



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE TROPICAL  
MESTRADO E DOUTORADO  
UNIFAP / EMBRAPA-AP / IEPA / CI-BRASIL

KEISON DE SOUZA CAVALCANTE

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO  
DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE COELHOS  
DOMÉSTICOS

MACAPÁ, AP

2017

**KEISON DE SOUZA CAVALCANTE**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E  
SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE  
COELHOS DOMÉSTICOS**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Biodiversidade Tropical (PPGBIO)  
da Universidade Federal do Amapá,  
como requisito parcial à obtenção  
do título de Mestre em  
Biodiversidade Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto

Co-Orientador: Prof. Dr. Caio Pinho Fernandes

MACAPÁ, AP  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

614.1

C376a Cavalcante, Keison de Souza.

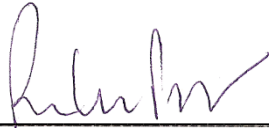
Avaliação do efeito do diazinon na composição e sucessão de assembleias de calliphoridae em carcaças de coelhos domésticos / Keison de Souza Cavalcante; orientador, Raimundo Nonato Picanço Souto; coorientador, Caio Pinho Fernandes. – Macapá, 2017.

39 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical.

**KEISON DE SOUZA CAVALCANTE**

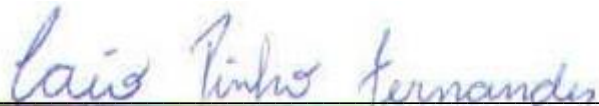
AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE  
ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE COELHOS  
DOMÉSTICOS



---

Raimundo Nonato Picanço Souto

Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)



---

Caio Pinho Fernandes

Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)

---

Ricardo Adaime da Silva

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Pablo Abdon da Costa Frances

Polícia Técnico Científica do Amapá (POLITEC)

A minha família,  
que sempre foi meu alicerce.

## AGRADECIMENTOS

Tudo o que eu conquistei até hoje, tudo o que eu sou, agradeço primeiramente à Deus, que por sua infinita misericórdia, através de seu filho Jesus, me amou primeiro. O seu amor nos constrange.

Agradeço muito os meus pais, por tudo!

Por acreditarem em mim, por apostarem todas as fichas no meu futuro.

Agradeço pelas noites que minha mãe passou de joelhos dobrados orando pela minha vida e pela vida dos meus irmãos.

Agradeço ao meu pai por acordar todos os dias 1 hora da manhã e começar a trabalhar pra que nada faltasse em nossa mesa.

AMO VOCÊS!

E é claro! Nunca poderia deixar de agradecê-los:

Igor, Taires e Telma.

Já passamos por poucas e boas juntos. Obrigado pela amizade, pelo carinho, por nunca me deixarem sozinho, por nunca me esquecerem, por me ajudarem com conselhos quando eu estava desanimado, descreditado, sem esperança.

Igor, obrigado pela nossa última conversa antes de entregar essa dissertação. Mano, tuas palavras me ajudaram muito!

Também amo muito vocês!

Meu orientador, Raimundo Nonato Picanço Souto, obrigado, aprendi muita coisa com senhor. Agradeço o Professor Caio que me ajudou com sua co-orientação e compreensão.

Débora, o amor da minha vida, obrigado por estar sempre me apoiando. E agradeço à todos que de alguma forma contribuiu para a realização desse trabalho (Bruna e Camila... a ajuda de vocês foi essencial). À todos vocês... Obrigado!

## RESUMO

Cavalcante, Keison de Souza. Avaliação do efeito do diazinon na composição e sucessão de assembleias de Calliphoridae em carcaças de coelhos domésticos. 2017. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

A Entomotoxicologia Forense consiste na detecção e análise da interferência de substâncias tóxicas sobre a biologia de insetos necrófagos. Os envenenamentos fatais com diazinon poderiam ocorrer acidentalmente ou após uma tentativa de suicídio. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito do diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos na composição e sucessão de Calliphoridae. Foram utilizadas 9 carcaças de coelhos machos pesando, aproximadamente, 2 Kg cada que foram divididos em três grupos cada um com três réplicas, a saber: um grupo controle, e dois grupos tratamento, T1 100 mg/Kg e 300 mg/Kg. Foram selecionados três fragmentos de cerrado amazônico. Em cada um foi definida uma parcela de 100m x 50m, onde foram depositadas três carcaças (uma de cada grupo) distanciadas de 25m uma da outra. Foram observados cinco estágios de decomposição, Fresca, Coloração-Gasosa, Coliquativa e Esqueletização. Oito espécies de Calliphoridae na fase adulta foram coletados, *Chloroprocta idiodea* (0,1 %), *Chrysomya albiceps* (58,3 %), *Chrysomya megacephala* (14,2 %), *Chrysomya putoria* (2,6 %), *Cochliomyia hominivorax* (1,3 %), *Cochliomyia macellaria* (0,5 %), *Lucilia eximia* (19,8 %) e *Paralucilia paraensis* (3,3 %). A maior abundância de espécimes adultos no grupo Controle se deu somente à partir da Fase Coliquativa. A fase de Esqueletização foi mais abundante nas carcaças controle em relação as dos grupos tratados. Foram coletados 941 indivíduos de Calliphoridae no estágio imaturo pertencentes à três espécies. *C. albiceps* (76,3 %) e *C. putoria* (1 %) e *L. eximia* (22,7). As carcaças do tratamento T2 foram as que apresentaram o menor número de imaturos colonizadores. O número de imaturos coletados nas carcaças controle foi maior em relação aos tratamentos ( $p= 0.00469$ ). O diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos interfere no tempo de putrefação destas, retardando as fases de decomposição e influencia na colonização de formas imaturas de Calliphoridae.

**Palavras-chave:** Entomologia Forense; Organofosforado; Intervalo Post-mortem.

## ABSTRACT

Cavalcante, Keison de Souza. Evaluation Of The Diazinon Effect On The Composition And Succession Of Calliphoridae Assemblies On Carcasses Of Domestic Rabbits. 2017. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

The Forensic Entomotoxicology consists of detection and analysis of the toxic substances interference on the biology of necrophagous insects. The fatal poisonings caused by diazinon could happen accidentally or after a suicide attempt. The goal of this study was to evaluate the effect of the diazinon present in the carcasses of domestic rabbits on the composition and succession of Calliphoridae. Nine carcasses of male rabbits were utilized, weighing, approximately, 2 Kg each that were divided into three groups, each group with three replicas, namely: a control group, and two treatment groups, T1 100 mg/Kg and T2 300 mg/Kg. Three fragments of Amazonian Cerrado were selected. In each of them, a portion of 100m x 50m was defined, where three carcasses were placed (one from each group) with a distance of 25m from each other. Five stages of decomposition were observed, Fresh, Chromatic-Bloat, Black Putrefaction and Skeletonization. Eight Calliphoridae species in the adult phase were collected, *Chloroprocta idiodea* (0.1 %), *Chrysomya albiceps* (58.3 %), *Chrysomya megacephala* (14.2 %), *Chrysomya putoria* (2.6 %), *Cochliomyia hominivorax* (1.3 %), *Cochliomyia macellaria* (0.5 %), *Lucilia eximia* (19.8 %) and *Paralucilia paraensis* (3.3 %). The greatest abundance of adult specimens in the Control group only started in the Black Putrefaction phase. The Skeletonization phase was more abundant in the control carcasses when compared to the carcasses of the treated groups. A total of 941 Calliphoridae individuals were collected in the immature stage, belonging to three species. *C. albiceps* (76.3 %) and *C. putoria* (1 %) and *L. eximia* (22,7). The carcasses of the T2 treatment were the ones that presented the lowest number of immature colonizers. The number of immature individuals collected on the control carcasses was higher when compared to the treatments ( $p= 0.00469$ ). The diazinon present in carcasses of domestic rabbits interferes on their putrefaction time, retarding the decomposition phases and influences the colonization by immature forms of Calliphoridae.

**Keywords:** Forensic Entomology, Organophosphate, Post-mortem Interval.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	10
1.1. ORDEM DIPTERA: FAMÍLIA CALLIPHORIDAE .....	10
1.2. ENTOMOLOGIA FORENSE.....	11
1.3. ENTOMOTOXICOLOGIA FORENSE.....	13
2. HIPÓTESES .....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1. OBJETIVO GERAL.....	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
4. REFERÊNCIAS .....	19
CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE COELHOS DOMÉSTICOS .....	25
RESUMO .....	25
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. Área de Estudo .....	26
2.2. Etapa Experimental.....	27
2.3. Fases de Decomposição.....	28
2.4. Dados Meteorológicos.....	28
2.5. Análises Estatísticas .....	28
3. RESULTADOS .....	29
3.1. Fases de Decomposição.....	29
3.2. Composição de Calliphoridae adultos .....	30
3.3. Sucessão de Calliphoridae Adultos .....	31
3.4. Composição de Calliphoridae imaturos.....	32
3.5. Dados Meteorológicos.....	32
4. DISCUSSÃO .....	32
5. CONCLUSÕES .....	33
6. REFERÊNCIAS .....	35

## **1. INTRODUÇÃO GERAL**

### **1.1. ORDEM DIPTERA: FAMÍLIA CALLIPHORIDAE**

A ordem Diptera compreende os insetos que possuem apenas um par de asas anteriores funcionais em quase todos os indivíduos adultos. Os dípteros são insetos comuns e recebem uma grande variedade de nomes, tais como, moscas e mosquitos. Estes invertebrados estão entre as quatro ordens megadiversas de insetos holometábolos e são bastante estudadas por grande parte de seus representantes serem de importância médica e veterinária (Rafael et al. 2012).

