que aquelas do grupo controle. Todas as larvas expostas à testosterona completaram seu desenvolvimento pós-embrionário, o que não ocorreu com as larvas do grupo controle, em que

os índices de mortalidade foram maiores em relação ao grupo experimental.

DA SILVA e VILLET (2006) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de progesterona sobre o desenvolvimento das larvas da espécie *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). Constataram não haver diferenças no desenvolvimento dessas larvas, indicando que a presença do hormônio progesterônico em um cadáver não afetaria a estimativa do IPM.

SANTOS (2013) estudou o efeito do anticoncepcional Ciclo 21® (cada comprimido com etinilestradiol 0,03 mg + levonorgestrel 0,15 mg), do Laboratório União Química Farmacêutica Nacional S/A, sobre o desenvolvimento larval de *C. megacephala*. Além do grupo controle, foram testadas três dosagens do medicamento: D1: 0,003 g, D2 0,03 g e D3 3,0 g, dadas às larvas através de alimentação artificial. Os testes estatísticos evidenciaram que as dosagens de 0,003 g e 0,03 g não apresentaram diferença em relação ao grupo controle, embora nos intervalos de tempo de 32 horas a 64 horas, aceleraram levemente o crescimento. Já a dosagem mais alta, 3,0g, alterou o tempo de desenvolvimento das larvas em estudo, retardando o tempo de desenvolvimento e aumentando o tempo necessário para empupação.

MUSVASVA *et al.* (2001) estudaram o efeito de 0,5 x DL, da DL, e de 2,0 x DL da hidrocortisona no desenvolvimento de imaturos de *Sarcophaga (Curraea) tibialis* (Macquart) (Diptera: Sarcophagidae). Juntamente com o esteroide, foi estudado o efeito das mesmas doses do barbitúrico meto-hexital sobre as larvas. Não foram verificadas diferenças nas taxas de mortalidade das larvas, nem malformações em adultos. Larvas expostas a qualquer um dos fármacos levou significativamente mais tempo para pupariar, enquanto que as larvas expostas a meto-hexital passaram pelo estágio de pupa mais rápido que o grupo controle. Não foi verificada nenhuma relação sistemática entre a concentração das drogas e o tempo de desenvolvimento das larvas ou pupas. O período de desenvolvimento total desde a eclosão dos ovos até a emergência dos adultos não diferiu entre os tratamentos, não intervindo, portanto, na estimativa do IPM.

O tempo de desenvolvimento das larvas foi significativamente atrasado pela presença de hidrocortisona, e/ou seus metabólitos. Verificou-se que, por um lado, houve uma aceleração no tempo de

desenvolvimento larval, enquanto que, por outro lado, o tempo de pupariação foi atrasado. Todavia, apesar dessas constatações, não foi encontrada relação entre a concentração dessa droga e o tempo de desenvolvimento.

3.2.6. Rastreamento de drogas relacionadas ao tráfico de entorpecentes

Crosby *et al.* (1986), após uma grande apreensão de *Cannabis* na Nova Zelândia, tentaram identificar a origem da droga. Depois de os métodos físico-químicos tradicionais se mostrarem falhos para esse fim, tentou-se uma nova alternativa. As amostras foram identificadas qualitativamente através de técnicas de microscopia, teste de Duquenois e cromatografia em camada delgada. Posteriormente, o material foi minuciosamente analisado, sendo encontradas sessenta amostras particuladas de insetos mortos em meio ao material. Para a identificação, os restos de insetos foram montados e devidamente fotografados usando MEV. Após a precisa identificação dos insetos por entomologista forense, foi possível verificar seus locais de origem. Estabeleceu-se, assim, que a *Cannabis sativa* apreendida era importada do Sudeste da Ásia, dentro de uma zona a 500 quilômetros de Bancoque.

4. CONCLUSÃO

A entomologia forense é uma ferramenta de uso extremamente valioso para as investigações criminais, conforme debatido ao logo desta revisão. Além de ser amplamente utilizada para estimar o IPM, seja através da determinação da idade dos insetos que colonizam um determinado cadáver, ou mediante a sucessão ecológica dos artrópodes. Ademais, também é possível engrandecer um arcabouço probatório com informações sobre como e onde ocorreu uma morte, bem como recuperar fragmentos de DNA da vítima e/ou autor de um fato delituoso no trato digestivo dos insetos. A entomologia forense também permite ratificar ou afastar álbis em casos de negligência para com menores de idade ou idosos.

