

Eixo Temático ET-01-001 - Áreas de Atuação do Biólogo

GENÉTICA MICROBIANA E ENTOMOLOGIA FORENSE: DO CORPO AO INSETO

Yorran Hardman Araújo Montenegro¹, Stephanie Evelyn França Guimarães²,
Estefany Gabriela Luiz de Araújo³, Denise de Queiroga Nascimento⁴

¹Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: yorran_montenegro@hotmail.com.

²Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: stephani.evelyn@gmail.com.

³Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: estefanylaraujo@gmail.com.

⁴Mestranda em Genética, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). E-mail: dennise.queiroga@gmail.com.

RESUMO

A Ciência Forense é uma área interdisciplinar, que estabelece relações intrínsecas entre os âmbitos da física, da biologia, da química, da matemática e ciências, objetivando prestar suporte às investigações criminais e à justiça civil. Um dos aspectos que essa ciência engloba é a entomologia forense, uma área que estuda artrópodes que podem auxiliar devidamente no desfecho de um crime. Tais invertebrados podem caracterizar o local, o tempo que o fato ocorreu e possíveis modos de como aconteceu. Para ilustrar a importância fundamental da entomologia nos conhecimentos e práticas forenses, o presente trabalho tem como objetivo elucidar os avanços dos últimos anos através de uma revisão bibliográfica sistemática com artigos datados de 2014 até a atualidade. Sete artigos foram selecionados tendo como critérios de inclusão delineamento experimental e resultados que viessem a contribuir com as recentes atualizações desta área. A partir da análise das novas tecnologias para classificação taxonômica entomológica, novas ferramentas têm sido utilizadas para a determinação da espécie pelos taxonomistas, uma vez que a abrangência para esse tipo de classificação têm se tornado cada vez mais complexo e preciso. Além do campo entomológico clássico na ciência forense, abrange-se o novo campo microbiano, especialmente através das técnicas de sequenciamento metagenômico e tempo de colonização cadavérica pela microbiota. A microbiota garante uma assinatura única por indivíduo, podendo-se estabelecer não só a sequência do relógio de Intervalo Pós-Morte, como também as interações entre indivíduos por microbiotas diferentes. Possivelmente, os campos que envolve a classificação taxonômica, bem como a estipulação da microbiota têm-se desenvolvido gradativamente, podendo ser estabelecido parâmetros de desenvolvimento dessas novas técnicas na aplicação de investigações em investigações criminais.

Palavras-chave: Ciência forense; Técnicas entomológicas; Investigações Criminais.

INTRODUÇÃO

A Ciência Forense é uma área interdisciplinar, que estabelece relações intrínsecas entre os âmbitos da física, da biologia, da química, da matemática e ciências de oportunidade forense, objetivando prestar suporte às investigações criminais e à justiça civil. Para isso, esta proporciona os princípios e técnicas que facilitam a investigação do delito, visando à identificação, recuperação, reconstrução e análise da evidência durante uma investigação criminal (SHARMA et al., 2013).

Dentre as inúmeras áreas de atuação forense, pode-se citar a papiloscopia, uma das mais antigas e conhecida ciência forense, que estuda as papilas dermatológicas do pé, mãos e dedos: as impressões digitais. Outro exemplo de ciência forense conhecida é a balística. Esta disciplina

integrante da criminalística, estuda as armas de fogo, sua munição e os efeitos dos tiros por elas produzidos, sempre que tiverem envolvimento direto ou indireto com infrações penais, visando o esclarecimento e a prova de sua ocorrência (MADRA et al., 2015).

Dentro do âmbito biológico, a genética é a área mais intrínseca, avançando substancialmente nos últimos anos. Apenas uma pequena amostra de sangue, saliva, pele ou sêmen pode ser suficiente para identificar uma vítima ou um suspeito. A química forense, que detecta o espectro vibracional de uma substância química que incorpora os fatores genéticos, constituindo uma verdadeira impressão digital da substância (MARTINS, 2015). Além disso, nas últimas duas décadas outra subárea da Ciência Biológica, tem despertando interesse de peritos e pessoas ligadas a instituições judiciais, a entomologia forense. Segundo Madra et al. (2015), esta é uma área que estuda artrópodes que podem auxiliar devidamente no desfecho de um crime. Tais invertebrados, segundo Sharma et al. (2013) podem caracterizar o local, o tempo que o fato ocorreu e possíveis modos de como aconteceu.