Neste grupo estão inseridas duas grandes subordens: Nematocera, com espécies de pernilongos, mosquitos, etc., e Brachycera, com moscas (Triplehorn e Johnson 2011). No entanto, Rafael et al. (2012) afirmam que outros agrupamentos possivelmente parafiléticos ainda são utilizados, como por exemplo, “Aschiza” e “Acalyptratae”, por outro lado, Brachycera é unicamente aceito como grupo monofilético.

Dentro da subordem Brachycera as moscas pertencentes a família Calliphoridae possuem o corpo de tamanho médio a grande, comumente de coloração metálica azul, violeta, verde ou cobre, apresentando reflexos metálicos na região do abdômen. As 12 espécies desta família são originárias das regiões tropical e subtropical do “Velho Mundo”. As formas imaturas são saprófagas, desenvolvendo-se em detritos, excrementos, carcaças animais e em tecidos animais vivos e os adultos são tipicamente sinantrópicos e extremamente ágeis (Oliveira-Costa 2011).

Os califorídeos apresentam um papel importante na decomposição e na ecologia do meio ambiente, reciclando materiais orgânicos mortos (Salem et al. 2015). São os insetos necrófagos mais importantes, possuindo várias espécies colonizadoras de cadáveres humanos (Oliveira-Costa et al. 2001, Bourguignon et al. 2006, Charabidze et al. 2015, Syamsa et al. 2015), cadáveres carbonizados (Pai et al. 2007) ou de animais (Isiche et al. 1992, Martins et al. 2013, Madra et al. 2015) tornando-os potencialmente úteis em estudos forenses (Greenberg 1991).

Estas moscas são capazes de detectar e localizar cadáveres rapidamente, e em alguns casos, dentro de minutos. Em particular, os califorídeos estão entre os primeiros insetos a colonizarem cadáveres, e, portanto, podem ser utilizados como um relógio biológico na verificação do tempo de morte por duas ou mais semanas (Amendt et al. 2004).

Exceto em habitats marinhos, os artrópodes de um modo geral constituem o principal elemento da fauna cadavérica e os insetos, principalmente as moscas, predominam como o grupo mais constante, diverso e conspícuo em tecidos humanos em decomposição (Catts e Goff 1992). Com isso, existe a possibilidade da utilização dos insetos e outros artrópodes em

investigações de litígios, onde esta aplicação busca solucionar pleitos judiciais através da identificação taxonômica dos espécimes coletados, de suas interações ecológicas e de sua biologia (Oliveira-Costa 2011).

## **1.2. ENTOMOLOGIA FORENSE**

A Entomologia Forense utiliza os insetos e outros artrópodes para solucionar questões jurídicas (Catts e Goff 1992). Lord e Stevenson (1986) subdividiram esta ciência em três categorias, a Entomologia Forense Urbana, que é utilizada para questões cíveis, onde a mesma tenta resolver casos em que, por exemplo, houve a compra de um imóvel que está sendo danificado por insetos; a Entomologia Forense de Produtos Estocados, que é muito utilizada nos exames periciais em que há a contaminação em grande extensão de produtos industrializados estocados; e a Entomologia Forense Médico-Legal, onde envolve a área criminal e os insetos são a chave para as soluções de crimes.

Apesar do termo “entomologia” se relacionar ao estudo dos insetos, por vezes este pode se referenciar a outros artrópodes, com isso, a Entomologia Forense Médico-Legal é o ramo da ciência forense em que a informação sobre insetos e outros artrópodes é usada para tirar conclusões na investigação de casos legais, haja vista que estes invertebrados podem ser encontrados em carcaças de seres humanos e de animais (Gennard 2007).

O primeiro registro do uso de insetos para a resolução de um caso data de 1235 d. C. em um livro de Sung Tzu, intitulado ‘The Washing Away of Wrongs’, onde é descrita a investigação de um homicídio onde a arma do crime, uma foice, possuía resquícios de sangue e moscas sobrevoavam-na, indicando que o assassino a utilizou para matar sua vítima, depois de interrogado o dono do instrumento confessou ser ele o autor do delito (Gennard 2007).

Porém, o primeiro caso em que se utilizou insetos propositalmente para auxiliar uma investigação aconteceu na Europa em um caso descrito por Bergeret (1885), onde houve a absolvição de um casal francês que era acusado da morte de uma criança, cuja mumificação dos restos e fauna associada ao cadáver foram encontradas atrás da lareira da casa onde moravam há pouco tempo, ou seja, como a carcaça já estava em avançado estágio de decomposição e a fauna de insetos indicava um IPM longo, o casal foi inocentado.

Mégnin (1894) consagrou a Entomologia Forense em uma obra intitulada ‘La faune des cadavres: application de l’entomologie a la medecine legale’, onde descreve oito estágios de decomposição, e a cada estágio associou uma onda de insetos que os colonizam, chamada de sucessão entomológica, e os quais ele deu o nome de trabalhadores da morte.

No Brasil, os estudos com Entomologia Forense foram iniciados alguns anos depois da publicação de Mégnin, pelos pesquisadores Edgard Roquette Pinto, no Rio de Janeiro, e

Oscar Freire, na Bahia, onde ambos fizeram o registro da diversidade da fauna de insetos necrófagos em regiões de Mata Atlântica, baseando-se em estudos de casos em humanos e animais realizados na primeira década do século XX (Pujol-Luz et al. 2008).

A região Norte do Brasil tem contribuído grandemente com informações importantes relacionados à Entomologia Forense, construindo um banco de dados para apoiar a Polícia Científica e demais pesquisadores. O primeiro estudo relacionando à Entomologia Forense nesta região ocorreu no ano 2000, na cidade de Belém. Após isto, diversos trabalhos já foram realizados e a região Norte já conta com 50% dos estudos de casos que ocorreram no Brasil e que resultaram em trabalhos publicados em revistas científicas especializadas (Oliveira-Costa 2013).

A sucessão de artrópodes em carcaças já foi estudada em diferentes regiões (Bourel et al. 2004, Pujol-Luz et al. 2006, Oliveira-Costa et al. 2014, Salem et al. 2015, Vasconcelos et al. 2015, Weidner et al. 2015), sob diversas condições climáticas (Watson e Carlton 2003, 2005), e parece ser comum para a maioria desses estudos a tentativa de subdividir o processo de decomposição em uma cadeia global de estágios integrados, cada um com aparência característica, parâmetros físicos e artrópodes específicos para cada estágio de decomposição, tendo como base uma linha de tempo (Catts e Goff 1992).

A abundância e a riqueza de insetos necrófagos mudam de acordo com as condições biogeográficas, com isso, diferentes regiões e condições climáticas possuem uma comunidade de insetos específica e um padrão de sucessão diferente (Amendt et al. 2006).

Segundo Oliveira-Costa (2011), para regiões neotropicais, a classificação das fases de decomposição mais utilizada é a descrita por Gomes (1997), baseadas em Bonnet (1978), que são:

- a) Fase fresca: Externamente o corpo ainda apresenta a aparência normal, no entanto, existem bactérias intestinais consumindo o intestino do cadáver, além disso, a autólise é processada, liberando enzimas;
- b) Fase de coloração ou cromática: Devido ao ceco ser o segmento do corpo que acumula mais gases, esta fase é iniciada com o aparecimento de uma mancha verde na região do baixo ventre. Esta coloração é devida à formação do hidrogênio sulfurado combinado com a hemoglobina originando a sulfometemoglobina. O período de duração desta fase ocorre entre o 3º e 4º dia. No entanto, para a região Norte do Brasil este período pode ser menor devido às altas taxas de temperatura e umidade (Oliveira-Costa 2013);
- c) Fase gasosa: O cadáver fica inchado, com bolhas na pele e a língua fica procidente. Os gases produzidos pressionam o sangue que migra para a periferia originando o

que é conhecido como *circulação póstuma de Brouardel*, destacando a epiderme e esboçando na derme o desenho vascular;

- d) Fase coliquativa: Inicia-se com o rompimento da pele, abertura dos orifícios naturais e as partes moles começam a desmanchar. Nesta fase a carcaça apresenta uma consistência cremosa e, devido à desintegração progressiva dos tecidos, o volume é reduzido;
- e) Fase de esqueletização: Nesta fase os ossos começam a ficar expostos e é a última fase observada, sua duração varia de acordo com a região geográfica, não sendo possível a determinação exata de tempo para o início e fim desta fase;

Assim, insetos necrófagos são excelentes para elucidar padrões dependentes do tempo e um micro-habitat como uma carcaça é pequeno e tem limites claros. Com isso, experimentos onde se utilizam carcaças há a possibilidade de incorporação de diferentes estações. E por fim, as carcaças podem ser adquiridas em grande número e em muitos tamanhos, tornando-as úteis em experimentos com condições naturais (Schoenly e Reid 1987).

Conhecer a distribuição, biologia e comportamento de insetos encontrados em um corpo em decomposição pode ajudar na solução de muitos casos na área criminal, fornecendo informações sobre quando, onde, como e sob quais condições um crime foi cometido ou uma pessoa morreu (Amendt et al. 2006).

Apesar da aplicação mais importante da Entomologia Forense consistir na estimativa do intervalo pós-morte (IPM), ou seja, o intervalo entre o momento da morte e momento em que o cadáver foi encontrado (Amendt et al. 2006), destacam-se também a investigação de maus tratos (Goff et al. 1991), morte violenta (Campobasso e Introna 2001), análise de DNA humano extraído de larvas para a indicação de suspeitos à cena do crime (Wells et al. 2001, Durdle et al. 2013), remoção do cadáver (Catts e Haskell 2008, Salona et al. 2010) e a identificação de drogas em imaturos quando não há mais tecido do cadáver, esta última aplicação consiste em um sub-ramo da Entomologia Forense chamado de Entomotoxicologia Forense (Introna et al. 2001).