A entomotoxicologia forense, por sua vez, também se mostra uma ferramenta forense bastante útil, especialmente em casos em que as amostras normalmente utilizadas em análises toxicológicas, tais como urina, sangue, órgãos, já não se encontram presentes, ou têm suas análises prejudicadas em razão do elevado decomposição do cadáver. Substâncias químicas comumente encontradas em análises toxicológicas convencionais em diversas situações de crimes também foram amplamente analisadas de maneira qualitativa em amostras obtidas através de insetos, entre as quais se podem citar: anfetamínicos, benzodiazepínicos, antidepressivos, cocaína, opioides, álcool, heroína, maconha, nicotina, inseticidas etc.

Além da possibilidade de identificação destas e de tantas outras drogas nos insetos, vale destacar que esses agentes tóxicos podem alterar o ciclo de vida dos artrópodes, bem como o padrão de colonização dos cadáveres, de maneira a interferir na estimativa do IPM, se esses efeitos forem negligenciados.

Ressalta-se que bastante pesquisa ainda é necessária, a fim de entender a farmacocinética das drogas nos insetos – taxa de absorção, metabolismo, mecanismos de eliminação e/ou bioacumulação etc –, uma vez que isso depende de diversos fatores já conhecidos, tais como espécie, fase de desenvolvimento e se o inseto está se alimentando ativamente, ou não, além de outros parâmetros que talvez ainda sequer tenha conhecimento. Estas e outras pesquisas se fazem necessárias para que se estabeleçam protocolos para realização de análises quantitativas,

que ainda são vistas com certo grau de ceticismo por alguns pesquisadores, uma vez que, em alguns casos, obtêm-se correlação quantitativa entre a droga previamente administrada e a concentração encontrada nos insetos, e em tantos outros não.

Por fim, destaca-se que dentro do ambiente acadêmico, as pesquisas básicas são desenvolvidas. Já dentro dos órgãos de perícia as pesquisas básicas representam um produto – a ciência aplicada na prática. Sendo assim, faz-se necessária a aproximação dos órgãos de perícia do meio acadêmico, o que vem sendo desenvolvido, por exemplo, entre o IGP e a UFSC, a fim de que a pesquisa entenda de maneira empírica as necessidades do dia a dia dos órgãos periciais, e para que estes possam produzir uma prova cada vez mais robusta, e amparada por métodos técnico-científicos certificados internacionalmente, visando à instrução das mais diversas investigações criminais, com resposta à sociedade na resolução de crimes.

5. REFERÊNCIAS

ALTUNSOY, Ferhat; AKAY, Furkan Halil; ÖNSOY, Cenk. Preliminary observations of the effects of lorazepam on the development of *Calliphora vicina* and *Calliphora loewi* (Diptera: Calliphoridae) and PMI estimation. **ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY–C Life Sciences and Biotechnology**, v. 3, n. 2, 2014, p. 45-52.

AMENDT, J.; ZEHNER, R.; RECKEL, F. The nocturnal oviposition behavior of blowflies (Diptera: *Calliphoridae*) in Central Europe and its forensic implications. **Forensic Science International**, Limerick, v. 175, n. 1, fev. 2008, p. 61-64.

AMENDT J, CAMPOBASSO CP, Gaudry E, Reiter C, LeBlanc HN, Hall MJ. Best practice in forensic entomology--standards and guidelines. *Int J Legal Med.* 2007 Mar;121(2):90-104.

AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R. Forensic entomology. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, n. 2, 2004, p. 51- 65.

ANDERSON, G. S. Determining time of death using blow fly eggs in the early postmortem interval. **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 118, n. 4, 2004, p. 240-241.

ANDERSON, G. S. Succession on carrion and its relationship to determining time of death. In: BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. (Ed.). **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations**. Boca Raton: CRC, 2001. p. 143-175.

ANDERSON, G. S. Wildlife forensic entomology: determining time of death in two illegally killed black bear cubs. **Journal of Forensic Sciences**, Malden, v. 44, n. 4, 1999, p. 856-859.

ASHWORTH, J.R. & WALL, R., Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. **Med. Vet. Entomol.**, 8 (1994): 303-309.

BACHMANN, J.; SIMMONS, T. The influence of preburial insect access on the decomposition rate. **Journal of Forensic Sciences**, Malden, v. 55, n. 4, 2010, p. 893-900.

BAIA, Tainá C. *et al.* FTIR microspectroscopy coupled with variable selection methods for the identification of flunitrazepam in necrophagous flies. **Analytical Methods**, v. 8, n. 5, 2016, p. 968-972.

BENECKE, M., Forensic entomology: arthropods and corpses. Tsokos M (ed) **Forensic Pathology Reviews**, Vol.2, Human Press, Totowa (USA), (2004) p. 207-248.

BENECKE, Mark; JOSEPHI, Eberhard; ZWEIHOFF, Ralf. Neglect of the elderly: forensic entomology cases and considerations. **Forensic science international**, v. 146, 2004, p. S195-S199.