Dentre os insetos mais comuns em investigações forenses, encontram-se os da ordem Diptera, que são classificados em duas subordens: Nematocera e Brachycera. Estas estão associadas aos estágios de desenvolvimento de um corpo em decomposição. A partir da deposição de seus ovos, como tendência natural, até estágios de seu desenvolvimento, é possível determinar a data da morte do indivíduo e, se possível, as circunstâncias atenuantes do fato (SHARMA et al., 2013).

Desta forma, para ilustrar a importância fundamental da Entomologia nos conhecimentos e práticas forenses, o presente trabalho tem como objetivo elucidar os avanços dos últimos anos quanto as informações no quadro de elucidação de crimes com base no auxílio de insetos e microbiota.

METODOLOGIA

A revisão bibliográfica sistemática é uma forma de pesquisa que utiliza a literatura como fontes de dados sobre um determinado assunto. Esta tem o intuito de integrar informações que podem ser abordadas em estudos realizados separadamente, posteriormente apresentar resultados conflitante e/ou coincidentes afim de auxiliar em investigações futuras (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

As bases de dados utilizadas na presente revisão sistemática foram: SCIENCE DIRECT, NCBI e SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ONLINE (SCIELO), sendo esta escolha justificada pelo grande número de periódicos encontrados nas mesmas, nas áreas de entomologia, sistemática, técnicas em biologia molecular aplicadas ao âmbito forense.

Para a busca dos artigos, foram utilizadas algumas combinações de palavras chave, sendo estas: “*Entomology Forensic*”, “*Decomposing Bodies*”, “*Human Cadaver Insects*”, “*Keys Identification Insects*”. A pesquisa foi realizada durante o período de 01 a 15 de fevereiro de 2018, buscando compreender os avanços da entomologia forense como ciência criminal. Nesse contexto, optou-se por selecionar trabalhos nos idiomas inglês e português, com delineamento experimental e resultados satisfatórios, publicados entre 2013 até a atualidade, garantindo assim um levantamento bibliográfico atualizado. Foram ditos como critério de exclusão, artigos que não retratassem do tema como também aqueles que não foram publicados entre 2013 e 2018.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados 10 artigos, podendo ser vistos na relação da Tabela 1.

O método entomológico para determinação do tempo aproximado desde a morte até a descoberta do corpo, desenvolve-se com base nos achados entomológicos, coletados no corpo em decomposição. Por serem os primeiros colonizadores do corpo, os dípteros são utilizados para estimar o intervalo *post-mortem* mínimo (IPMmin). A base nos padrões de sucessão faunística, também são observadas, e, dependendo das espécies, bem como da temperatura ambiental, pode-se ocorrer alterações no ciclo destes colonizadores (MOEMENBELLAH-FARD et al., 2018).

Para o estudo das relações entre insetos e IPMmin se faz necessária uma avaliação de temperatura, umidade, precipitação, velocidade dos ventos, consumo de drogas e toxinas, assim como o peso do corpo, podendo estes afetarem a taxa de insetos no corpo (MADRA et al., 2015).

Tabela 1. Relação entre os artigos, autor e ano utilizados nos trabalhos.

ARTIGO	AUTOR	ANO
Review of some recent techniques of age determination of blow flies having forensic implications.	BALA; SHARMA	2015
Basic research and applied science in forensic entomology.	BUGELLI; CAMPOBASSO	2017
Ultrastructural studies of some character of Diptera (Muscidae) of forensically importance.	CARRIÇO et al.	2014
Potential applications of soil microbial ecology and next-generation sequencing in criminal investigations.	FINLEY et al.	2015
Forensic decomposition odour profiling: A review of experimental designs and analytical techniques.	IQBAL et al.	2017
Long-term study of pig carrion entomofauna.	MADRA et al.	2015
The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing.	PECHAL et al.	2014
Morphology of immature stages of flesh flies, <i>Boettcherisca nathani</i> and <i>Lioproctia pattoni</i> (Diptera: Sarcophagidae).	SAMERJAI et al.	2016
Flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) colonising large carcasses in Central Europe	SZPILA et al.	2015
Marks caused by the scavenging activity of <i>Necrobia rufipes</i> (Coleoptera: Cleridae) under laboratory conditions.	ZANETTI et al.	2015

