

EFEITO DE OPIÓIDE NO DESENVOLVIMENTO DE DÍPTEROS DE IMPORTÂNCIA FORENSE

THALIA CRUZ LUZ SOARES¹; LETÍCIA BRAATZ FERREIRA²; KATHLEEN TAVARES WINKEL²; NATHALIA PASSOS MOURA²; CLARISSA MARQUES MOREIRA DOS SANTOS³

¹Universidade Federal de Pelotas – csoaresthalia@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – kathwinkel@gmail.com, leticia.b1995@hotmail.com,
nathaliapm_@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – clafarm_mm@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Conhecimentos sobre a distribuição, biologia, ecologia e comportamento de insetos necrófagos encontrados em cena de crime podem fornecer informações sobre quando, onde e como o crime foi cometido (VELHO et al., 2017). Quando se trata de estimar o tempo decorrido desde a morte, utilizando insetos, algumas variáveis devem ser consideradas, como por exemplo, a presença de xenobióticos no cadáver como substrato aos espécimes (BYRD; CASTNER 2001). Diversas drogas, tais como heroína, cocaína, certos analgésicos, compostos anfetamínicos e benzodiazepínicos podem ter efeito no desenvolvimento de insetos, seja acelerando ou retardando o tempo de desenvolvimento (INTRONA et al., 1990; BENECKE et al., 2001 e 2004). Assim, a entomotoxicologia forense estuda o uso de insetos como amostra toxicológica, uma alternativa também para detecção de drogas quando outras matrizes como sangue, urina ou órgãos internos não estão mais acessíveis (INTRONA et al., 2001).

Os opiáceos estão entre as drogas mais administradas, responsáveis por uma percentagem elevada de mortalidade (OEDT, 2014). A metadona é um opióide que tem sido utilizado essencialmente para a abstenção ou redução do consumo de heroína, porém esta droga têm se destacado em casos de dependência química e overdoses (SHIEDS et al., 2007). Substâncias lipofílicas, como a metadona são acumuladas no tecido adiposo das larvas ou biotransformadas antes de voltar a hemolinfa (o sangue dos insetos) e excretadas (GOSSELIN et al., 2010), sendo assim, pode haver alteração no desenvolvimento dos insetos.

Contudo, os processos metabólicos podem divergir entre as espécies, tornando-se necessário o estudo de diferentes xenobióticos em diferentes espécies de insetos (CLARK et al., 1997; BYRD; CASTNER 2001). Neste estudo, foi avaliado o efeito do opióide cloridrato de metadona no desenvolvimento larval dos dípteros *Lucilia cuprina* (Calliphoridae) e *Sarcophaga* (Liopygia) *argyrostoma* (Sarcophagidae).

2. METODOLOGIA

Os espécimes, *Lucilia cuprina* e *Sarcophaga* (L.) *argyrostoma*, avaliados neste estudo foram obtidos de colônias já estabelecidas no Laboratório de Biologia de Insetos do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), a partir de coletas em campo realizadas em área urbana do município de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Para estimular a postura, foi fornecido fígado bovino o qual ficou exposto na gaiola por 2 horas. Após a oviposição, os ovos foram armazenados à

temperatura e umidade relativa controladas (25 ± 2 °C, 70 ± 10 %) até que as larvas eclodissem.

As larvas recém eclodidas foram transferidas para recipientes contendo o substrato de desenvolvimento, separado entre grupo controle e grupos com diferentes concentrações do opióide. O preparo da dieta consistiu de 50g de carne bovina moída crua acrescida das demais concentrações de 0,4; 0,8 e 4,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ da solução de cloridrato de metadona, comercialmente denominada Mytedom®, na forma de solução injetável 10 mg ml^{-1} . Paralelamente, no grupo controle a dieta foi homogeneizada somente com água destilada e sem a droga, mas mantida sob as mesmas condições para avaliar o efeito do tratamento.

Para cada grupo foram transferidas 100 larvas recém eclodidas, das quais foram retirados, aleatoriamente, 10 espécimes para registro da massa corporal. Além disso, para cada tratamento e grupo controle foram realizadas três réplicas.