BENECKE, Mark. A brief history of forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1, 2001, p. 2-14.

BENECKE, Mark; LESSIG, Rüdiger. Child neglect and forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1, 2001, p. 155-159.

BEYER, J. C.; ENOS, W. F.; STAJIĆ, M. Drug identification through analysis of maggots. **Journal of Forensic Science**, v. 25, n. 2, p. 411-412, 1980.

BORNEMISSZA, G.F. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. **Australian J. Zool.**, 5 (1957): 1-12.

BOUREL , Benoit *et al.* Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Forensic Science**, v. 44, n. 2, p. 354-358, 1999.

BOUREL B, Fleurisse L, HEDOUIN V, Cailliez JC, Creusy C, GOFF ML, Gosset D (2001a) Immunohistochemical contribution to the study of morphine metabolism in Calliphoridae larvae and implications in forensic entomotoxicology. *J Forensic Sci* 46:596–599.

BOUREL B, Tournel G, HEDOUIN V, Deveaux M, GOFF ML, Gosset D (2001b) Morphine extraction in necrophagous insects remains

for determining ante-mortem opiate intoxication. *Forensic Sci Int* 120:127–131.

BOUREL B, Tournel G, HEDOUIN V, GOFF ML, Gosse2001at D (2001c) Determination of drug levels in two species of necrophagous coleoptera reared on substrates containing morphine. *J Forensic Sci* 46:600–603.

BROWN, J.H.; TAYLOR, P. Muscarinic receptor agonists and antagonists. In: L.S. Goodman; A.G. Gilman

BURKEPILE, D. E. *et al.* Chemically mediated competition between microbes and animals: microbes as consumers in food webs. **Ecology**, v. 87, p.2821–31, 2006.

BYRD, Jason H.; CASTNER, James L. (Ed.). **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations**. CRC press, p. 427-436, 2009.

BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. Insects of forensic importance. In: BYRD, J. H; CASTNER, J. L. **Forensic Entomology: the utility of arthropods in legal investigations**. USA: CRC Press, 2001. p. 43-80

CAMPOBASSO, Carlo P. *et al.* Forensic genetic analysis of insect gut contents. **The American journal of forensic medicine and pathology**, v. 26, n. 2, p. 161-165, 2005.

CAMPOBASSO, C. P. *et al.* Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study. **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 118, n. 4, p. 210-214, aug. 2004.

CARVALHO, L. M. L. Toxicology and forensic entomology. In: AMENDT, J. *et al.* (Ed.). **Current Concepts in Forensic Entomology**. Netherlands: Springer, 2010. p. 163-178.

CARVALHO, Filipa *et al.* Isolation and detection of ingested DNA from the immature stages of *Calliphora dubia* (diptera: Calliphoridae). **Forensic science, medicine, and pathology**, v. 1, n. 4, p. 261-265, 2005.

CARVALHO, Lucila Maria Lopes. Detecção e efeito de drogas no crescimento e desenvolvimento de formas imaturas e adultas de

Chrysomya Albiceps (Wiedemann) e *Chrysomya Putoria* (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae), duas moscas varejeiras de interesse forense. 2005.

CARVALHO, L.M.L; THYSSEN , P.J.; GOFF, M.L. & LINHARES, A.X., Observations on the succession patterns on a pig carcass in an urban area of southeastern Brazil. **Aggrawal's Internet J. Forensic Med. Toxicol.**, 5 (2004): 33-39.

CARVALHO, Lucila ML; LINHARES, Ar cio X.; TRIGO, José Roberto. Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1, p. 140-144, 2001.

CATTS, E. Paul; GOFF, M. Lee. Forensic entomology in criminal investigations. **Annual review of entomology**, v. 37, n. 1, p. 253-272, 1992.

Catts, E.P.; Haskell, N. H. *Entomology and death: a procedural guide*. Clemson, SC: Joyce's Print Shop, 1991.
CHAMOUN, C. A.; COURI, M. S. ; OLIVEIRA-COSTA, J. ; LOURO, I. D. ; GARRIDO, R. G. . Recuperação e identificação de DNA humano (Y-STR) do trato gastrointestinal de imaturos do díptero *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) nutridos com sêmen humano: simulação de análises periciais em casos de crimes sexuais com vítima em decomposição.. In: IV Congresso Internacional de Perícia Criminal, 2011, Gramado. XXI Congresso Nacional de Criminalística e IV Congresso Internacional de Perícia Criminal, 2011. p. 4-46.

CONE, Edward J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 19, n. 6, p. 459-478, 1995.

CORDEIRO, Alexander Magno et al . Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro , v. 34, n. 6, p. 428-431, Dec. 2007.