As ordens de insetos com uma relação mais intrínseca com o âmbito forense, são Diptera (moscas) e Coleoptera (besouros). O primeiro grupo ocorre no estágio inicial de colonização do corpo, e isso se justifica devido ao seu aparato bucal frágil, sendo responsável pela degradação dos tecidos e órgãos. Já os últimos, são caracterizados por chegarem em estágio de decomposição mais avançado, decompondo, com certa facilidade, os tendões e ossos da carcaça (BRAGA, 2014; DAL-BÓ, 2013).

Outras ordens também foram observadas contribuindo para a deterioração do corpo. Algumas espécies de Formicidae são responsáveis pela produção de marcas e lesões, em consequência ao ácido fórmico resultante de sua natureza bioquímica natural, outros insetos como cupins e espécies de Lepidoptera podem também ter participação na danificação de ossos (ZANETTI et al., 2015).

No campo da entomologia forense, a identificação taxonômica e sistemática é essencial para proceder a qualquer procedimento. Tendo em vista que a criação e identificação dos insetos necrófagos requerem conhecimento entomológico específico, além de espaço físico apropriado, é aconselhável que Peritos Criminais se associem a entomólogos, para quem devem ser enviadas as evidências entomológicas coletadas. Para auxílio nessa prática, algumas ferramentas podem ser utilizadas e dentre elas pode-se encontrar os aparelhos de microscopia.

A microscopia eletrônica de varredura permite uma identificação rápida e precisa do caráter, pode ser usada para ajudar na identificação de diferentes espécies do interesse forenses, como os dípteros. As espécies colonizadoras são atraídas pelos gases liberados pela decomposição do corpo e pela comunidade microbiana poucos minutos após a morte, assim,

esse comportamento os torna muito importantes para uso tanatológico no escopo da entomologia forense justamente pelas funções essenciais de cada caráter taxonômico destes insetos. A microscopia surge como ferramenta especial para tais análises (CARRIÇO et al., 2014)

Carricho et al. (2014) selecionaram seis espécies de dipteros da família Muscidae e descreveram os katapisternais nas fêmeas de *Morellia humeralis* e *Biopyrellia bipuncta*; ommatidia dos olhos compostos do macho de *B. bipuncta*; as antenas de fêmeas de *Ophyra aenescens* e *Ophyra albuquerquei* e o triângulo ocelar das duas últimas espécies e *O. chalcogaster* examinados por microscopia eletrônica de varredura para ajudar a aumentar o banco de dados anatômico em moscas para a importância forense.

