

ENTOMOLOGIA FORENSE APLICADA À IDENTIFICAÇÃO HUMANA POR ANÁLISE DE DNA

Leticia Furlin Britto, Patrícia Harich
lethicia72@gmail.com

Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz

Resumo: A entomologia forense aplica os estudos biológicos gerais dos insetos e artrópodes dentro do âmbito criminal para investigação. Sua principal contribuição dentro da investigação criminal é poder estimar o intervalo post mortem (IPM), uma vez que os insetos são os primeiros a encontrar o cadáver em uma cena de crime e suas diferentes fases de desenvolvimento possibilitam à perícia obter uma resposta aproximada do ocorrido, principalmente em casos que o cadáver leva tempo para ser encontrado. Nos últimos anos, com o auxílio da genética forense, foi descoberto que é possível extrair DNA humano presente em insetos que se alimentam da carne cadavérica ou do sangue, os chamados Necrófagos e Hematófagos, a partir de uma técnica específica. Este artigo busca por meio de levantamento literário entender e comentar os avanços tecnológicos para esta área nos últimos anos, as dificuldades e o que ainda é preciso para que seja possível de forma universal a extração de DNA humano a partir da entomogenética forense e sua utilização para solução de crimes.

Palavras-chave: Entomologia. Forense. Insetos. DNA. Humano.

Abstract: Forensic entomology applies the general biological studies of insects and arthropods within the scope of crime for investigation. Its main contribution within the criminal investigation is to be able to estimate the post mortem interval (IPM), since the possible response steps are the first to occur at a crime scene and their developmental stages approach to obtain a discovery of what happened, especially in cases where the corpse takes time to be found. In recent years, with the help of forensic genetics, it has been discovered that it is possible to extract human DNA present in insects that feed on cadaveric flesh or blood, the so-called Necrophages and Hematophages, using a specific technique. This article, by means of a literary survey, understand and comment on the technological advances in recent years, the difficulties and what is still needed to make a universal survey of human DNA possible, based on the search for forensic ethics and its use as a solution of crimes.

Keywords: Entomology. Forensic. Insects. Human. DNA.

1 INTRODUÇÃO

A Entomologia é a ciência que estuda as características físicas, genéticas, comportamentais e reprodutivas dos insetos e outros artrópodes. As principais razões para se trabalhar com esses animais são desde o fácil cultivo em laboratório, a rápida renovação da população, até mesmo o fato das preocupações éticas serem muito pequenas em relação ao uso experimental comparado aos vertebrados. Devemos estudar os insetos por muitos motivos,

porém, dentre suas muitas especializações alimentares, podemos destacar a ingestão de detritos e de materiais em decomposição, de seres vivos ou mortos (GULLAN; CRANSTON, 2010).

A entomologia forense (EF) utiliza estes estudos na área judicial, afim de solucionar casos legais em que haja suspeita de crime. É dividida em três áreas de atuação: urbana (que estuda a interação dos insetos no meio urbano, atuando em ações cíveis como a presença dos insetos em imóveis); produtos estocados (que trata principalmente contaminação de alimentos) e a médico-legal ou médico-criminal, em que visa as evidências que os artrópodes fornecem para auxiliar na investigação de crimes, principalmente aqueles nos quais houve violência (SCAGLIA, 2014).

Historicamente, o primeiro relato documentado de uso da entomologia para fim forense foi no século XIII, em um livro por um advogado chinês que descreveu o caso de um assassinato próximo a um campo de arroz. No dia seguinte ao ocorrido, o investigador solicitou que todos os trabalhadores do local colocassem suas foices (usadas para trabalhar no campo) no chão. Vestígios de sangue que não estavam visíveis atraíram moscas para uma única foice, e quando confrontado, o dono confessou o assassinato (BENECKE, 2001).

No Brasil, os estudos da EF iniciaram-se em 1908 com os trabalhos de Oscar Freire e Edgard Roquette Pinto ao registrarem a diversidade de fauna de insetos necrófagos presentes na Mata Atlântica. Estes trabalhos foram realizados pouco tempo depois do primeiro livro tratando o assunto de forma sistemática escrito por Mégnin (1894) o que fez destacarem a necessidade de estudo e criação de métodos de pesquisa adaptados ao clima local do Brasil que é totalmente diferente da Europa (PUJOL-LUZ *et al*, 2008).

