



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – 2025**

Larvas da justiça: bioindicadores periciais (Insecta: Diptera; Coleoptera) aplicados à análise entomotoxicológica no desenvolvimento de um protótipo de banco de dados

Evelyn Fernandes de Miranda¹; Priscila Paixão Lopes²

1 Acadêmica do curso de Farmácia, PVIC/UEFS, e-mail: evefernandesdemiranda@gmail.com

2 Orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, e-mail: pplopes@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Diptera; entomotoxicologia; entomologia forense.

INTRODUÇÃO

Há vários parâmetros que podem elucidar uma *causa mortis* e indicar suspeitos (Tomberlin & Benbow, 2014). Um destes parâmetros é o intervalo *postmortem* (IPM), definido como o tempo decorrido desde o óbito da vítima até a descoberta do cadáver, e um dos principais recursos médico-legais utilizados para a determinação do IPM é a entomologia forense.

Os dípteros são os mais recomendados para estudos entomológicos e entomotoxicológicos, por serem os primeiros a colonizar o corpo e por usá-lo como fonte de nutrição em todas as fases de seu desenvolvimento, podendo apresentar bioacumulação. Estudos entomotoxicológicos nos trópicos ainda são incipientes devido à alta biodiversidade, especialmente no bioma Caatinga, assim, os objetivos principais deste projeto são a verificação de viabilidade de uso de larvas de mosca como indicadoras da presença de brodifacoum (BDF), raticida anticoagulante, em tecidos animais, e o desenvolvimento de um banco de dados para catalogar e permitir a consulta à informação sobre a entomofauna cadavérica fauna de forma eficaz por usuários.

MATERIAL E MÉTODOS

i. Entomofauna cadavérica

Para a execução do experimento de detecção de BDF através das larvas de moscas que consomem carne contaminada, foi necessário antes determinar se o BDF apresenta efeitos letais sobre as larvas de mosca. A resposta foi obtida com um experimento piloto no campus da universidade, com exposição de uma peça de lombo de carne suína de 600g (*Sus scrofa* L.) (carcaça-mãe) em uma bandeja plástica de laboratório, que ficou exposta por dez (10) dias (=240h), na área externa do Vespário da Universidade Estadual de Feira de Santana (12°11'56.6"S 38°58'06.3"W), inserida no domínio Caatinga e com vegetação arbórea, em agosto de 2025 (inverno). A partir do 4º dia de exposição (96h), foram coletadas larvas de moscas para criação controlada em laboratório.

As larvas foram dispostas em placas de Petri contendo filetes de carne suína para uma média de 20 larvas de mosca. As placas foram postas em bandejas plásticas e acondicionadas em câmara incubadora (BOD) LT 320 TFP-I a 25°-26°C do Laboratório de Genômica Funcional (LGF) por 48h. Para o contato com o BDF, as larvas foram mantidas em béqueres contendo filetes de carne suína, em que foi esfregada a pastilha de brodifacoum, para que dela se alimentassem. Os béqueres foram tampados com gaze e acompanhados diariamente para observação de presença de larvas mortas e/ou acompanhamento até que houvesse empupamento. As larvas que entraram em estágio de pupa foram acondicionadas em frascos separados no Laboratório de Entomologia (LENT) da UEFS, para aguardar a emergência dos adultos, para posterior montagem, identificação, etiquetagem e tombamento no acervo do Museu de Zoologia de Feira de Santana (MZFS).

ii. Tratamento analítico do Brodifacoum

As análises da amostra de BDF foram iniciadas com um teste de extração proposto por Mesmer e Satzger (1991). Inicialmente, partindo de uma pastilha de 10g de brodifacoum 0,005% Klerat Isca Fresca®, duas amostras de 0,25g (250 mg) (amostra 1) e 0,50g (500 mg) (amostra 2) foram pesadas e misturadas a 9,8mL de metanol e 0,2mL de ácido fórmico, estas foram submetidas a banho ultrassônico (modelo LT-210 da LimaTec) por 15 minutos a 44°C. Estas amostras foram centrifugadas por 3 minutos a 2400 rpm, e uma alíquota de 3mL do sobrenadante da solução foi coletada.