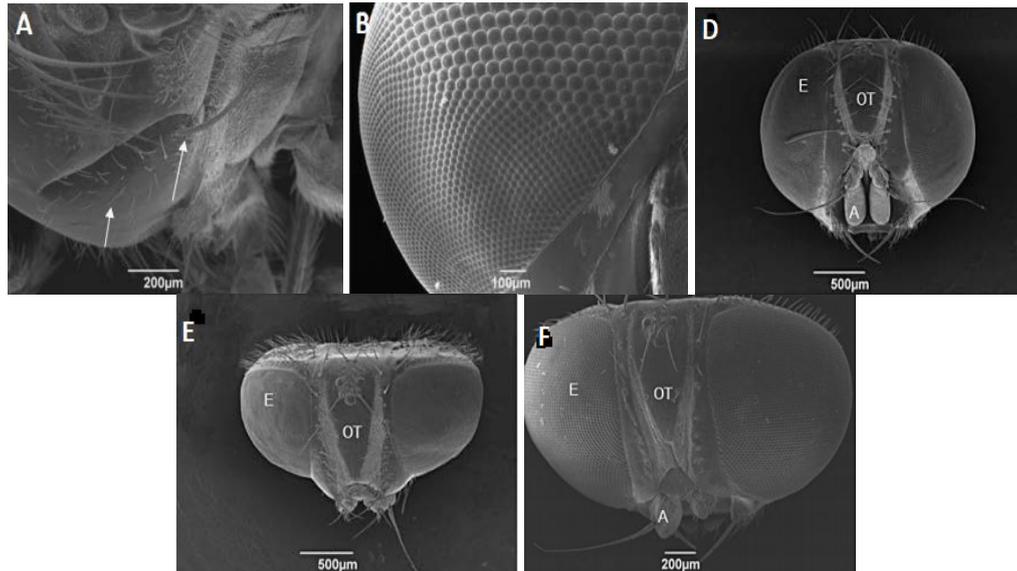


Figura 1. Micrografia eletrônica de varredura. (A) Seta katapisternal da fêmea de *B. bipuncta* adulta na vista lateral com cerda posterior; (B) Vista da ommatidia de olho composto o macho adulto de *B. bipuncta*. (D) Par de grandes olhos compostos, olhos (E), triângulo ocelar (OT) e antena (A) da fêmea de *Ophyra aenescens*. (E) Par de grandes olhos compostos, olhos (E), triângulo ocelar (OT) da fêmea de *Ophyra albuquerquei*. (F) Pares de olhos grandes, olhos (E), triângulo ocelar (OT) e antenas (A) da espécie de *Ophyra chalcogaster*. Fonte: Carricho et al. (2014).

Samerjai et al. (2016) também optaram pela microscopia eletrônica de varredura para observação da morfologia dos estágios imaturos de duas espécies de moscas-da-carne: *Boettcherisca nathani* e *Lioproctia pattoni* (Diptera: Sarcophagidae), podendo-se ver n Figura 2. Eles analisaram que o terceiro instar das duas espécies diferiram marcadamente quanto aos espinhos entre o protórax e o mesotórax. *B. nathani* tem espinhas triangulares mais esbeltas, com as da região posterior mais delgadas do que a região anterior; enquanto *L. pattoni* tem espinhas triangulares robustas com uma ou duas pontas anteriores, com forma triangular menor e cônica, agrupadas duas a quatro lateralmente na extremidade posterior.

As recentes técnicas envolvendo a Entomologia Forense têm conquistado muitos profissionais das mais diversas áreas do conhecimento biológico, resultando em um acervo concreto de evidência entomológica do âmbito criminal. Não obstante, novas técnicas têm sido desenvolvidas para especificar de forma mais precisa o Intervalo Pós-Morte. Uma das apostas mais recentes para esta estimativa tem sido a investigação da interação entre comunidade bacteriana e sua influência sobre a Comunidade de Intervalo Pré-Colonização de cadáveres (EDMUND et al., 2014).

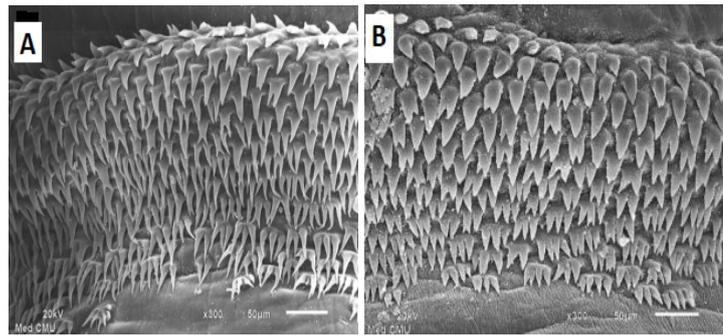


Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura. (A) Terceiro instar larval de *B. Nathani* mostrando espinhos localizados na margem anterior do mesotórax mostrando forma triangular mais ou menos delgada anteriormente, enquanto mais esbelta posteriormente. (B) Terceiro instar *L. pattoni* demonstrando espinhos na margem anterior do mesotórax demonstrando uma forma triangular robusta com uma ou duas pontas anteriores, enquanto menores e forma triangular cônica, lateralmente agrupada de dois a quatro posteriormente. (Fonte: Samerjai et al., 2016).

Essa técnica é chamada de *Pre-Appearance Interval* (PAI) e estima o tempo de colonização bacteriana e o início da colonização dos insetos. Essa nova técnica está passando por regulamentação pela Sociedade Entomológica da América (BUGELLI; CAMPOBASSO, 2017).