CROSBY, T. K. *et al.* Entomological identification of the origin of imported cannabis. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 26, n. 1, p. 35-44, 1986.

Dadour, I. *et al.*. "Smart Maggots in the Justice System". EAFE. p. 389. *Proceedings of European Academy of Forensic Sciences meeting*, p. 389, 2003.

DA SILVA, C.; VILLET, M. H. Effects of prophylactic progesterone in decomposing tissues on the development of *Chrysomya chloropyga* (Wiedeman) (Diptera: Calliphoridae). **African Entomology**, v. 14, n. 1, p. 199-202, 2006.

DENNO, R.F. & COTHRAN, W.R., Niche relationships of a guild of necrophagous flies. **Annals Entomol. Soc. Amer.**, **68** (1975): 741-754

DEFINIS-GOJANOVIC, M. *et al.* Drug analysis in necrophageous flies and human tissues. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, Zagreb, v. 58, n. 3, 313-316, Sep. 2007.

DEONIER, C.C., Carcass temperatures and their relation to winter blowfly populations and activity in the southwest. **J. Economic Entomol.**, **33** (1940): 166-170.

DIAS, Isa Manuela Elias. Efeito da fluoxetina no desenvolvimento de formas imaturas de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae). 2014.

DRUMMER, Olaf H.; ODELL, Morris. **Forensic pharmacology of drugs of abuse**. Oxford, 2001., 99 103-175.

ERZINÇLIOĞLU, Y. Z.; WHITCOMBE, R. P. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae) in dung and causing myiasis in Oman. **Entomologists' monthly magazine**, 1983.

FARIA, L. D. B. *et al.* Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 90, n. 2, p. 149-155, Feb. 1999.

FATHY, Hala M. *et al.* Effect of Codeine Phosphate on developmental Stages of Forensically Important Calliphoride Fly: *Chrysomya albiceps*. **Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology**, v. 16, n. 1, p. 41-59.

FERRARI , Ana C. *et al.* Efeito da testosterona no desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae). **Medicina**, p. 30-34, 2008.

FERRAZ , ADRIANA C.P. *et al.* . Post-embryonic development of *Chrysomya putoria*(Diptera: Calliphoridae) on a diet containing ampicillin in different concentrations. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, Rio de Janeiro , v. 88, n. 1, p. 105-116, Mar. 2016 .

FRANÇA, GV. *Medicina Legal*. 9ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2011. 736p.

GAEDKE, A.; MOUGA, D. M. D. S. . LEVANTAMENTO DA ENTOMOFAUNA NECRÓFAGA EM CADÁVERES HUMANOS ATENDIDOS PELO IML DE JOINVILLE (SC). In: XX Semana do Biólogo, 2014, Joinville. Anais XX Semana do Biólogo, 2014.

GAGLIANO-CANDELA, R.; AVENTAGGIATO, L. The detection of toxic substances in entomological specimens. **International Journal of Legal Medicine**, v. 114, n. 4-5, p. 197-203, 2001.

GAUTAM, Lata *et al.* **Entomototoxicology: Alternative Matrices for Forensic Toxicology**. 2013. Disponível em: <http://www.forensicmag.com/article/2013/08/entomototoxicology-alternative-matrices-forensic-toxicology?cmpid=related_content>. Acesso em: 25 jul. 2016.

GENNARD, D. E. *Forensic entomology: an introduction*. Lincoln: John Wiley & Sons. Lincoln, 2007.

GEORGE, Kelly A. *et al.* Effect of morphine on the growth rate of *Calliphora stygia* (Fabricius)(Diptera: Calliphoridae) and possible implications for forensic entomology. **Forensic science international**, v. 193, n. 1, p. 21-25, 2009.

GODDARD, J. & LAGO, P.K., Notes on blowfly (Diptera: Calliphoridae) succession on carrion in Northern Mississippi. **J. Entomol. Sci.**, **20** (1985): 312-317

GOFF, M. Lee *et al.* Effects of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in

postmortem blood, liver tissue, larvae, and puparia. **Journal of Forensic Science**, v. 42, n. 2, p. 276-280, 1997.

GOFF, M. Lee *et al.* Preliminary observations of the effects of phencyclidine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae). **Journal of Forensic Science**, v. 39, n. 1, p. 123-128, 1994.

GOFF, M. L. *et al.* Preliminary observations of the effects of amitriptyline in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval. **Journal of Forensic Science**, v. 38, n. 2, p. 316-322, 1993.

GOFF, M. Lee; BROWN, Wayne A.; OMORI, A. I. Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. **Journal of Forensic Science**, v. 37, n. 3, p. 867-872, 1992.