### **1.3. ENTOMOTOXICOLOGIA FORENSE**

A Entomotoxicologia Forense é um sub-ramo da Entomologia forense ainda muito recente e consiste na detecção e análise da interferência de substâncias tóxicas sobre a biologia de insetos que se alimentam de carcaças, para auxiliar na identificação de drogas e toxinas presentes em tecidos de pessoas que tenham vindo a óbito por overdose (Campobasso et al. 2004).

Esta ciência é útil, dentre outras questões, quando as amostras de tecidos, sangue ou urina de cadáveres não são possíveis de se coletar por estarem esqueletizados ou em estado avançado de putrefação, servindo os insetos como alternativas seguras para tais análises (Pien et al. 2004). Além disso, a investigação dos efeitos causados por substâncias no desenvolvimento dos insetos deve ser levada em conta já que pode gerar dados imprecisos sobre a idade destes invertebrados, prejudicando assim a estimativa do IPM, quando esta é baseada no ciclo de vida dos mesmos (Goff e Lord 1994).

Introna et al. (2001) relatam que o primeiro caso forense envolvendo a Entomotoxicologia ocorreu na Finlândia, na década de 70, onde moscas adultas coletadas de um cadáver feminino encontrado em avançado estágio de decomposição apresentaram uma baixa concentração de mercúrio medido pela análise toxicológica, tornando possível a localização da área geográfica de onde a vítima faleceu, uma área relativamente livre de poluição por mercúrio.

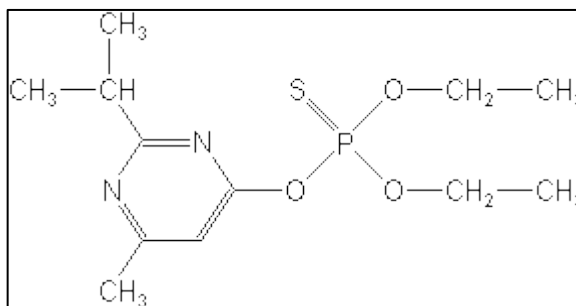
No entanto, foi só na década de 80 que esta ciência foi utilizada para a detecção de uma droga, o fenobarbital, em larvas de califorídeos (Beyer et al. 1980). Desde então diversas substâncias já foram testadas ou detectadas, tais como: oxazepam (Kintz et al. 1990a), bromazepam (Kintz et al. 1990b), morfina (Kintz et al. 1990c), cocaína (Manhoff et al. 1991), heroína (Goff et al. 1991a), propoxifeno (Wilson et al. 1993), paracetamol (Sadler et al. 1997), codeína (Kharbouche et al. 2008), metadona (Gosselin et al. 2010), metanfetamina (Magni et al. 2014). Além disso, água sanitária, repelente de mosquitos, perfumes, soda cáustica, inseticida e gasolina (Aubernon et al. 2015).

Estas publicações demonstram que a Entomotoxicologia pode substituir as análises envolvendo a toxicologia forense sempre que o material de origem de cadáver não está disponível devido ao avançado processo de decomposição e a busca de substâncias específicas pode, conseqüentemente, ser executada até mesmo em imaturos de Diptera coletados nas proximidades imediatas dos restos humanos (Gagliano-Candela e Aventaggiato 2001).

Apesar disto, deve-se levar em conta que o metabolismo e a excreção de drogas nos diferentes estágios de desenvolvimento de insetos devem ser estudadas mais detalhadamente para se ter uma ideia de como e em que medida as drogas são incorporados por esses insetos, assim, entomotoxicologistas poderiam determinar qual a fase de desenvolvimento do inseto é melhor para detectar drogas, quais os tecidos levarão a mais alta absorção destas e quais os tecidos de insetos sofrem mais mudanças, isto tudo para aumentar a confiabilidade dos resultados na Entomotoxicologia Forense (Gosselin et al. 2011).

#### 1.4. DIAZINON

O diazinon (O, O-dietil-O-2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il fosforotioato), (Figura 1), é um inseticida da classe dos organofosforados que foi desenvolvido após a Segunda Guerra Mundial (Barrett e Jaward 2012) e é utilizado mundialmente em larga escala (Zafiroopoulos et al. 2014). É um inseticida que provoca uma estimulação contínua no organismo através da inibição da acetilcolinesterase, resultando em paralisia do sistema nervoso de insetos (Karataş et al. 2011).



**Figura 1** - Estrutura molecular do diazinon (O, O-dietil-O-2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il fosforotioato).

Esta substância é geralmente aplicada como inseticida sistêmico para o controle de invertebrados, tais como pulgas e carrapatos, no entanto, também é altamente tóxico para animais de estimação, gado e seres humanos que, quando são intoxicados, podem vir a óbito devido à insuficiência respiratória resultante de inibição da unidade respiratória central, secreção brônquica excessiva e bloqueio nas junções neuromusculares (Lazarini et al. 2004).

A taxa de mortalidade com envenenamentos por organofosforados é bastante alta (Sungur e Guven 2001). Somente em 2002, 873.000 suicídios causados pela ingestão de inseticidas foram registrados no mundo todo. A explicação mais provável para o elevado número de suicídios com o uso de pesticidas nos países em desenvolvimento é a elevada letalidade associada à ingestão destes em comparação com casos relativamente baixos de mortalidade de muitas das substâncias comumente tomadas em atos de autoenvenenamento no Ocidente (Gunnell et al. 2007).

O diazinon por suas diversas formas de utilização, principalmente em torno de habitações humanas, indica sua extensa disponibilidade e potencial exposição humana acidental ou intencional (Poklis et al. 1980), podendo causar intoxicações agudas, subagudas ou crônicas e, por vezes, envenenamentos fatais que poderiam ocorrer acidentalmente ou após uma tentativa de suicídio (Papoutsis et al. 2012).

O primeiro caso registrado de suicídio com a utilização de diazinon ocorreu em 1974 em que uma mulher de 65 anos veio a óbito após ingerir esta substância (Heyndric et al. 1974).

Posteriormente, Poklis et al. (1980) investigaram outro caso, no qual uma segunda mulher, com 54 anos foi encontrada por seu filho morta em uma cama. Após a autópsia, concluíram que a causa da morte foi intoxicação devido à ingestão de diazinon, a forma de morte foi considerada suicídio. Ohta et al. (2006) descreveram mais um caso de suicídio onde subprodutos de organofosforado foram detectados em um cadáver, proporcionando, assim, evidência convincente de que o líquido que a vítima bebeu era constituído de produtos decompostos do diazinon.

Envenenamentos devido à ingestão de organofosforados são uma importante causa de mortalidade e a taxa de pessoas que morrem devido à intoxicação por estes compostos esteve entre 28% e 47% no período entre 1980 e 2000 (Coskun et al. 2015). Uma das tarefas mais difíceis em medicina forense é decifrar a causa da morte em um caso obscuro ou discutível, portanto, o cuidado deve ser tomado ao se interpretar resultados toxicológicos positivos em casos onde há suspeita de envenenamento (Akhgari e Afshar 2013).



## **2. HIPÓTESES**

Carcaças de coelhos domésticos envenenadas com inseticida diazinon influenciam na composição e na sucessão de assembleias de Calliphoridae e nas fases de decomposição.

Carcaças de coelhos domésticos envenenadas com inseticida diazinon não influenciam na composição e na sucessão de assembleias de Calliphoridae e nem nas fases de decomposição.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

- Avaliar o efeito do diazinon (organofosforado) na composição e sucessão de Calliphoridae em carcaças de coelhos domésticos em ambiente de cerrado amazônico.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar a diversidade e abundância de Calliphoridae presente em carcaças de coelhos domésticos contendo o inseticida diazinon;
- Verificar se o inseticida diazinon interfere na sucessão de Calliphoridae em carcaças de coelhos domésticos;
- Analisar se a presença do diazinon interfere no tempo de decomposição de carcaças de coelhos domésticos.