A investigação bacteriana atualmente o conhecimento a respeito de microrganismos simbióticos é universalmente conhecido. Sua presença em espécies sarcófagas é evidente na cavidade bucal, e até mesmo presente nas células dos próprios insetos (MA et al., 2015). Outra evidência é a influência do microambiente do local de desova do corpo na decomposição cadavérica. Uma das formas de envolvimento é na interação de comunidades necrobiomas (bioma de microrganismos no corpo em decomposição) e microbioma epinecrotico (bioma de microrganismos no local de desova) (PECHAL et al., 2014). Estas interações fornecem informações quanto à linha metabólica que os microrganismos tomam dependendo do meio em que estão.

Para determinação dessas interações e linhas metabólicas, o sequenciamento de nova geração é a alternativa mais promissora, com determinações específicas. Essa nova técnica de sequenciamento é capaz de determinar necrobiomas compostos pelos mais diversos organismos como bactérias, fungos, protistas, invertebrados e, até mesmo, vertebrados (Finley et al., 2015).

Pechal et al. (2014) documentaram o necrobioma em porcos em decomposição, concluindo, de forma categórica, duas principais observações: 1) A comunidade bacteriana do corpo em decomposição muda durante os mais diversos estágios de decomposição; 2) O sequenciamento dessas mudanças durante os estágios evolutivos da decomposição pode ser utilizado para determinação do IPM.

Além disto, há uma sintomática bastante evidente para investigações criminais atuais, a denominada “impressão digital microbiana”. Segundo recentes descobertas, o microbioma individual não sofre alterações durante a idade adulta, desenvolvendo, desse modo, uma impressão única em cada indivíduo (Lvet et al., 2014). As expectativas quanto a estas recentes descobertas, apontam suposições quanto às interações entre indivíduos a partir da impressão microbiótica, ou seja, essa demonstração poderia informar quais pessoas estiveram envolvidas ao corpo nos últimos dias.

Finley et al. (2015) exemplificaram como seria capaz a utilização da informação do bioma em investigações criminais. O principal foco dos cientistas era a determinação do IPM a partir do bioma em um corpo desovado em um campo aberto. O procedimento é simplificado pelos seguintes passos ilustrados na Figura. 2: 1) Coleta da amostra do bioma no local e no cadáver; 2) Análise das sequências metagenômicas utilizando o Sequenciamento de Nova

Geração; 3) Classificação Taxonômica com base nas sequências encontradas; 4) Determinação do IPM.