GOFF, M. L. *et al.* Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera, Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns. **Journal of Forensic Science**, v. 36, n. 2, p. 537-542, 1991.

GOFF, M. Lee; OMORI, Alvin I.; GOODBROD, James R. Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 26, n. 2, p. 91-93, 1989.

GOSSELIN, Matthias *et al.* Methadone determination in puparia and its effect on the development of *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae). **Forensic science international**, v. 209, n. 1, p. 154-159, 2011.

GOSSELIN, M. *et al.* Entomototoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists. **Forensic Science International**, Limerick, v. 208, n. 1-3, p. 1-9, may 2011.

GOSELIN, Matthias *et al.* Quantification of methadone and its metabolite 2-ethylidene-1, 5-dimethyl-3, 3-diphenylpyrrolidine in third instar larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of analytical toxicology**, v. 34, n. 7, p. 374-380, 2010.

GREENBERG, B.; KUNICH, J. C. **Entomology and the law: flies as forensic indicators**. Cambridge: Univ. Press, 2002.

GUERRA, Thais Souza *et al.* Avaliação de possível interferência do tabagismo na ovoposição de larvas de Calliphoridae (Diptera) em carcaça de *Mus musculus* L.(Rodentia: Muriade) em São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 1, p. 18-26, 2016.

GUNATILAKE , K. and Goff, M.L. **Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae**. *J. Forensic Sci.* 1989; 34: 714–716

GUNN, Joshua A. *et al.* The determination of morphine in the larvae of *Calliphora stygia* using flow injection analysis and HPLC with chemiluminescence detection. **Journal of analytical toxicology**, v. 30, n. 8, p. 519-523, 2006.

HEDOUIN V, BOUREL B, Martin-Bouyer L, Becart A, Tournel G, Deveaux M, Gosset D (1999) Determination of drug levels in larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. *J Forensic Sci* 44:351–353.

INTRONA F. Jr., CAMPOBASSO CP, GOFF ML (2001) Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* 120:42–47.

INTRONA, F. J.; GAGLIANO, C. R.; VELLA, G. D. CAMPOBASSO cp, Firenze, Italy, August 25 31. Opiate analysis on empty puparia- Positive results. **Proceedings of International Congress of Entomology**, v. 755, 1996.

INTRONA, F. *et al.* Opiate analysis in cadaveric blowfly larvae as an indicator of narcotic intoxication. **Journal of Forensic Sciences**, Malden, v. 35, n. 1, p. 118-122, Jan. 1990.

JUK, Larissa Bunese *et al.* Levantamento da fauna de artrópodes em carcaça de suíno em ambiente silvestre com vegetação de restinga na

Ilha De Santa Catarina como subsídio para as ciências forenses. Monografia de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas. UFSC. 2013.

KARAMPELA , Sevasti *et al.* Development and validation of a LC/MS method for the determination of Δ 9-tetrahydrocannabinol and 11-carboxy- Δ 9-tetrahydrocannabinol in the larvae of the blowfly *Lucilia sericata*: Forensic applications. **Science & Justice**, v. 55, n. 6, p. 472-480, 2015.

KOBILINSKY, Lawrence (Ed.). **Forensic chemistry handbook**. John Wiley & Sons, p. 483-499, 2011.

KHARBOUCHE, Hicham *et al.* Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. **International journal of legal medicine**, v. 122, n. 3, p. 205-211, 2008.

KNIGHT, B., Forensic Pathology, Oxford University Press, New York, 1991. p. 518

KINTZ , P.; TRACQUI, A.; MANGIN, P. Analysis of opiates in fly larvae sampled on a putrefied cadaver. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 34, n. 2, p. 95-97, 1994.

KINTZ, P.; TRACQUI, A.; MANGIN, P. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 30, n. 4, p. 243-246, 1990c.

KINTZ , P., Godelar, B., Tracqui, A., Mangin, P., Lugnier, A., and Chaumont, A., "Fly Larvae: A New Toxicological Method of Investigation in Forensic Medicine," **Journal of Forensic Sciences**, Vol. 35, n. 1, p. 204-207, 1990a.

KINTZ , P. *et al.* Fly larvae and their relevance in forensic toxicology. **The American journal of forensic medicine and pathology**, v. 11, n. 1, p. 63-65, 1990b.

KHARBOUCHE, Hicham *et al.* Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. **International journal of legal medicine**, v. 122, n. 3, p. 205-211, 2008.

LAGOO L, Schaeffer LS, Szymanski DW, Smith RW. Detection of Gunshot Residue in Blowfly Larvae and Decomposing Porcine Tissue Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *J Forensic Sci.* 2010; 55 (3): 624-632.

LECLERCQ , M. and Brahy, G. **Entomologie et médecine legale: datation de la mort.** *J. Med. Leg.* 1985;28: 271–278.