Apesar das larvas às vezes prejudicarem o trabalho da perícia criando ferimentos no cadáver que podem ser confundidos com lesões, ou alterando lesões iniciais devido sua predileção por locais onde já existiam lesões (PORTO; MIZIARA, 2019), dentre as suas possíveis utilizações, destaca-se a aplicação na investigação de crimes contra pessoas vítimas de mortes violentas, estimar quando ocorreu a morte através do intervalo *post mortem* (IPM), baseando-se no tempo transcorrido desde a morte até a descoberta do corpo, até mesmo possíveis locais onde a vítima possa ter passado e se houve movimentação do cadáver. (PUJOL-LUZ *et al*, 2008).

A utilização da EF para a determinação do IPM foi relatada primeiramente pelo médico francês Bergeret em 1855, onde ele analisava o ciclo de vida de moscas varejeiras e larvas de traças. Mégnin também em seu livro relatou um caso de um bebê recém-nascido mumificado que ao ser autopsiado, estava habitado por inúmeros artrópodes como larvas de borboletas e ácaros mortos. Como era veterinário, auxiliou na pesquisa referente aos ácaros encontrados sobre o corpo e dentro do crânio, considerando o provável número de indivíduos que estavam no cadáver, ele presumiu de forma conservadora que o cadáver foi abandonado há pelo menos 5 meses levando em conta o tempo de desenvolvimento dos ácaros (3 meses) e o período para a dessecação deles (2 meses), mas que muito provavelmente o abandono teria ocorrido entre 7 e 8 meses (SCAGLIA, 2014).

Estabelecer o IPM é uma das principais aplicações da EF, visto que é uma informação vital nas investigações de mortes violentas e inexplicáveis. O conhecimento entomológico é indispensável na investigação afim de utilizar os insetos encontrados no cadáver em decomposição para se obter respostas em relação à data da morte e à possível movimentação do cadáver. Para o cálculo do IPM devem ser considerados os estágios de sucessão dos artrópodes coletados no corpo e indispensável atenção às situações adversas internas e externas que podem influenciar na alteração dos estágios de sucessão, como condições climáticas,

localização do cadáver (que possa dificultar ou facilitar o acesso dos insetos) e até mesmo a contaminação dos insetos por substâncias presentes no cadáver (VOSS *et al*, 2011).

De acordo com Keh (1985, apud SANTOS, 2018), os insetos associados a cadáveres são classificados como:

- Necrófagos: insetos que se alimentam do tecido em decomposição, em sua maioria moscas e besouros da ordem Dípteros Muscoides e Coleópteros. Podem ser imaturos ou insetos adultos;
- Ominívoros: possuem dieta alimentar bem ampla, tratam-se de formigas e vespas da ordem Himenópteros e alguns besouros;
- Parasitas e Predadores: os parasitas usam a entomofauna cadavérica para o seu próprio desenvolvimento e os predadores se alimentam dos insetos cadavéricos. Pertencem às ordens dos Himenópteros (parasitando ou predando), Coleópteros, Dípteros Muscóide e Dermápteros (vulgo tesourinha);
- Acidentais: insetos que aparecem por acaso no cadáver, muitas vezes podem ser explicados pela frequência em que eles ocorrem naturalmente em determinadas áreas ecológicas. Ex: ácaros, aranhas, centopeias e outros artrópodes.

Dentro do reino animal, a ordem Diptera é a que contempla a maior parte dos insetos de interesse forense, e para a maioria dos estudos que envolvem extração de DNA de larvas e para datação da morte, quase sempre são utilizadas espécies presentes nas famílias *Calliphoridae* e *Sarcophagidae* pois são as primeiras a colonizar um cadáver após a sua morte (SCAGLIA, 2014). Também é possível incluir no interesse forense a família *Muscidae* onde estão presentes as moscas domésticas (OLIVEIRA, 2020).

2 ENTOMOLOGIA FORENSE E ANÁLISE DE DNA

O uso das técnicas de biologia molecular para auxiliar nos estudos dos insetos para fins forenses é particularmente recente. Os avanços e aplicações das técnicas moleculares na EF incluem a reação em cadeia de polimerase (PCR) e os marcadores de DNA mitocondrial e nuclear para identificação de espécies (SEMEDO, 2019). O DNA mitocondrial para essas análises se destaca principalmente devido a sua grande abundância em tecidos, o que possibilita a sua obtenção mesmo em coleta de amostras pequenas. Na EF, algumas espécies de califorídeos, também outras pertencentes a *Sarcophagidae* e *Coleoptera* já foram relatadas e identificadas através do DNA mitocondrial (KOSMANN, 2009).