#### 4. REFERÊNCIAS

- Akhgari, M., and E. A. Afshar. 2013. Organophosphate Detection in a Homicide Victim Burned After Death: Deciding the Cause of Death. *Journal of Clinical Toxicology*:116.
- Amendt, J., C. P. Campobasso, E. Gaudry, C. Reiter, H. N. LeBlanc, and M. J. R. Hall. 2006. Best practice in forensic entomology - standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine* **121**:90-104.
- Amendt, J., R. Krettek, and R. Zehner. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften* **91**:51-65.
- Aubernon, C., D. Charabidze, D. Devigne, Y. Delannoy, and D. Gosset. 2015. Experimental study of *Lucilia sericata* (Diptera Calliphoridae) larval development on rat cadavers: Effects of climate and chemical contamination. *Forensic Science International* **253**:125-130.
- Barrett, K., and F. M. Jaward. 2012. A review of endosulfan, dichlorvos, diazinon, and diuron - pesticides used in Jamaica. *International Journal of Environmental Health Research* **22**:481-499.
- Bergeret, M. 1885. Infanticide, momification du cadavre. Decouverte du cadavre d'un enfant nouveau-ne dans une cheminee ou il s'etait momifie. Determination de l'epoque de la naissance par la presence de nymphes et de larves d'insectes dans le cadavre et par l'etude de leurs metamorphoses. *Ann. Hyg. Publique Med. Leg* **4**:442-452.
- Beyer, J. C., W. F. Enos, and M. Stajic. 1980. Drug identification through analysis of maggots. *Journal of Forensic Sciences* **25**:411-412.
- Bonnet, P. 1978. *Leciones de Medicina Legal*. 3 edition. Editorial Lopez Libreros, Buenos Aires, ARG.
- Bourel, B., G. Tournel, V. Hedouin, and D. Gosset. 2004. Entomofauna of buried bodies in northern France. *International Journal of Legal Medicine* **118**:215-220.
- Bourguignon, L., M. Gosselin, Y. Braet, F. Hubrecht, and J. Karapetian. 2006. Forensic entomology and short-term PMI estimation: a case report. *Belgian Journal of Entomology* **8**:17-25.
- Campobasso, C. P., M. Gherardi, M. Caligara, L. Sironi, and F. Introna. 2004. Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study. *International Journal of Legal Medicine* **118**:210-214.
- Campobasso, C. P., and F. Introna. 2001. The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's role. *Forensic Science International* **120**:132-139.
- Catts, E. P., and M. L. Goff. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu Rev Entomol* **37**:253-272.
- Catts, E. P., and N. H. Haskell. 2008. *Entomology & Death: A Procedural Guide*. Joyce's Print Shop, 1990, Ann Arbor, Michigan, USA.
- Charabidze, D., V. Hedouin, and D. Gosset. 2015. An Experimental Investigation Into the Colonization of Concealed Cadavers by Necrophagous Blowflies. *Journal of Insect Science* **15**:1-7.
- Coskun, R., K. Gundogan, G. C. Sezgin, U. S. Topaloglu, G. Hebbbar, M. Guven, and M. Sungur. 2015. A retrospective review of intensive care management of organophosphate insecticide poisoning: Single center experience. *Nigerian Journal of Clinical Practice* **18**:644-650.

- Durdle, A., R. J. Mitchell, and R. A. H. Van Oorschot. 2013. The human DNA content in artifacts deposited by the blowfly *Lucilia cuprina* fed human blood, semen and saliva. *Forensic Science International* **233**:212-219.
- Gagliano-Candela, R., and L. Aventaggiato. 2001. The detection of toxic substances in entomological specimens. *International Journal of Legal Medicine* **114**:197-203.
- Gennard, D. E. 2007. *Forensic Entomology: An Introduction*. John Wiley & Sons Ltd, Southern Gate, Chichester, UK.
- Goff, M. L., W. A. Brown, K. A. Hewadikaram, and A. I. Omori. 1991a. 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 Sciences* **36**:537-542.
- Goff, M. L., S. Charbonneau, and W. Sullivan. 1991b. Presence of fecal material in diapers as a potential source of error in estimations of postmortem interval using arthropod development rates. *J Forensic Sci* **36**:1603-1606.
- Goff, M. L., and W. D. Lord. 1994. Entomotoxicology - a new area for forensic investigation. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* **15**:51-57.
- Gomes, H. 1997. *Medicina Legal*. Freitas Bastos, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BRA.
- Gosselin, M., M. D. R. Fernandez, S. M. R. Wille, N. Samyn, G. De Boeck, and B. Bourel. 2010. 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* **34**:374-380.
- Gosselin, M., S. M. Wille, M. Fernandez Mdel, V. Di Fazio, N. Samyn, G. De Boeck, and B. Bourel. 2011. Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists. *Forensic Sci Int* **208**:1-9.
- Greenberg, B. 1991. Flies as forensic indicators. *Journal of Medical Entomology* **28**:565-577.
- Gunnell, D., M. Eddleston, M. R. Phillips, and F. Konradsen. 2007. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: Systematic review. *Bmc Public Health* **7**.
- Heyndric, A., F. Vanhoof, L. Dewolf, and C. Vanpeteg. 1974. Fatal diazinon poisoning in man. *Journal of the Forensic Science Society* **14**:131-133.
- Introna, F., C. P. Campobasso, and M. L. Goff. 2001. Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* **120**:42-47.
- Isiche, J., J. E. Hillerton, and F. Nowell. 1992. Colonization of the mouse cadaver by flies in southern england. *Medical and Veterinary Entomology* **6**:168-170.
- Karataş, A., Z. Bahçeci, and E. Başpınar. 2011. The effect of diazinon on egg fertility and development in *Drosophila melanogaster*. *Turkish Journal of Biology* **35**:95-101.
- Kharbouche, H., M. Augsburg, D. Cherix, F. Sporkert, C. Giroud, C. Wyss, C. Champod, and P. Mangin. 2008. Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. *International Journal of Legal Medicine* **122**:205-211.
- Kintz, P., B. Godelar, A. Tracqui, P. Mangin, A. A. Lugnier, and A. J. Chaumont. 1990a. Fly larvae - a new toxicological method of investigation in forensic medicine. *Journal of Forensic Sciences* **35**:204-207.

- Kintz, P., A. Tracqui, B. Ludes, J. Waller, A. Boukhabza, P. Mangin, A. A. Lugnier, and A. J. Chaumont. 1990b. Fly larvae and their relevance in forensic toxicology. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* **11**:63-65.
- Kintz, P., A. Tracqui, and P. Mangin. 1990c. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. *Journal of the Forensic Science Society* **30**:243-246.
- Lazarini, C. A., R. Y. Lima, A. P. Guedes, and M. M. Bernardi. 2004. Prenatal exposure to dichlorvos: physical and behavioral effects on rat offspring. *Neurotoxicology and Teratology* **26**:607-614.
- Lord, W. D., and J. R. Stevenson. 1986. Directory of forensic entomologists. Walter Reed Army Medical Center, Washington, D.C., USA.
- Madra, A., K. Fraczak, A. Grzywacz, and S. Matuszewski. 2015. Long-term study of pig carrion entomofauna. *Forensic Science International* **252**:1-10.
- Magni, P. A., T. Pacini, M. Pazzi, M. Vincenti, and I. R. Dadour. 2014. Development of a GC-MS method for methamphetamine detection in *Calliphora vomitoria* L. (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* **241**:96-101.
- Manhoff, D. T., I. Hood, F. Caputo, J. Perry, S. Rosen, and H. G. Mirchandani. 1991. Cocaine in decomposed human remains. *Journal of Forensic Sciences* **36**:1732-1735.
- Martins, G., W. E. dos Santos, A. J. Creao-Duarte, L. B. G. da Silva, and A. A. F. Oliveira. 2013. Estimate of postmortem interval through forensic entomology in a canine (*Canis lupus familiaris* Linnaeus 1758) in Cabedelo-PB, Brazil: case report. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia* **65**:1107-1110.
- Mégnin, J. P. 1894. La faune des cadavres: application de l'entomologie à la médecine légale. *Encyclopédie scientifique des Aide-mémoires*, Masson et Gauthier-Villars **3**:223-224.
- Ohta, H., M. Mori, H. Nakajima, and T. Kanamori. 2006. A Case of Suicide by Ingestion of Completely Decomposed Pesticide Diazinon. *Canadian Society of Forensic Science Journal* **39**:141-151.
- Oliveira-Costa, J. 2011. Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios. Millennium Editora, Campinas, São Paulo, BRA.
- Oliveira-Costa, J. 2013. Insetos "Peritos": A Entomologia Forense no Brasil. Millennium Editora, Campinas, São Paulo, BRA.
- Oliveira-Costa, J., C. A. De Mello-Patiu, and S. M. Lopes. 2001. The influence of abiotic factors on muscoid Diptera succession patterns in human cadavers at the death scene in Rio de Janeiro. *Boletim do Museu Nacional Rio de Janeiro Zoologia*:1-12.
- Oliveira-Costa, J., C. M. D. Lamego, M. S. Couri, and C. A. Mello-Patiu. 2014. Differential Diptera succession patterns onto partially burned and unburned pig carrion in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **74**:870-876.
- Pai, C. Y., M. C. Jein, L. H. Li, Y. Y. Cheng, and C. H. Yang. 2007. Application of forensic entomology to postmortem interval determination of a burned human corpse: A homicide case report from Southern Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association* **106**:792-798.
- Papoutsis, I., M. Mendonis, P. Nikolaou, S. Athanaselis, C. Pistos, C. Maravelias, and C. Spiliopoulou. 2012. Development and validation of a simple gc-ms method for the simultaneous determination of 11 anticholinesterase pesticides in blood-clinical and forensic toxicology applications. *Journal of Forensic Sciences* **57**:806-812.