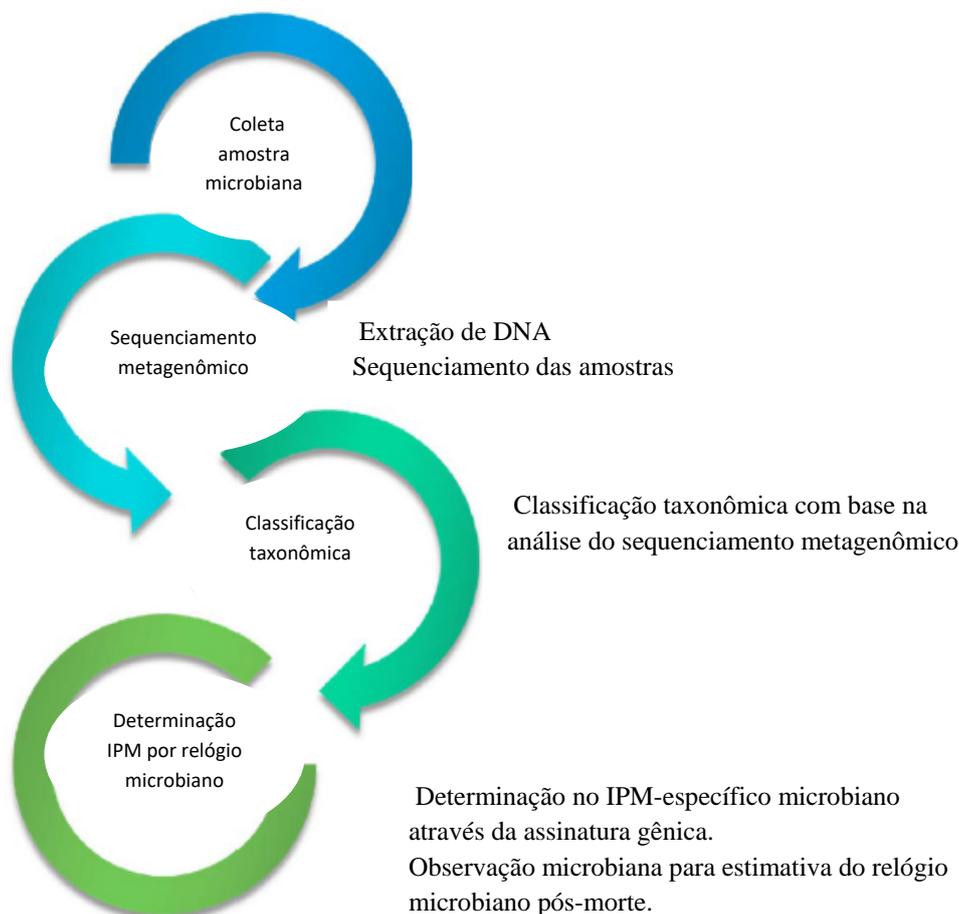


Figura 3. A coleta é feita no campo e feito o sequenciamento metagenômico, após a classificação da taxa pela análise de sequências é determinado o Intervalo Pós-morte mínimo da assinatura e tempo de vida microbiano. Fonte: Finley et al. (2015).

Outra influência dos microrganismos permeia em níveis altamente promissores em investigações forenses, inclusive no perfil de odor da decomposição do corpo. Essa nova técnica foi investigada por Iqbal et al. (2017) com os mais variados estudos demonstrativos.

A manifestação de conhecimento forense tem se destacado com gradual avanço de conhecimentos apurados. Vale salientar que tais ferramentas têm sofrido análise de Sociedades Entomológicas e investigadores forenses para formalizarem padrões de utilização em investigações criminais. O caminho para que tais técnicas possam ser efetivadas para fins judiciais passa por constantes padronizações e análises técnicas.

CONCLUSÃO

A partir das análises provenientes das técnicas aplicadas à Entomologia Forense, percebe-se gradual avanço entre as técnicas atuais de aplicabilidade no âmbito de justiça com contribuição biológica. As ciências relativas à natureza vêm conquistado de modo proeminente sua contraparte forense, servindo como base importantíssima na solução de casos. Necessita-se de maior estudo dos avanços tecnológicos para um apurado de evidências, bem como necessita-

se de uma regulamentação judicial para a aplicabilidade dessas tecnologias e informações. *Mutatis mutandis*, o âmbito forense com sua contribuição biológica alcançará um patamar mais proeminente na análise judicial e solução de casos criminais com os conhecimentos relativos à sua natureza científica.

REFERÊNCIAS

BALA, M.; SHARMA, A.. Review of some recent techniques of age determination of blow flies having forensic implications. **Egyptian Journal Of Forensic Sciences**, p. 203-208, 2015.

BUGELLI, V.; CAMPOBASSO, C. P. Basic research and applied science in forensic entomology. **Science & Justice**, v. 57, n. 3, p. 157-158, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2017.04.006>.

CARRIÇO, C. et al. Ultrastructural studies of some character of Diptera (Muscidae) of forensically importance. **Acta Tropical**, p. 96-102, 2014.

FINLEY, S. J.; BENBOW, M. E.; JAVAN, G. T. Potential applications of soil microbial ecology and next-generation sequencing in criminal investigations. **Applied Soil Ecology**, v. 88, n. 1, p.69-78, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.01.001>.

IQBAL, M. A. et al. Forensic decomposition odour profiling: A review of experimental designs and analytical techniques. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 112-124, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.04.009>.

MADRA, A. et al. Long-term study of pig carrion entomofauna. **Forensic Sci. Int.**, v. 1, n. 252, p. 1-10, 2015.

PECHAL, J. L. et al. The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing. **Int. J. Legal Med.**, v. 1, n. 128, p. 193-205, 2014.

SAMERJAI, C. et al. Morphology of immature stages of flesh flies, *Boettcherisca nathani* and *Lioproctia pattoni* (Diptera: Sarcophagidae). **Acta Tropical**, p.109-120, 2016.

SZPILA, K. et al. Flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) colonising large carcasses in Central Europe. **Parasitol. Res.**, v. 1, n. 114, p.2341-2348, 2015.

ZANETTI, N. I.; VISCIARELLI, E. C.; CENTENO, N. D.. Marks caused by the scavenging activity of *Necrobia rufipes* (Coleoptera: Cleridae) under laboratory conditions. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, p. 116-120, 2015.