As aplicações de técnicas de biologia molecular para extração de DNA na área de entomologia forense já eram utilizadas principalmente no que se tratava de identificação da espécie dos insetos que eram encontrados se alimentando do cadáver. Análises em que mostram a existência de discrepância entre as espécies cadavéricas presentes no corpo e as presentes na região geográfica onde o mesmo foi descoberto, fornecem evidências principalmente de que a vítima foi deslocada do local original do crime. Tal evidência surge uma vez que a movimentação do corpo frequentemente ocasiona a condução da fauna adquirida no local onde aconteceu o óbito para o segundo local, e também se dá pelo fato de que existem espécies endêmicas, sendo que a presença de uma espécie não habitual do local onde a vítima fosse encontrada, destoaria do contexto, chamando a atenção para a investigação (THYSSEN, 2008).

Com a união da genética forense e da entomologia, a entomogenética forense vem cada vez mais auxiliando na evolução de métodos para se obter DNA a partir dos insetos nas investigações. Atualmente, estudos já mostram que existe a possibilidade de extração de DNA humano do trato digestivo de algumas larvas de necrófagos (que se alimentam do cadáver) e de

hematófagos (que sugam sangue), e a partir de técnicas de multiplicação deste DNA, obter informações como a identidade da vítima e até mesmo a autoria do crime em casos de estupro seguido de morte onde as larvas se alimentaram de sêmen presente nos canais vaginais e anais. (CHAMOUN *et al.*, 2020, RABÊLO, 2015).

Essa possibilidade é extremamente importante no auxílio das investigações de crimes deste tipo, visto que métodos convencionais de coleta de DNA em vítimas de estupro (coleta por *swab*) são limitados por fatores que impossibilitam a sua obtenção, tais como: o tempo de degradação do material ser extremamente curto, as situações que envolvam muitos dias para encontrar o cadáver e o estágio de decomposição em que se encontra por interferência do ambiente externo.

A partir destas descobertas, no caso de insetos hematófagos, é possível se obter DNA humano de até mais de um indivíduo que estiveram em um local de crime fechado, como por exemplo, nos casos de sequestro e cárcere privado, a partir de sua extração do trato digestivo de alguns mosquitos presentes no local (RABÊLO, 2015).

Anteriormente, um estudo com mosquitos da espécie Culicidae já mostrou que a extração de DNA humano a partir desses insetos vivos ou mortos presentes em locais fechados, como cenas de crime, não só é possível como o sinaliza como peça valiosa para o interesse forense, ao que podem revelar informações importantes em relação ao espaço e ao tempo do ocorrido com base em análise da amplificação do DNA e cálculo do intervalo pós alimentação do inseto (CURIC *et al.*, 2014).

Dávila *et al.*, 2018 verificaram ser possível a identificação de vítimas em um caso prático mediante a extração de DNA de uma vítima carbonizada no trato digestivo das larvas encontradas no cadáver, utilizando as técnicas para dissecação dos insetos e posterior técnica orgânica para obtenção do DNA. Com amostra referência da saliva do suposto pai da vítima, apesar do perfil das repetições curtas consecutivas, do inglês *Short tandem repeats* (STR), obtido estar incompleto (conseguir 13 dos 16 marcadores genéticos possíveis), os *loci* obtidos foram suficientes para uma análise comparativa de DNA entre as amostras. A comparação resultou em uma probabilidade de 99,685% de paternidade, e sendo assim, possibilitou identificar a vítima que inicialmente não poderia ser identificada devido ao estado em que foi encontrado seu corpo.

Chamoun *et al.*, 2020 realizaram recentemente um estudo em que foi feita uma simulação de morte violenta utilizando um porco doméstico fêmea da espécie *Sus scrofa*, em que foi inoculado sêmen humano nos canais anais e vaginas do animal para simular ejaculação do estupro. Ao decorrer do avanço da decomposição do cadáver foram realizadas coletas das larvas presentes nos canais onde estava o sêmen e em laboratório foi possível extrair o trato digestivo destes insetos por meio de dissecação e posteriormente extração orgânica do DNA destas amostras. Em seguida, por técnicas laboratoriais de amplificação por PCR se obteve o DNA Y para realização de análises comparativas com a amostra referência do doador do sêmen para o estudo. Ao final do estudo, como resultado, foi possível obter 8 *loci* dos 16 testados em combinação com o Y-STR extraído do trato digestivo das larvas, combinação essa extremamente importante para indicar a fonte doadora do cromossomo Y.