- Pien, K., M. Laloup, M. Pipeleers-Marichal, P. Grootaert, G. De Boeck, N. Samyn, T. Boonen, K. Vits, and M. Wood. 2004. 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* **118**:190-193.
- Poklis, A., F. W. Kutz, J. F. Sperling, and D. P. Morgan. 1980. A fatal diazinon poisoning. *Forensic Science International* **15**:135-140.
- Pujol-Luz, J. R., L. C. Arantes, and R. Constantino. 2008. One hundred years of forensic entomology in Brazil (1908-2008). *Revista Brasileira De Entomologia* **52**:485-492.
- Pujol-Luz, J. R., H. Marques, A. Ururahy-Rodrigues, J. A. Rafael, F. H. A. Santana, L. C. Arantes, and R. Constantino. 2006. A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. *Journal of Forensic Sciences* **51**:1151-1153.
- Rafael, J. A., G. A. R. Melo, C. J. B. Carvalho, S. A. Cassari, and R. Constantino. 2012. *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Holos, Editora, Ribeirão Preto, São Paulo, BRA.
- Sadler, D. W., L. Robertson, G. Brown, C. Fuke, and D. J. Pounder. 1997. Barbiturates and analgesics in *Calliphora vicina* larvae. *Journal of Forensic Sciences* **42**:481-485.
- Salem, A. M., F. K. Adham, and C. J. Picard. 2015. Survey of the genetic diversity of forensically important *chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) from Egypt. *Journal of Medical Entomology* **52**:320-328.
- Salona, M. I., M. L. Moraza, M. Carles-Tolra, V. Iraola, P. Bahillo, T. Yelamos, R. Outerelo, and R. Alcaraz. 2010. Searching the soil: Forensic importance of edaphic fauna after the removal of a corpse. *Journal of Forensic Sciences* **55**:1652-1655.
- Schoenly, K., and W. Reid. 1987. Dynamics of heterotrophic succession in carrion arthropod assemblages: discrete seres or a continuum of change? *Oecologia* **73**:192-202.
- Sungur, M., and M. Guven. 2001. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Critical Care* **5**:211-215.
- Syamsa, R. A., B. Omar, R. M. Zuha, M. N. Faridah, M. S. Swarhib, O. Hidayatulfathi, and A. W. Shahrom. 2015. Forensic entomology of high-rise buildings in Malaysia: Three case reports. *Tropical Biomedicine* **32**:291-299.
- Triplehorn, C. A., and N. F. Johnson. 2011. *Estudo dos Insetos*. Cengage Learning, São Paulo, São Paulo, BRA.
- Vasconcelos, S. D., T. M. Barbosa, and T. P. B. Oliveira. 2015. Diversity of forensically-important dipteran species in different environments in northeastern Brazil, with notes on the attractiveness of animal baits. *Florida Entomologist* **98**:770-775.
- Watson, E. J., and C. E. Carlton. 2003. Spring succession of necrophilous insects on wildlife carcasses in Louisiana. *Journal of Medical Entomology* **40**:338-347.
- Watson, E. J., and C. E. Carlton. 2005. Insect succession and decomposition of wildlife carcasses during fall and winter in Louisiana. *Journal of Medical Entomology* **42**:193-203.
- Weidner, L. M., D. E. Jennings, J. K. Tomberlin, and G. C. Hamilton. 2015. Seasonal and Geographic Variation in Biodiversity of Forensically Important Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) in New Jersey, USA. *Journal of Medical Entomology* **52**:937-946.
- Wells, J. D., F. Introna, Jr., G. Di Vella, C. P. Campobasso, J. Hayes, and F. A. Sperling. 2001. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *J Forensic Sci* **46**:685-687.

- Wilson, Z., S. Hubbard, and D. J. Pounder. 1993. Drug analysis in fly larvae. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* **14**:118-120.
- Zafiropoulos, A., K. Tsarouhas, C. Tsitsimpikou, P. Fragkiadaki, I. Germanakis, M. Tsardi, G. Maravgakis, N. Goutzourelas, F. Vasilaki, D. Kouretas, A. W. Hayes, and A. M. Tsatsakis. 2014. Cardiotoxicity in rabbits after a low-level exposure to diazinon, propoxur, and chlorpyrifos. *Human & Experimental Toxicology* **33**:1241-1252.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE COELHOS DOMÉSTICOS

*Artigo submetido ao periódico "Forensic Science International"*



## AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARCAÇAS DE COELHOS DOMÉSTICOS

Keison de Souza Cavalcante<sup>A\*</sup>, Taires Peniche<sup>B</sup>, Bruna Letícia Barreto Façanha<sup>C</sup>, Camila Mendes da Conceição Vieira Araújo<sup>D</sup>, Caio Pinho Fernandes<sup>E</sup>, Telma Adriana Souza Lobato<sup>F</sup> Raimundo Nonato Picanço Souto<sup>G</sup>

<sup>A</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá (cavalcante.ks@gmail.com); <sup>B</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá (tairespeniche@gmail.com); <sup>C</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá (brubsbrr@gmail.com); <sup>D</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá; <sup>E</sup>Laboratório de Nanobiotecnologia Fitofarmacêutica, Universidade Federal do Amapá (caio\_pfernandes@yahoo.com.br); <sup>F</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá (telmalobatobio@gmail.com); <sup>G</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá (nonatoiepa@hotmail.com).

\*Autor para correspondência: cavalcante.ks@gmail.com

### RESUMO

A Entomotoxicologia Forense consiste na detecção e análise da interferência de substâncias tóxicas sobre a biologia de insetos necrófagos. Os envenenamentos fatais com diazinon poderiam ocorrer acidentalmente ou após uma tentativa de suicídio. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito do diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos na composição e sucessão de Calliphoridae. Foram utilizadas 9 carcaças de coelhos machos pesando, aproximadamente, 2 Kg cada que foram divididos em três grupos cada um com três réplicas a saber: um grupo controle, e dois grupos tratamento, T1 100 mg/Kg e 300 mg/Kg. Foram selecionados três fragmentos de cerrado amazônico. Em cada um foi definida uma parcela de 100m x 50m, onde foram depositadas três carcaças (uma de cada grupo) distanciadas de 25m uma da outra. Foram observados cinco estágios de decomposição, Fresca, Coloração-Gasosa, Coliquativa e Esqueletização. Oito espécies de Calliphoridae na fase adulta foram coletados, *Chloroprocta idiodea* (0,1 %), *Chrysomya albiceps* (58,3 %), *Chrysomya megacephala* (14,2 %), *Chrysomya putoria* (2,6 %), *Cochliomyia hominivorax* (1,3 %), *Cochliomyia macellaria* (0,5 %), *Lucilia eximia* (19,8 %) e *Paralucilia paraensis* (3,3 %). A maior abundância de espécimes adultos no grupo Controle se deu somente à partir da Fase Coliquativa. A fase de Esqueletização foi mais abundante nas carcaças controle em relação as dos grupos tratados. Foram coletados 941 indivíduos de Calliphoridae no estágio imaturo pertencentes à três espécies. *C. albiceps* (76,3 %) e *C. putoria* (1 %) e *L. eximia* (22,7%). As carcaças do tratamento T2 foram as que apresentaram o menor número de imaturos colonizadores. O número de imaturos coletados nas carcaças controle foi maior em relação aos tratamentos (p= 0.00469). O diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos interfere no tempo de putrefação destas, retardando as fases de decomposição e influencia na colonização de formas imaturas de Calliphoridae.

**PALAVRAS-CHAVE:** Entomologia Forense, Organofosforado, Intervalo Post-mortem

**FINANCIAMENTO:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

## **1. INTRODUÇÃO**

Os califorídeos apresentam um papel importante na decomposição e na ecologia do meio ambiente reciclando materiais orgânicos mortos [1] e são os insetos necrófagos mais importantes, possuindo várias espécies colonizadoras de cadáveres humanos [2-5], cadáveres carbonizados [6] ou de animais [7-9] tornando-se potencialmente úteis em estudos forenses [10].

A Entomologia Forense utiliza os insetos e outros artrópodes para solucionar questões jurídicas [11]. Conhecer a distribuição, biologia e comportamento de insetos encontrados em um corpo em decomposição pode ajudar na solução de muitos casos na área criminal, fornecendo informações sobre quando, onde, como e sob quais condições um crime foi cometido ou uma pessoa morreu [12]. Além disso, é possível a identificação de drogas em imaturos quando não há mais tecido do cadáver [13].

A Entomotoxicologia Forense é um sub-ramo da Entomologia forense ainda muito recente e consiste na detecção e análise da interferência de substâncias tóxicas sobre a biologia de insetos que se alimentam de carcaças, para auxiliar na identificação de drogas e toxinas presentes em tecidos de pessoas que tenham vindo a óbito por overdose [14].

A taxa de mortalidade de envenenamentos por organofosforados é bastante alta [15] e só em 2002, 873.000 suicídios causados pela ingestão de inseticidas foram registrados no mundo todo. O diazinon é um organofosforado [16] utilizado mundialmente em larga escala [17]. É um inseticida que provoca uma estimulação contínua no organismo através da inibição da acetilcolinesterase resultando em paralisia do sistema nervoso de insetos [18]. Por suas diversas formas de utilização, principalmente em torno de habitações humanas, indica sua extensa disponibilidade e potencial exposição humana acidental ou intencional [19], podendo causar intoxicações agudas, subagudas ou crônicas e, por vezes, envenenamentos fatais que poderiam ocorrer acidentalmente ou após uma tentativa de suicídio [20]. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos na composição e sucessão de Calliphoridae em ambiente de cerrado amazônico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Área de Estudo**

O Estado do Amapá abrange uma área que se estende 4° latitude Norte a 1° de latitude Sul e de 50° de longitude WGr. a 54° de longitude WGr. Esta região corresponde a 140.276 Km<sup>2</sup>, ou seja, 1,65% da área do Brasil. O estudo foi realizado no Campus Marco Zero da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Macapá, Amapá, Brasil em área metropolitana, apresentando fragmentos de ilha de mata seca que são formações florestais no bioma Cerrado