A amostra 2 (500 mg) foi preparada para análise em HPLC-DAD (cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos) com uso de uma coluna LiChroCART Purospher Star® RP-18e (75 mm × 4,0 mm i.d.) (3 µm) (Merck, Darmstadt, Germany), acoplada a pré-coluna correspondente da mesma marca e filtros de membrana de éster de celulose 0,45 µm (Millipore®).

Três métodos de análise foram testados: (1) um método isocrático na proporção 70:30 de acetonitrila e água acidificada com 0,1% de ácido fórmico; (2) por gradiente 20:80 e 80:20 de acetonitrila e água ultrapura, com detecção por arranjo de fotodiodos a 325 nm (Palazoglu et al., 1998) por 30 minutos. (3) uma adaptação de Mesmer e Satzger (1991) com fase móvel composta por 45% de acetonitrila, 30% de metanol e 25% de água ultrapura com fluxo de 1 mL/min e monitorado com detecção por arranjo de fotodiodos a 325 nm por 15 minutos.

iii. Desenvolvimento do banco de dados

Uma seleção de artigos e literatura cinzenta sobre insetos de interesse científico-legal, com foco nas ordens Diptera e Coleoptera, foi feita em bases de dados como o *ScienceDirect* (Elsevier), Rede CAF-e (Periódicos CAPES) e Google Acadêmico, com os descritores Diptera, Coleoptera, entomologia forense, caatinga (com variações em inglês). Dados referentes às espécies foram tabulados em Excel, servindo de banco de dados para o desenvolvimento do protótipo (ainda em processo).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

i. Entomofauna cadavérica

Não foi observada letalidade de larvas ao longo do experimento piloto, com exceção de larvas que morreram dentro da BOD ainda antes da exposição ao BDF, devido à restrições de circulação de ar. Em função disso, para a etapa de contato com o BDF as larvas foram mantidas em condição ambiente. Após 192h de exposição ao raticida, cinco larvas entraram em pupa e foram retiradas de campo, o que confirma que o BDF não é letal às larvas, nem impede o empupamento (Figura 1a-1d). O aparecimento de pupas foi posterior ao observado na literatura, em que moscas *Chrysomya megacephala* empupam após um máximo de 96h (Barros-Cordeiro & Pujol-Luz, 2010), a 26°C. Estas escureceram cada vez mais durante onze (11) dias de acondicionamento em laboratório (Figura 1e), mas não eclodiram, isto levanta hipóteses de óbito ou possível atraso no desenvolvimento por ação do raticida.



Figura 1 - (a) Larvas na carcaça-mãe. (b) Recolhimento das larvas. (c) Larvas menores retiradas da carcaça-mãe. (d) Larvas em instares mais avançados. (e) Pupas isoladas, aguardando emergência de adultos.

ii. Tratamento analítico do Brodifacoum

A amostra (2) – solução de 50mg/mL com adição de ácido fórmico – foi escolhida para análise por HPLC-DAD por ser a amostra mais concentrada. O cromatograma obtido através da metodologia de detecção adaptada de Mesmer e Satzger apresentou-se como o mais promissor conforme seu padrão de picos (Figura 2a). Ainda assim, os picos majoritários que apareceram no cromatograma não tinham um espectro no ultravioleta compatível com o Brodifacoum (Figura 2b).