Kirsten Luiz, 2019 realizou um estudo levantando uma importante dificuldade na obtenção de cromossomo Y na extração de DNA de larvas, que era a mistura dos materiais genéticos da vítima e do possível agressor, na qual o DNA da vítima estava sempre em proporções bem maiores do que o possível DNA masculino presente. De forma padrão na quantificação do DNA, a quantidade a ser obtida e quantificada do cromossomo Y poderia ser insuficiente para conseguir traçar um perfil genético do agressor. Ao final do estudo, foi

verificado que com técnicas corretas e mais apropriadas para a extração, pode-se extrair e separar o DNA masculino do material da vítima e conseguir amplificar o cromossomo Y, permitindo, então, o confronto com material genético de possíveis agressores. Outra observação interessante neste estudo, é que diferentemente de outros estudos realizados para extração de DNA em larvas necrófagas, que sempre utilizavam o método de dissecação do trato digestivo, foi utilizado o método de maceração dos insetos por completo, mostrando que dessa forma também é eficaz a extração e sinalizando para novas possibilidades na análise. Tal descoberta permite se dispensar o uso de conhecimento técnico para dissecação dos insetos coletados, bem como os custos relacionados.

3 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

É importante salientar que para se obter DNA humano a partir do trato digestivo destes insetos deve-se levar em conta seu estágio de vida no momento em que são coletados no cadáver. Potencialmente, insetos que se encontram nas fases de 2º e 3º instar de seu desenvolvimento (larva) e fase pupal inicial, pós alimentação com sêmen por exemplo, fornecem maior concentração do DNA, visto que sua degradação e inibição no trato digestivo ainda é bem pequena. Contudo, ainda são necessários maiores estudos em relação à influência dos estágios de vida dos insetos com a quantidade de DNA que deles podem ser extraídos e também com diferentes amostras biológicas, tais como sangue e saliva (POWERS *et al*, 2019).

Considerar a espécie a ser analisada também é importante, por isso a necessidade do conhecimento entomológico em casos de análises forenses. Algumas espécies utilizam secreção de enzimas digestivas que servem para dissolver os tecidos do cadáver como alimentação. Essas enzimas são capazes de degradar o DNA humano presente no local e sua coleta seria, então, em vão. (KIRSTEN LUIZ, 2019).

Mohammad, *et al.*, 2021 realizaram um estudo utilizando as espécies *Chrysomya albiceps* e *Musca domestica* que possuem grande interesse forense na Arábia Saudita e em todo mundo. O estudo tinha como objetivo identificar os níveis de sucesso na extração de DNA das larvas em diferentes estágios e diferentes períodos de tempo após a alimentação. Ao final das análises, os resultados indicaram que o melhor momento para obter um perfil de DNA utilizável é após 24 horas da alimentação em larvas de terceiro instar de ambas as espécies. Destaca-se as larvas de *C. albiceps* que apresentaram resultados positivos na extração mesmo após 72 horas da alimentação. Ainda, larvas de primeiro instar não apresentaram resultados positivos após 24 horas de alimentação, tal resultado pode indicar baixa qualidade ou quantidade de DNA, ou talvez que o processo de digestão no intestino seja mais rápido em larvas nesta fase de desenvolvimento.

Ainda há muito mais o que se estudar referente ao aprimoramento na obtenção de DNA a partir do trato digestivo das larvas, mas os avanços das tecnologias e pesquisas na área da Entomologia Forense, apesar de ainda escassos, já revelam um ousado crescimento e a presença de sua pesquisa em várias partes do mundo denotam que tais conhecimentos são de extrema importância para as investigações criminais.

Deve-se destacar ainda, que se faz imprescindível que as instituições entomológicas, pesquisadores e peritos criminais continuem avaliando e acompanhando os avanços técnicos necessários para que sejam formalizados protocolos de utilização das técnicas em investigações criminais, conferindo à prova pericial a adequada robustez perante ao júri.

Para tanto, algumas ações específicas podem ser adotadas no âmbito dos órgãos periciais, tais como o incremento de equipamentos laboratoriais, a contratação de especialistas,

o treinamento adequado para os profissionais de campo e um envolvimento maior dos órgãos periciais com os órgãos de pesquisas e universidades, produzindo conhecimento científico para aplicação das práticas de EF na esfera criminal.

Tais ações podem tornar entomogenética forense mais aplicável à resolução de crimes no Brasil e no mundo, com conseqüente e evidente ganho no cumprimento da justiça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENECKE, M. A brief history of forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1–2, p. 2–14, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073801004091>. Acesso em 23/09/2022.

CHAMOUN, C.A.; COURI, M.S.; GARRIDO, R.G.; MOURA-NETO, R.S.; OLIVEIRA-COSTA, J. Recovery & identification of human Y-STR DNA from immatures of chrysomya albiceps (Diptera: Calliphoridae). Simulation of sexual crime investigation involving victim corpse in state of decay. **Forensic Science International**, v. 310, p. 2-7, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073820301018?via%3Dihub>. Acesso em 07/06/2022.