LIMA, CAROLINA GONÇALVES PALANCH. **Detecção e estudo sobre o efeito da metanfetamina e do ecstasy no desenvolvimento de imaturos de três espécies de Chrysomya (Diptera: Calliphoridae) de importância forense.** 2009. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências.

LIU , Xiaoshan *et al.* Determination of Malathion levels and its effect on the development of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) in South China. **Forensic science international**, v. 192, n. 1, p. 14-18, 2009.

LORA-TAMAYO, C.; TENA, T.; RODRIGUEZ, A. Cocaine-related deaths. **Journal of Chromatography A**, v. 674, n. 1-2, p. 217-224, 1994.

LORD, W.D. & GOFF, M.L., Forensic entomology: insects in the investigation of violent crimes. **Forensic aspects of DNA. Department of justice**, jacket 342-488, vol. 1 (1990): 163-171

LORD, W. D. Case histories of the use of insects in investigations. In: CATTS, P. E.; HASKELL, N. H. (Ed). **Entomology and death: a procedural guide.** Clemson: Joyce's Print Shop, 1990. p. 9-37

LORD, W. D. & J. R. STEVENSON. Directory of forensic entomologists. 2 ed. Misc. Publ. Armed Forces Pest Mgt. Board, Washington, D.C, 1986, 42 p.

MAHAT , N. A.; ZAFARINA, Z.; JAYAPRAKASH, P. T. Influence of rain and malathion on the oviposition and development of blowflies (Diptera: Calliphoridae) infesting rabbit carcasses in KELANTAN, Malaysia. **Forensic science international**, v. 192, n. 1, p. 19-28, 2009.

MAHMOOD, Wan Mohd Asyraf Wan *et al.* Paraquat dichloride detection from forensic blowfly samples. **Malaysian Applied Biology**, v. 44, n. 1, p. 133-138, 2015.

MANHOFF, Dion T. *et al.* Cocaine in decomposed human remains. **Journal of Forensic Science**, v. 36, n. 6, p. 1732-1735, 1991.

MANN, R.W.; BASS, W. M.; MEADOWS, L. Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. *Journal of Forensic Sciences*, v.35, n.1, p.103-11, 1990.

MILLER ML, Lord WD, GOFF ML, Donnelly B, McDonough ET, Alexis JC (1994) Isolation of amitriptyline and nortriptyline from fly puparia (Phoridae) and beetle exuviae (Dermestidae) associated with mummified human remains. *J Forensic Sci* 39: 1305–1313.

MORATORE, C. *et al.* Utilização de *Drosophila melanogaster* como bioindicador na avaliação da letalidade de extrato de *Nicotiana tabacum*. **Arq. Inst. Biol**, v. 76, n. 3, p. 471-474, 2009.

MOURA, M.O.; CARVALHO, C.J.B. & MONTEIRO-FILHO, E. L.A., A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 92 (1997): 269-274.

MURTHY, C. R. V.; MOHANTY, M. Entomotoxicology: a review. **Journal of Indian Academy of Forensic Medicine**, New Delhi, v. 32, n. 1, p. 82-84, Jan./Mar. 2010.

MUSVASVA E., K.A.WILLIAMS, W.J. MULLER AND M.H. VILLET. Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of *Sarcophaga (Curranella) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), and implications for estimating post mortem interval. **Forensic Sci. Intern**, v. 120, p. 37-41. 2001.

Nolte KB, Pinder RD, Lord WD (1992) Insect larvae used to detect cocaine poisoning in a decomposed body. *J Forensic Sci* 37:1179–1185.

NORRIS, R.R., The bionomics of blow flies. **Ann. Rev. Entomol.**, 10 (1965): 47-68.

NUORTEVA , P. and NUORTEVA , S.L. **The fate of mercury in Sarcosaprophagous flies and in insects eating them.** *Ambio*. 1982; 11: 34–37

NUORTEVA , P. Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In: TEDESHI, G. C.; ECKERT, W. G.; TEDESCHI, L. G. (Ed). **Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards.** Philadelphia: Saunders, 1977. v. 2. p. 1072-1095

O'BRIEN, Claire; TURNER, Bryan. Impact of paracetamol on *Calliphora vicina* larval development. **International journal of legal medicine**, v. 118, n. 4, p. 188-189, 2004.

OLIVEIRA-COSTA, J. Entomologia Forense – Quando os insetos são vestígios. Campinas: Millennium, 2003. 257p.

OLIVEIRA-COSTA J, Mello-Patiu, Santana DO, *et al.*. Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios. São Paulo: Editora Millenium, p. 91-104; 295-310, 2008.