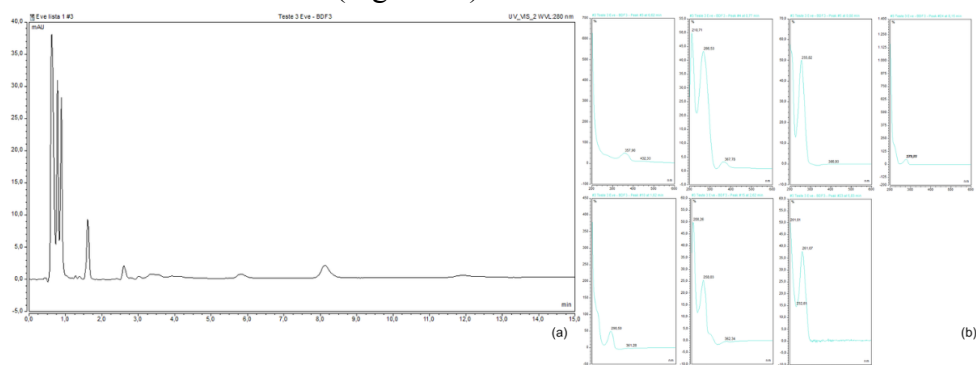


Figura 2 - (a) Cromatograma do terceiro teste de detecção (Mesmer e Satzger, 1991). (b) Picos majoritários de UV do cromatograma.

O resultado obtido por Mesmer e Satzger (1991) advém de um cromatógrafo com detector de absorvância ultravioleta (UV) o que difere do equipamento utilizado neste

experimento. O uso de pastilha ao invés do padrão comercial dificultou a plotagem e observação se de fato um dos picos presentes na cromatografia era brodifacoum.

iii. Desenvolvimento do banco de dados

O domínio do banco de dados foi criado sob registro da Universidade Estadual de Feira de Santana <<http://anubis.uefs.br>>, o nome do banco de dados se refere ao deus da mumificação e dos mortos na mitologia egípcia, Anúbis.

i. Diptera

Dezenove (19) estudos de literatura científica brasileira foram analisados. Houve menção a 24 espécies de Diptera, mas os insetos de maior registro na literatura foram califorídeos (do gênero *Chrysomya*), uma das primeiras famílias a colonizar cadáveres. Diversos estudos não apontaram as fases de aparecimento dos insetos e de abandono da carcaça, posto isso, a análise destes resultados pode não transparecer a prática pericial.

ii. Coleoptera

Quinze (15) estudos de literatura científica foram analisados, com menção a 79 espécies de Coleoptera. As famílias Scarabaeidae, Histeridae e Staphylinidae foram as mais citadas na literatura brasileira. As espécies mais frequentemente registradas são também as que têm maior amplitude geográfica, como *Dermestes maculatus* e *Necrobia rufipes*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Os resultados mostraram que o Brodifacoum, na concentração comercial testada (0,005%), não apresentou ação letal sobre as larvas de dípteros, permitindo que parte delas alcançasse a pupação. Este achado indica que o BDF não exerce efeito tóxico suficiente para a mortalidade larval, mas, pode atrasar o desenvolvimento das larvas e prolongar o estado de pupa, demandando novos experimentos com melhor controle para definir o tempo do ciclo larval na ausência do raticida. Paralelamente, o projeto possibilitou o levantamento de dados sobre a entomofauna cadavérica na caatinga e o início da construção de um banco de dados bibliográfico e experimental.

REFERÊNCIAS

TOMBERLIN, J. K.; BENBOW, M. E. Forensic entomology: international dimensions and frontiers. 1. ed. Texas: **CRC Press**, 2014.

MESMER, M.Z.; SATZGER, R. D. Determination of brodifacoum in commercial rodenticides by using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Analyst**, Cambridge, v. 120, n. 8, p. 2195-2197, 1995.

PALAZOGLU, M.G.; TOR, E.R.; HOLSTEGE, D.M.; GALEY, F.D. Multiresidue analysis of nine anticoagulant rodenticides in serum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 4260-4266, 1998. DOI: 10.1021/jf9803886.

BARROS-CORDEIRO, K.B.; PUJOL-LUZ, J.R. Morfologia e duração do desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, v. 50, n. 47, p. 709-717, 2010.