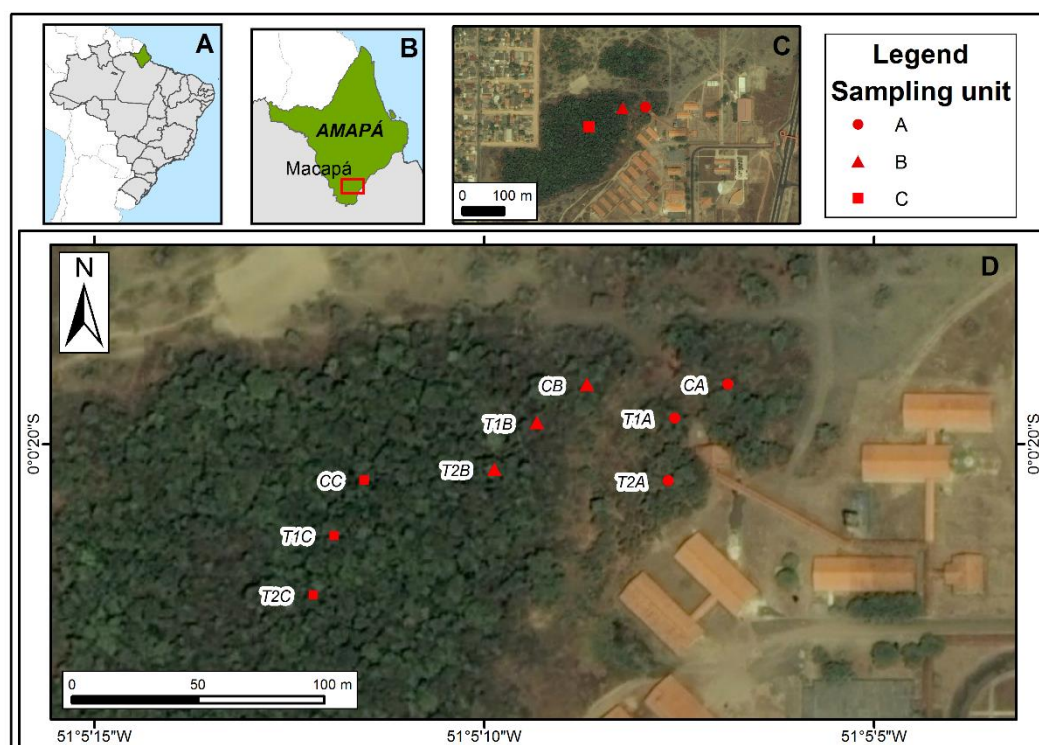
que não possuem associação com cursos de água, caracterizados por diversos níveis de queda das folhas durante a estação menos chuvosa [21].

## 2.2. Etapa Experimental

Foram utilizadas 9 carcaças de coelhos machos pesando, aproximadamente, 2 Kg cada. A escolha deste modelo se deu por serem estes animais muito utilizado em experimentos com Entomotoxicologia Forense [22-25]. O procedimento de eutanásia seguiu o que está estabelecido na Resolução Normativa Nº 13, de 20 de Setembro de 2013 [26] e obteve-se aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNIFAP sob o número de protocolo 002/16.

Os coelhos foram divididos em três grupos cada um com três réplicas [27], a saber: um grupo controle, mortos sem o diazinon e dois grupos tratamento, sendo um grupo tratado com coelhos mortos com 100 mg/Kg do inseticida (T1 = T1a, T1b e T1c) e outro grupo com 300 mg/Kg (T2 = T2a, T2b e T2c). O inseticida foi administrado via intracardíaca.

Foram selecionados três fragmentos no Campus da UNIFAP, com similaridade na estrutura vegetal e no grau de conservação. Em cada fragmento foi definida uma parcela de 100m x 50m, onde foram depositadas três carcaças (uma de cada grupo) distanciadas de 25m uma da outra.



**Fig. 1.** Desenho amostral do experimento indicando as três parcelas que foram estabelecidos nos três fragmentos de ilha de mata seca no Campus Marco Zero da UNIFAP.

Para a amostragem dos insetos adultos foi utilizada uma armadilha do tipo Shannon adaptada medindo 2m x 1,5m sobre cada carcaça. Os imaturos foram coletados com auxílio de pinças entomológicas e levados para criação. Todos os insetos foram levados para o laboratório

de Arthropoda da UNIFAP onde foram triados e identificados. As coletas foram realizadas diariamente entre 10h e 12h. As identificações foram feitas com o auxílio das chaves taxonômicas de Carvalho and Ribeiro [28], Mello [29] e Carvalho and Mello-Patiu [30]. Para a coleta de insetos, obteve-se autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO sob o número 52371-1.

### **2.3. Fases de Decomposição**

As fases de decomposição foram verificadas diariamente. Foi seguida a classificação de Oliveira-Costa [2] para a comparação e o reconhecimento dos diferentes estágios de decomposição dos coelhos, que foram descritas por Gomes [31] e baseadas em Bonnet [32], onde descreve cinco fases, a saber: fase fresca, fase da coloração, fase gasosa, fase coliquativa e fase de esqueletização.

### **2.4. Dados Meteorológicos**

Os dados de temperatura relativa do ar (°C) e umidade relativa do ar foram aferidos diariamente nos ambientes de estudo por meio da utilização de termo-higrômetro. A precipitação pluviométrica (mm) diária foi obtida através de consulta ao banco de dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e Sistema Nacional de Dados Ambientais (SINDA).

A temperatura relativa do ar foi de 27,8 °C , a umidade relativa do ar foi de 42,8 % e a precipitação pluviométrica, obtida através de consulta ao banco de dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e Sistema Nacional de Dados Ambientais (SINDA), foi de 8,6 mm.

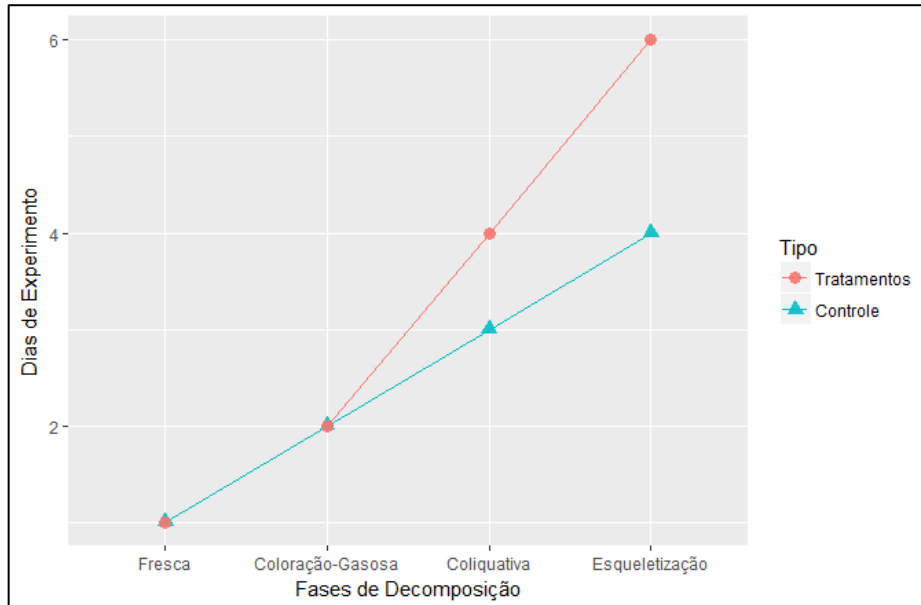
### **2.5. Análises Estatísticas**

Para a verificação da normalidade dos dados obtidos foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para verificar diferenças significativas na riqueza de Calliphoridae entre os tratamentos e nas fases de decomposição foi feita uma análise de variância ANOVA complementado pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado nos referidos testes foi de 5%. Para a realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o Software R versão 3.2.2.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Fases de Decomposição

Foram observadas cinco fases de decomposição: Fresca, Coloração-Gasosa, Coliquativa e esqueletização. As fases de Coloração e Gasosa ocorreram simultaneamente. As carcaças do grupo controle atingiram o estágio de esqueletização no quarto dia, um tempo menor em comparação com as carcaças que continham o diazinon, as quais atingiram esse estágio no sexto dia (Fig. 1). Houve diferença significativa no tempo de cada fase de decomposição das carcaças controle e das tratadas com diazinon ( $F= 9,8$ ,  $p= 0,02579$ ).



**Fig. 2.** Tempo em dias das fases de decomposição das carcaças Controle e dos Grupos Tratamentos.

No quinto dia, as carcaças controle já haviam atingido a um estágio bem avançado de decomposição, restando poucos tecidos moles e boa parte dos ossos já estavam expostos, no entanto, as carcaças tratadas com diazinon ainda estavam no fim da fase Coliquativa e somente após 15 dias é que atingiram a decomposição total (Fig. 3).



**Fig. 3.** A = Carcaça de coelho doméstico do grupo controle no quinto dia de decomposição com boa parte dos ossos já aparentes, B = Carcaça de coelho doméstico contendo Diazinon no quinto dia de decomposição.

### 3.2. Composição de Calliphoridae adultos

Foram coletadas oito espécies de Calliphoridae na fase adulta (Tabela 01). *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) foi a mais abundante entre todas as espécies e também foi a que esteve em maior número em cada carcaça. *Chloroprocta idiodea* (Robineau-Desvoidy, 1830) foi a menos abundante, com dois indivíduos, e sua ocorrência se deu em apenas duas carcaças (T1c e T2a) seguida por *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) com apenas 9 espécimes.