OLIVEIRA, Helena G. *et al.* The effect of Buscopan® on the development of the blow fly *Chrysomya megacephala* (F.)(Diptera: Calliphoridae). **Journal of forensic sciences**, v. 54, n. 1, p. 202-206, 2009.

PARRY, S. *et al.* Accumulation and excretion of morphine by *Calliphora stygia*, an australian blow fly species of forensic importance. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 57, n. 1, p. 62-73, Jan. 2011. doi: 10.1016/j.jinsphys. 2010.09.005

PAYNE, J.A., A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. **Ecologia**, 46 (1965): 592-602.

PIEN, Karen *et al.* Toxicological data and growth characteristics of single post-feeding larvae and puparia of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) obtained from a controlled nordiazepam study. **International journal of legal medicine**, v. 118, n. 4, p. 190-193, 2004.

PUTMAN, J. **Carrion and dung: the decomposition of animal wastes.** Southampton: The Camelot Press Ltd, 1983. (Studies in Biology, 156).

PUJOL-LUZ, J.R., ARANTES, L.C. E CONSTANTINO, R. Cem anos de entomologia forense no Brasil (1908-2008). *Rev. Bras. de Entomologia*, 52 (4): 1-8, 2008.

ROETERDINK, E. M.; DADOUR, I. R.; WATLING, R. J. Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: *Calliphoridae*). **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 118, n. 2, p. 63-70, Apr. 2004.

SADLER, D. W. *et al.* Amitriptyline accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae. **The American journal of forensic medicine and pathology**, v. 18, n. 4, p. 397-403, 1997c.

SADLER, DW, Robertson L, Brown G, Fuke C, Pounder DJ (1997b) Barbiturate and analgesics in *Calliphora vicina* larvae. **J Forensic Sci** 42:481-485

SADLER, D. W. *et al.* Drug accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae. **Forensic science international**, v. 71, n. 3, p. 191-197, 1995.

Santana CS, Boas DSV. Entomologia Forense: insetos auxiliando a Lei. Revista Ceciliana. 2012; 4 (2): 31-34.

SANTOS, Fernanda Veck dos. Efeito de anticoncepcional humano no desenvolvimento larval de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) para uso forense. 2013. 37 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2013.

SCHLOEGL, Haiko *et al.* Stability of ethyl glucuronide in urine, post-mortem tissue and blood samples. **International journal of legal medicine**, v. 120, n. 2, 2006, p. 83-88.

SHERMAN , Ronald A.; WYLE, Frederic A.; THRUPP, Lauri. Effects of seven antibiotics on the growth and development of *Phaenicia sericata* (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Journal of medical entomology**, v. 32, n. 5, p. 646-649, 1995.

SMITH, K.G.V., **A manual of forensic entomology**. British Museum and Cornell University Press, 1st ed.1986.

SOHAL , R. S.; PETERS, P. D.; HALL, T. A. Fine structure and X-ray microanalysis of mineralized concretions in the Malpighian tubules of the housefly, *Musca domestica*. *Tissue and Cell*, v. 8, n. 3, p. 447-458, 1976.

SOHAL , R. S.; LAMB, R. E. Intracellular deposition of metals in the midgut of the adult housefly, *Musca domestica*. **Journal of Insect Physiology**, v. 23, n. 11-12, p. 1349-1354, 1977.

SOHAL , R. S.; LAMB, R. E. Storage-excretion of metallic cations in the adult housefly, *Musca domestica*. **Journal of Insect Physiology**, v. 25, n. 2, p. 119-124, 1979.

SOTO, D. A. E. **Avaliação da taxa de desenvolvimento de três espécies califorídeos (Diptera) de importância forense sob o efeito de dois barbitúricos**. 2008. 82f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, Campinas, 2008.

TABOR , Kimberly L. *et al.* Effects of antemortem ingestion of ethanol on insect successional patterns and development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of medical entomology**, v. 42, n. 3, p. 481-489, 2005.

TAGLIARO, F. *et al.* Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of cocaine in plasma and human hair with direct fluorimetric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 674, n. 1, p. 207-215, 1994.

THYSSEN PJ, GRELLA MD (2011) Efeito da escopolamina sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) e sua importância para a estimativa do intervalo pós-morte. *Rev Bras Crim* 1(1):39-42

TRACQUI, A. *et al.* Entomotoxicology for the forensic toxicologist: much ado about nothing? **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 118, n. 4, p. 194-196, Aug. 2004.

Verma K, Paul R. Assessment of Post Mortem Interval, (PMI) from Forensic Entomotoxicological Studies of Larvae and Flies. *Entomol Ornithol Herpetol*. 2013; 1(1): 1-4.