CURIC, G.; HERCOG, R.; VRSELJA, Z.; WAGNER, J. Identification of person and quantification of human DNA recovered from mosquitoes (Culicidae). **Forensic Science International: Genetics**, v. 8, n. 1, p. 109–112, 2014. Disponível em: [https://www.fsigenetics.com/article/S1872-4973\(13\)00161-0/fulltext](https://www.fsigenetics.com/article/S1872-4973(13)00161-0/fulltext). Acesso em 17/06/2022.

DÁVILA, V. L. G.; LOURDES, M. D.; BRIONES, C.; HERNÁNDEZ, R.; DÍAZ, P. Identificación de restos humanos mediante el análisis de ADN del contenido gastrointestinal de larvas de mosca. **Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina**, México, v. 2, p. 55, 2018. Disponível em: <https://rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/view/171/164>. Acesso em 16/06/2022.

KIRSTEN LUIZ, R. R. **Identificação humana a partir de larvas necrófagas em situações de simulação de violência sexual seguida de morte**. Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Genética, no Curso de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2019. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/67559>. Acesso em 09/06/2022.

KOSMANN, C. **Código de Barras (Dna Barcode) de dípteros de interesse forense**. Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre na área de Entomologia, no curso de pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/17984>. Acesso em 24/06/2022.

MOHAMMAD, Z.; ALAJMI, R.; ALKURIJI, M.; KAAKEH, W.; ALMEAIWEED, N. Role of Chrysomya albiceps (Diptera: Calliphoridae) and Musca domestica (Diptera: Muscidae) Maggot Crop Contents in Identifying Unknown Cadavers, **Journal of Medical Entomology**, Volume 58, Issue 1, 2021, p. 93–98. Disponível em: <https://academic.oup.com/jme/article-abstract/58/1/93/5877892>. Acesso em 21/09/2022.

OLIVEIRA, E. D. S. Dípteros de importância forense no Brasil. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 2, n. 4, p. 68–72, 2020. Disponível em: <https://meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/63>. Acesso em 24/06/2022.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The Insects: An Outline of Entomology**. 4. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2010. Disponível em: <https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/mod/resource/view.php?id=57350>. Acesso em 09/06/2022.

PORTO, A. C. A. R. S.; MIZIARA, I. D. Dificuldades diagnósticas da causa mortis em cadáveres decompostos. **Saúde Ética & Justiça**, v. 24, n. 2, p. 57–66, 2019. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/sej/article/view/166963>. Acesso em 10/06/2022.

POWERS, J.; OORSCHOT, R. A.H. V.; DURDLE, A. Investigation into the presence of human DNA in the various life stages of forensically relevant Calliphorid species. **Australian Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 1, p. S234–S237, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00450618.2019.1569143>. Acesso em 20/06/2022.

PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTES, L. C.; CONSTANTINO, R. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). **Revista Brasileira de Entomologia**, vol. 52, n. 4, p. 485–492, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbent/a/xkDDPftcsxjCjkkh7J5yChB/?lang=pt>. Acesso em 09/06/2022.

RABÊLO, K. C. N. **Identificação de DNA humano encontrado em trato digestório de culicídeos hematófagos para fins forenses**. Tese apresentada como defesa de doutorado ao Programa de pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/16726>. Acesso em 09/06/2022.

SANTOS, A. E. D. As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. **Revista Brasileira de Criminalística**, Brasília, v. 7, n. 3, p. 12–20, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/328642218_As_principais_linhas_da_biologia_forense_e_como_auxiliam_na_resolucao_de_crimes. Acesso em 19/09/2022.

SCAGLIA, J. A. P. **Manual de entomologia forense**. Leme: J. H. Mizuno, 2014. Disponível em: <https://livrogratuitosja.com/manual-de-entomologia-forense-jorge-a-paulete-scaglia/>. Acesso em 09/06/2022.

SEMEDO, Á. M. V. **Importância dos dípteros em entomologia forense: Diversidade e caracterização morfológica de larvas de Calliphoridae**. Dissertação apresentada como requisito à obtenção de grau de Mestre em Biologia Humana e Ambiente, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10451/39036>. Acesso em 24/06/2022.

THYSSEN, P.J. As aplicações do DNA na entomologia forense e no contexto legal. **Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 49–50, 2008. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70_2/49-50.pdf. Acesso em 09/06/2022.

VOSS, S. C.; COOK, D. F.; DADOUR, I. R. Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia. **Forensic Science International**, v. 211, n. 1–3, p. 67–75, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073811002039?via%3Dihub>. Acesso em 24/09/2022.