O efeito dos tratamentos no desenvolvimento larval foi avaliado considerando a variação do peso como variável resposta e os resultados são mostrados como média $\pm$ desvio padrão neste estudo. A análise dos dados foi realizada através de tabelas e gráficos com a utilização do software Microsoft Office Excell 7® e para a análise estatística foi utilizado o software Graph Pad Instat versão 3.0® considerando para fins de interpretação de resultados, o limite de erro de 5% ($p \leq 0,05$) e 1% ($p \leq 0,01$) pelo teste de comparação múltipla Tukey-Kramer.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que as duas espécies analisadas apresentaram comportamentos distintos sob efeito de metadona, quando comparado o peso. O opióide testado influenciou *Sarcophaga* (L.) *argyrostoma* em todas as concentrações testadas e em todas as idades analisadas (Tab. 1), contudo em *Lucilia cuprina* o efeito foi observado apenas com 120h de desenvolvimento ($p = 0,0488$) (Tab. 2). Este é um fator relevante em análises de entomologia forense, uma vez que o efeito deste opióide pode variar entre as espécies e, por conseguinte, afetar diferentemente o cálculo do intervalo pós-morte.

Conforme, os resultados obtidos para *S. argyrostoma* (Tab. 1), foi observado que a metadona influenciou significativamente no peso larval nas 48h ($p = 0,0011$), 96h ($p = 0,0080$) e 120h ($p < 0,01$) nas três concentrações avaliadas. No entanto, para 72h ($p < 0,05$) não apresentou diferença significativa de massa corporal entre os grupos tratados com relação ao grupo controle.

Tabela 1. Peso (mg) larval de *Sarcophaga* (L.) *argyrostoma* nas diferentes concentrações de metadona e em relação ao grupo controle.

Tempo de desenvolvimento (h)	Grupos experimentais			
	Controle	0,4 $\mu\text{g/g}$	0,8 $\mu\text{g/g}$	4,0 $\mu\text{g/g}$
48	$0,173 \pm 0,021^a$	$0,194 \pm 0,022^b$	$0,203 \pm 0,022^c$	$0,162 \pm 0,040^d$
72	$0,255 \pm 0,031$	$0,252 \pm 0,015$	$0,257 \pm 0,017$	$0,261 \pm 0,024$
96	$0,222 \pm 0,019^a$	$0,221 \pm 0,010^b$	$0,143 \pm 0,112^c$	$0,152 \pm 0,112^d$
120	$0,207 \pm 0,014^a$	$0,198 \pm 0,015^b$	$0,132 \pm 0,095^c$	$0,080 \pm 0,105^d$

*Valores expressados em média $\pm$ desvio padrão ($x \pm \text{sd}$) **Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

No entanto, para *L. cuprina* (Tab. 2), foi observado que em 48h, 72h e 96h, a metadona não afetou na massa corporal ($p < 0,05$) para os grupos tratados

comparando com o grupo controle. Outra observação relevante, foi que nas 120h, o valor de $p = 0,0488$ foi considerado significativo, ou seja, na dosagem de $0,8 \mu\text{g g}^{-1}$ foi observado uma diminuição da massa corporal e no tratamento contendo $4,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de cloridrato de metadona houve um aumento da massa corporal, sendo significativo de acordo com o teste estatístico.

Tabela 2. Peso (mg) larval de *Lucilia cuprina* nas diferentes concentrações de metadona e em relação ao grupo controle.

Tempo de desenvolvimento (h)	Grupos experimentais		
	Controle	$0,8 \mu\text{g/g}$	$4,0 \mu\text{g/g}$
48	$0,026 \pm 0,008$	$0,027 \pm 0,007$	$0,026 \pm 0,007$
72	$0,034 \pm 0,004$	$0,034 \pm 0,006$	$0,033 \pm 0,006$
96	$0,034 \pm 0,005$	$0,033 \pm 0,006$	$0,034 \pm 0,006$
120	$0,032 \pm 0,005^a$	$0,028 \pm 0,006^b$	$0,033 \pm 0,006^c$

*Valores expressados em média $\pm$ desvio padrão ($x \pm \text{sd}$) **Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

Considerando a classe dos opióides, resultado oposto ao presente estudo foi obtido por KARBOUCHE (2007) verificando um aumento de massa corporal média da espécie *Lucilia sericata* nos tempos de desenvolvimento entre 48h e 96h, quando tratada em dieta contendo diferentes concentrações de codeína. HECHT et al., (2007) destacou em seu trabalho o efeito da metadona sobre o desenvolvimento em relação ao tamanho larval de *L. sericata* e foi observado que até o 5º dia de desenvolvimento, obteve-se um aumento na velocidade de crescimento em comparação ao grupo controle. Ainda assim, conforme havia um aumento da concentração do fármaco foi observado uma diminuição no comprimento larval. Os resultados relatados na bibliografia em contraste com o estudo desenvolvido neste trabalho comprovam que, inclusive espécies do mesmo gênero e tratando-as com substâncias da mesma classe, ocorrem divergências quanto aos efeitos observados no desenvolvimento larval.