Espécies	Carcaças									Total	
	Controle			Teste 1			Teste 2				
	Ca <sup>a</sup>	Cb <sup>b</sup>	Cc <sup>c</sup>	T1a <sup>d</sup>	T1b <sup>e</sup>	T1c <sup>f</sup>	T2a <sup>g</sup>	T2b <sup>h</sup>	T2c <sup>i</sup>		
<i>Chloroprocta idiodea</i>	N	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
(Robineau-Desvoidy)	%	0	0	0	0	0	0,7	0,2	0	0	0,1
<i>Chrysomya albiceps</i>	N	110	130	107	186	54	94	327	26	25	1059
(Wiedemann)	%	56,7	47,1	72,3	77,5	30,2	64,8	58,5	65	75,8	58,3
<i>Chrysomya megacephala</i>	N	31	60	8	20	15	5	109	9	1	258
(Fabricius)	%	16	21,7	5,4	8,3	8,4	3,4	19,5	22,5	3	14,2
<i>Chrysomya putoria</i>	N	1	8	3	7	1	4	20	2	2	48
(Wiedemann)	%	0,5	2,9	2	2,9	0,6	2,8	3,6	5	6,1	2,6
<i>Cochliomyia hominivorax</i>	N	3	11	2	2	0	0	5	1	0	24
(Coquerel)	%	1,5	4	1,4	0,8	0	0	0,9	2,5	0	1,3
<i>Cochliomyia macellaria</i>	N	0	1	0	1	0	0	7	0	0	9
(Fabricius)	%	0	0,4	0	0,4	0	0	1,3	0	0	0,5
<i>Lucilia eximia</i>	N	47	63	18	21	105	12	82	2	4	354
(Wiedemann)	%	24,2	22,8	12,2	8,8	58,7	8,3	14,7	5	12,1	19,8
<i>Paralucilia paraensis</i>	N	2	3	10	3	4	29	8	0	1	60
(Mello)	%	1	1,1	6,8	1,3	2,2	20	1,4	0	3	3,3
<b>Total</b>		<b>194</b>	<b>276</b>	<b>148</b>	<b>240</b>	<b>179</b>	<b>145</b>	<b>559</b>	<b>40</b>	<b>33</b>	<b>1819</b>

**Tabela 1.** Abundância absoluta e relativa de adultos de Calliphoridae coletados nas carcaças controle e tratamentos. (a Controle a, b Controle b, c Controle c, d Tratamento 1a, e Tratamento 1b, f Tratamento 1c, g Tratamento 2a, h Tratamento 2b, i Tratamento 2c).

Não houve diferença significativa entre o número de indivíduos adultos das carcaças controle e tratadas com diazinon (tabela 2).

Grupo	No. de indivíduos coletados	Média±SE	P
Controle	618	206±64.8	0,978
Teste 1	564	188±48.1	
Teste 2	632	210,7±301.7	

**Tabela 2.** Diferenças no número médio de adultos que foram coletados nas carcaças de coelhos e significância dada pelo teste Anova.

### 3.3. Sucessão de Calliphoridae Adultos

A Tabela 3 mostra a sucessão de Calliphoridae entre os três grupos. Nas carcaças controle o número de indivíduos adultos coletados foi muito menor (N= 5) na Fase de Coloração-Gasosa em comparação com as carcaças dos outros dois tratamentos (N= 337 no T1 e N= 396 no T2). A maior abundância de espécimes adultos no grupo Controle se deu somente a partir da Fase Coliquativa. A fase de Esqueletização foi mais abundante nas carcaças controle em relação as dos grupos tratados. Apesar desses resultados, não houve diferença significativa na sucessão de Calliphoridae entre os grupos tratados ( $F= 0,5996$ ,  $p= 0,5789$ ).

Espécies		Controle				Teste 1				Teste 2			
		F <sup>a</sup>	CG <sup>b</sup>	C <sup>c</sup>	E <sup>d</sup>	F	CG	C	E	F	CG	C	E
<i>Ch. idiodea</i>	N	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	5,6
<i>C. albiceps</i>	N	0	2	141	148	0	184	136	14	0	219	148	11
	%	0,0	40,0	65,3	49,2	0,0	54,6	66,7	60,9	0,0	55,3	67,9	61,1
<i>C. megacephala</i>	N	0	0	18	80	0	16	19	5	0	92	25	2
	%	0,0	0,0	8,3	26,6	0,0	4,7	9,3	21,7	0,0	23,2	11,5	11,1
<i>C. putoria</i>	N	0	0	5	7	0	9	3	0	0	10	14	0
	%	0,0	0,0	2,3	2,3	0,0	2,7	1,5	0,0	0,0	2,5	6,4	0,0
<i>Co. hominivorax</i>	N	0	0	0	16	0	2	0	0	0	4	1	1
	%	0,0	0,0	0,0	5,3	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	1,0	0,5	5,6
<i>Co. macellaria</i>	N	0	0	0	1	0	1	0	0	0	4	3	0
	%	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,0	1,4	0,0
<i>L. eximia</i>	N	0	3	47	39	0	115	19	4	0	59	26	3
	%	0,0	60,0	21,8	13,0	0,0	34,1	9,3	17,4	0,0	14,9	11,9	16,7
<i>P. paraensis</i>	N	0	0	5	10	0	10	26	0	0	8	1	0
	%	0,0	0,0	2,3	3,3	0,0	3,0	12,7	0,0	0,0	2,0	0,5	0,0
<b>Total</b>		<b>0</b>	<b>5</b>	<b>216</b>	<b>301</b>	<b>0</b>	<b>337</b>	<b>204</b>	<b>23</b>	<b>0</b>	<b>396</b>	<b>218</b>	<b>18</b>

**Tabela 3.** Sucessão entomológica de Calliphoridae adultos coletados em carcaças de coelhos domésticos mortos sem intoxicação por Diazinon (Controle) e dois grupos de coelhos domésticos tratados com diferentes dosagens de Diazinon (T1 e T2). (<sup>a</sup> Fase Fresca, <sup>b</sup> Fase Coloração-Gasosa, <sup>c</sup> Fase Coliquativa, <sup>d</sup> Fase de Esqueletização).

A coleta de indivíduos adultos atingiu seu pico no quarto dia, no entanto, dois dias após isto, as carcaças do grupo controle por já estarem na fase de esqueletização não atraíram mais muscoides e só foram capturados mais adultos no décimo primeiro dia, estes eram provenientes da emergência de adultos que antes colonizaram a carcaça quando imaturos. Somente no décimo sexto dia é que as carcaças contendo o diazinon não mais atraíram indivíduos adultos.

### 3.4. Composição de Calliphoridae imaturos

Foram coletados 941 indivíduos de Calliphoridae no estágio imaturo pertencentes à três espécies. *C. albiceps* foi a espécie mais abundante e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) a menos abundante com apenas 9 indivíduos. As carcaças do tratamento T2 foram as que apresentaram o menor número de imaturos colonizadores, com apenas a carcaça T2a colonizada, não foram coletados de imaturos nas carcaças T2b e T2c (Tabela 4).

Espécies	Carcaça										Total
	Controle			Teste 1			Teste 2				
	Ca	Cb	Cc	T1a	T1b	T1c	T2a	T2b	T2c		
<i>C. albiceps</i>	N	338	142	127	15	0	52	3	0	0	677
	%	49,6	20,9	18,6	2,2	0	8,2	0,4	0	0	77,4
<i>C. putoria</i>	N	1	3	4	1	0	0	0	0	0	9
	%	11,1	33,3	44,4	11,1	0	0	0	0	0	1
<i>L. eximia</i>	N	0	20	111	1	112	0	7	0	0	251
	%	0	8	44,2	0,40	44,6	0	2,8	0	0	26,7
<b>Total</b>		<b>339</b>	<b>165</b>	<b>242</b>	<b>17</b>	<b>112</b>	<b>56</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>937</b>

**Tabela 4.** Abundância de imaturos de Calliphoridae coletados nas carcaças.

Não houve diferença significativa entre o número de imaturos coletados nas carcaças controle e nas tratadas com diazinon (tabela 5).

Grupo	No. de indivíduos coletados	Média±SE	P
Control	746	248,7±87.2	0.00469
Test 1	181	60±48	
Test 2	10	3,3±5,8	

**Tabela 5.** Diferenças no número médio de imaturos coletados nas carcaças de coelhos.

### 3.5. Dados Meteorológicos

A temperatura relativa do ar foi de 27,8 °C , a umidade relativa do ar foi de 42,8 % e a precipitação pluviométrica foi de 8,6 mm.

## 4. DISCUSSÃO

As fases de decomposição foram semelhantes à trabalhos realizados na região amazônica brasileira [33-35]. Utilizando também como modelo animal carcaças de coelhos domésticos na Malásia, Silahuddin, Latif, Kurahashi, Walter and Heo [36] observou cinco estágios de decomposição, diferentemente de Lawai, Rahim and Ngaini [37], que também utilizando este modelo animal, observaram apenas quatro estágios. Em função das altas temperaturas e elevados níveis de pluviosidade e umidade na região amazônica, os processos



de decomposição cadavérica são acelerados [38], isto provavelmente influenciou na ocorrência simultânea das Fases de Coloração e Gasosa.

As carcaças tratadas com diazinon apresentaram uma colonização de imaturos bem reduzida, o que conseqüentemente colaborou para uma decomposição mais tardia em relação às carcaças controle. Karataş, Bahçeci and Başpınar [18] estudando os estágios iniciais de *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) observaram que grande parte daquelas que estavam inseridas em culturas contendo o diazinon não conseguiram atingir o estágio adulto. Isso ocorre porque o diazinon provoca a inibição da acetilcolinesterase e resulta na paralisia do sistema nervoso dos insetos [18].

O forte odor dos organofosforados não impede que a atração de insetos às carcaças seja diminuída [23], contudo, as carcaças T2b e T2c não foram muito atrativas para califorídeos adultos em relação aos outros grupos. A alta capacidade de predação de *C. albiceps* pode afetar a abundância de outros califorídeos [39], por isso esta espécie foi a mais abundante em todas as carcaças. Como também observado por Abd El-Bar and Sawaby [23], em um trabalho utilizando coelhos mortos pela ação de um organofosforado, as carcaças do grupo controle também produziram apenas uma geração de califorídeos até a fase de esqueletização.