WALL R.; WARNES, M. L. Responses of the sheep blowfly *Lucilia sericata* to carrion odour and carbon dioxide. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 239-246, Dec. 1994.

WATANABE, S. Glossário de ecologia.1987. ACIESP, CNDCT, FAPESP, CNPq. Academia de Ciências de São Paulo. 1ª edição, 271p.

WILSON, Zandra; HUBBARD, Stephen; POUNDER, Derrick J. Drug analysis in fly larvae. **The American journal of forensic medicine and pathology**, v. 14, n. 2, p. 118-120, 1993.

WOLFF , Marta *et al.* Detección y cuantificación de Propoxur en la sucesión de insectos de importancia médico-legal/Detection and quantification of Propoxur in the succession of insects of medico-legal importance. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 32, n. 2, p. 159, 2006.

WOLFF , Marta *et al.* Detection of Parathion (O, O diethyl O (4-nitrophenyl) Phosphorothioate) by HPLC in insect of Forensic importance in Medellin Colombia. **Annual Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology**, v. 5, p. 6-11, 2004.

WOOD, M. *et al.* Development of a rapid and sensitive method for the quantitation of benzodiazepines in *Calliphora vicina* larvae and puparia by LC-MS-MS. **Journal of analytical toxicology**, v. 27, n. 7, p. 505-512, 2003.

WYMAN, J. F. *et al.* The temporal fate of drugs in decomposing porcine tissue. **Journal of Forensic Sciences**, Malden, v. 56, n. 3, p. 694-699, May. 2011.

ZANETTI, Noelia I.; FERRERO, Adriana A.; CENTENO, Néstor D. Determination of fluoxetine in *Dermestes maculatus* (Coleoptera: Dermestidae) by a spectrophotometric method. **Science & Justice**, v. 56, n. 6, 2016, p. 464-467.

ZOU , Yi *et al.* Effect of ketamine on the development of *Lucilia sericata* (Meigen)(Diptera: Calliphoridae) and preliminary pathological observation of larvae. **Forensic science international**, v. 226, n. 1, p. 273-281, 2013.

6. APÊNCICE

NÚMERO DA OCORRÊNCIA		
N.º	Data:	Hora:
Responsável:		
Email/Tel:		
Cidade da coleta:	Temperatura ambiente:	
DA REGIÃO – CARACTERÍSTICAS		
<input type="checkbox"/> Rural Aquática	<input type="checkbox"/> Urbana	<input type="checkbox"/> Florestal <input type="checkbox"/>
Descrição:		
DA VÍTIMA – LOCALIZAÇÃO		
<input type="checkbox"/> Área aberta <input type="checkbox"/> Área fechada <input type="checkbox"/> Submersa: profundidade: _____		
<input type="checkbox"/> Enterrada <input type="checkbox"/> Parcialmente enterrada		
Obs.:		
DA VÍTIMA – CARACTERÍSTICAS		
Sexo:	Idade aproximada:	
Vestes:		
Tipo de lesões:		
DAS AMOSTRAS COLETADAS (LARVA, PUPA, PUPÁRIO VAZIO, ADULTOS)		

1
2
3
4
5
6
7

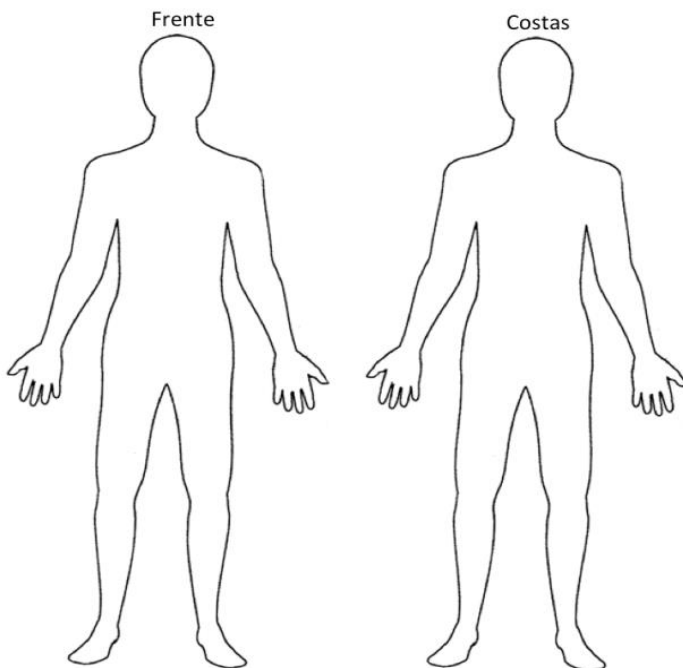


Diagrama 1: indicar as regiões do corpo das quais as amostras foram coletadas.