Outras classes de medicamentos foram utilizadas em estudos do desenvolvimento de espécies do gênero *Lucilia*, como no caso de MORENO-GUZMÁN et al., (2018), o qual avaliou o efeito da amitriptilina (antidepressivo tricíclico) em *L. sericata* mostrando uma diminuição na massa corporal dos grupos tratados com o fármaco em relação ao grupo controle.

O presente estudo demonstra resultados preliminares quanto ao desenvolvimento de *L. cuprina* e *S. argyrostoma* sob influência de metadona. Assim, mais estudos estão sendo desenvolvidos com estes espécimes para avaliar o tempo de desenvolvimento total em diferentes concentrações de metadona, viabilidade, sobrevivência, detecção da droga nos estágios imaturos.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que a presença de uma substância exógena como a metadona pode alterar de forma importante o desenvolvimento dos insetos, os quais podem ser utilizados em investigações forenses para o cálculo da estimativa do intervalo *pos-mortem* (IPM). Sendo assim, este estudo contribui para o conhecimento de tal influência, visando minimizar erros na estimativa do IPM quando baseado no desenvolvimento de *Lucilia cuprina* e *Sarcophaga (L.) argyrostoma*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENECKE M.; JOSEPHI E.; ZWEIHOFF R. Neglect of the elderly: Forensic Entomology cases and considerations. . **Forensic Science International**, v.146, p.195-199, 2004.
- BENECKE M.; LESSIG R. Child neglect and Forensic Entomology. **Forensic Science International**, v.120, p. 155-159, 2001.
- BYRD J.H, CASTNER J.L. Insects of forensic importance. USA: **CRCPress**, 2001, v. 1, p. 43-80.
- CLARK, M.A. WORRELL M.B.; PLESS, J.E. Postmortem changes in soft tissues. Haglund WD, Forensic tphonomy: the postmortem fate of human remains. Boca Raton, Florida: **CRC**, v. 1, 1997, p. 151-170.
- GOSSELIN, M.; FERNANDEZ, M. M. R.; WILLE, S. M R.; SAMYN, N.; De BOECK, G.; BOUREL, B. 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. **J Anal Toxicol**, v. 34, n. 7, p. 374-380, 2010.
- GOSSELIN, M.; Di FAZIO, V.; WILLE, S. M. R.; FERNANDEZ, M. M. R. F.; SAMYN, N.; Bourel, B.; Rasmont, P. Methadone determination in puparia and its effect on the development of *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae). **Forensic Science International**, v. 209, p. 154-159, 2011.
- GRELLA, M.D.; THYSSEN, P.J. Efeito da escopolamina sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) e sua importância para a estimativa do intervalo pós-morte. **Revista Brasileira de Criminalística**, Brasil, v. 1, p.39-42, 2011.
- HECHT, L.; KLOTZBACH,H.; SCHRÖDER, H.; PÜSCHEL, K. Einfluss von Methadon auf die Entwicklung von *Lucilia serica*TA. **Rechtsmedizin**, v. 17, p. 83-88, 2007.
- INTRONA, F. Lo DICO C, CAPLAN YH, SMIALEK JE. 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.
- INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L. Entomotoxicology. **Forensic Science International**, Limerick, v. 120, n. 1-2, p. 42-47, Aug. 2001
- KHARBOUCHE, H.; AUGSBURGER, M.; CHERIX, D.; SPORKERT, F.; GIROUND, C.; WYSS, C.; CHAMPOD, C.; MANGIN, P. Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. **International Journal Legal Medicine**, v.122, p 205-211, 2008.
- MORENO-GUZMÁN, C. C.; RODRIGUEZ-CASTRO, V. A.; QUIROZ-MARTINEZ, H. Efecto de La amitriptilina en La Longitud y Peso de Larvas de *Lucilia sericata* Meigen. **Society of Southwestern Entomologists**, v. 43, n. 2, p. 457-464, 2018.
- OEDT, Observatório Europeu da Drogas e da Toxicodependência. **Relatório Europeu sobre Drogas - Tendências e Evoluções**. 2014.
- SHIEDS L B E, HUNSAKER C, COREY T S, WARD M K, STEWART D. Methadone toxicity fatalities: a review of medical examiner cases in a large metropolitan area. **J Forensic Sci**, 2007; 52: 1389–1395.
- SMITH, K.G.V. A manual of forensic entomology, USA: **Cornell University Press**, 1986, p.205.



VELHO, J.A.; GEISER, G.C.; ESPINDULA, A. **Ciências Forenses: Uma introdução as principais áreas criminalística moderna.** São Paulo: Millennium, 2017, 3v, 231-233.