A maior abundância nas fases de Coloração-Gasosa nos grupos tratados com diazinon se deu provavelmente porque essas fases se prolongaram por mais um dia e o odor se tornou mais forte e atrativo para esses insetos. No entanto, quando atingiram a fase Coliquativa o inseticida antes presente apenas no interior da carcaça, passou a ser liberado junto com os fluídos do corpo e o seu odor deste pode ter influenciado na baixa atratividade nesta fase quando comparadas com as carcaças controle. Com isso, a baixa colonização de insetos na fase de Esqueletização das carcaças tratadas com diazinon pode ter influenciado na sua duração [40].

O número de espécies adultas (S= 8) foi maior que o número de espécies no estágio larval (S= 3). Gunatilake and Goff [41] afirmaram, ao estudar o efeito malation em larvas de artrópodes, que inseticidas podem retardar a oviposição por vários dias e, com isso, diminuindo drasticamente o número de imaturos. Por ser um poderoso inseticida, o diazinon diminuiu significativamente o número de imaturos nas carcaças com a maior concentração.

## 5. CONCLUSÕES

O diazinon presente em carcaças de coelhos domésticos interfere no seu tempo de putrefação, retardando as fases de decomposição. Este inseticida influencia também na colonização de formas imaturas de Calliphoridae pois as larvas não conseguem se desenvolver até os estágios de pupa e, conseqüentemente, não colonizam com sucesso o substrato. Estes

resultados podem servir para o auxílio de investigações forense onde a causa da morte pode ser de envenenamento por diazinon.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] A.M. Salem, F.K. Adham, C.J. Picard, Survey of the genetic diversity of forensically important *chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) from Egypt, *Journal of Medical Entomology* 52(3) (2015) 320-328.
- [2] J. Oliveira-Costa, *Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios*, Millennium Editora, Campinas, São Paulo, BRA, 2011.
- [3] L. Bourguignon, M. Gosselin, Y. Braet, F. Hubrecht, J. Karapetian, Forensic entomology and short-term PMI estimation: a case report, *Belgian Journal of Entomology* 8(1) (2006) 17-25.
- [4] D. Charabidze, V. Hedouin, D. Gosset, An Experimental Investigation Into the Colonization of Concealed Cadavers by Necrophagous Blowflies, *Journal of Insect Science* 15 (2015) 1-7.
- [5] R.A. Syamsa, B. Omar, R.M. Zuha, M.N. Faridah, M.S. Swarhib, O. Hidayatulfathi, A.W. Shahrom, Forensic entomology of high-rise buildings in Malaysia: Three case reports, *Tropical Biomedicine* 32(2) (2015) 291-299.
- [6] C.Y. Pai, M.C. Jein, L.H. Li, Y.Y. Cheng, C.H. Yang, Application of forensic entomology to postmortem interval determination of a burned human corpse: A homicide case report from Southern Taiwan, *Journal of the Formosan Medical Association* 106(9) (2007) 792-798.
- [7] J. Isiche, J.E. Hillerton, F. Nowell, Colonization of the mouse cadaver by flies in southern england, *Medical and Veterinary Entomology* 6(2) (1992) 168-170.
- [8] G. Martins, W.E. dos Santos, A.J. Creao-Duarte, L.B.G. da Silva, A.A.F. Oliveira, Estimate of postmortem interval through forensic entomology in a canine (*Canis lupus familiaris* Linnaeus 1758) in Cabedelo-PB, Brazil: case report, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria E Zootecnia* 65(4) (2013) 1107-1110.
- [9] A. Madra, K. Fratzak, A. Grzywacz, S. Matuszewski, Long-term study of pig carrion entomofauna, *Forensic Sci.Int.* 252 (2015) 1-10.
- [10] B. Greenberg, Flies as forensic indicators, *Journal of Medical Entomology* 28(5) (1991) 565-577.
- [11] E.P. Catts, M.L. Goff, Forensic entomology in criminal investigations, *Annual review of entomology* 37 (1992) 253-72.
- [12] J. Amendt, C.P. Campobasso, E. Gaudry, C. Reiter, H.N. LeBlanc, M.J.R. Hall, Best practice in forensic entomology - standards and guidelines, *International Journal of Legal Medicine* 121(2) (2006) 90-104.
- [13] F. Introna, C.P. Campobasso, M.L. Goff, Entomotoxicology, *Forensic Sci Int* 120(1-2) (2001) 42-47.
- [14] C.P. Campobasso, M. Gherardi, M. Caligara, L. Sironi, F. Introna, Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study, *International Journal of Legal Medicine* 118(4) (2004) 210-214.
- [15] M. Sungur, M. Guven, Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning, *Critical Care* 5(4) (2001) 211-215.
- [16] K. Barrett, F.M. Jaward, A review of endosulfan, dichlorvos, diazinon, and diuron - pesticides used in Jamaica, *International Journal of Environmental Health Research* 22(6) (2012) 481-499.
- [17] A. Zafiropoulos, K. Tsarouhas, C. Tsitsimpikou, P. Fragkiadaki, I. Germanakis, M. Tsardi, G. Maravgakis, N. Goutzourelas, F. Vasilaki, D. Kouretas, A.W. Hayes, A.M. Tsatsakis,

Cardiotoxicity in rabbits after a low-level exposure to diazinon, propoxur, and chlorpyrifos, *Human & Experimental Toxicology* 33(12) (2014) 1241-1252.

[18] A. Karataş, Z. Bahçeci, E. Başpınar, The effect of diazinon on egg fertility and development in *Drosophila melanogaster*, *Turkish Journal of Biology* 35(1) (2011) 95-101.

[19] A. Poklis, F.W. Kutz, J.F. Sperling, D.P. Morgan, A fatal diazinon poisoning, *Forensic Sci.Int.* 15(2) (1980) 135-140.

[20] I. Papoutsis, M. Mendonis, P. Nikolaou, S. Athanaselis, C. Pistos, C. Maravelias, C. Spiliopoulou, Development and validation of a simple gc-ms method for the simultaneous determination of 11 anticholinesterase pesticides in blood-clinical and forensic toxicology applications, *Journal of Forensic Sciences* 57(3) (2012) 806-812.

[21] R.M. Santos, V.F. Almeida, Similaridade florística entre formações de Mata Seca e mata de galeria no Parque Municipal da Sapucaia, Montes Claros-MG, revista científica eletrônica de engenharia florestal 07 (2006) 1-10.

[22] J. Bachmann, T. Simmons, The Influence of Preburial Insect Access on the Decomposition Rate, *Journal of Forensic Sciences* 55(4) (2010) 893-900.

[23] M.M. Abd El-Bar, R.F. Sawaby, A preliminary investigation of insect colonization and succession on remains of rabbits treated with an organophosphate insecticide in El-Qalyubiya Governorate of Egypt, *Forensic Sci.Int.* 208(1-3) (2011) E26-E30.

[24] N.A. Mahat, Z. Zafarina, P.T. Jayaprakash, Influence of rain and malathion on the oviposition and development of blowflies (Diptera: Calliphoridae) infesting rabbit carcasses in Kelantan, Malaysia, *Forensic Sci.Int.* 192(1-3) (2009) 19-28.

[25] Y.W. Shi, X.S. Liu, H.Y. Wang, R.J. Zhang, Effects of Malathion on the Insect Succession and the Development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the Field and Implications for Estimating Postmortem Interval, *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 31(1) (2010) 46-51.

[26] BRASIL-CONCEA, **Resolução Normativa Nº 13, de 20 de Setembro de 2013**. Baixa as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Concea., Diário Oficial da União, 2013.

[27] M. Gosselin, S.M. Wille, M. Fernandez Mdel, V. Di Fazio, N. Samyn, G. De Boeck, B. Bourel, Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists, *Forensic Sci Int* 208(1-3) (2011) 1-9.

[28] C.J.B. Carvalho, P.B. Ribeiro, Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 9 (2000) 169-173.

[29] A.P. Mello, Identification key of the adults of Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) in Brazil, *Entomologia y Vectores* 10(2) (2003) 255-268.

[30] C.J.B. Carvalho, C.A. Mello-Patiu, Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America, *Revista Brasileira de Entomologia* 52(3) (2008) 390-406.

[31] H. Gomes, *Medicina Legal*, Freitas Bastos, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BRA, 1997.

[32] P. Bonnet, *Leciones de Medicina Legal*, 3 ed., Editorial Lopez Libreros, Buenos Aires, ARG, 1978.

[33] S.D. Vasconcelos, R.L. Salgado, T.M. Barbosa, J.R.B. Souza, Diptera of Medico-Legal Importance Associated With Pig Carrion in a Tropical Dry Forest, *Journal of Medical Entomology* 53(5) (2016) 1131-1139.

- [34] W.E. Santos, L.T. Carneiro, A.C.F. Alves, A.J. Creao-Duarte, C.F. Martins, Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) Attracted to Animal Carcasses in the Brazilian Dry Forest and Implications for Forensic Entomology, *Sociobiology* 61(4) (2014) 490-493.
- [35] S.D. Vasconcelos, T.M. Cruz, R.L. Salgado, P.J. Thyssen, Dipterans associated with a decomposing animal carcass in a rainforest fragment in Brazil: Notes on the early arrival and colonization by necrophagous species, *Journal of Insect Science* 13 (2013) 11.
- [36] S.A. Silahuddin, B. Latif, H. Kurahashi, D.E. Walter, C.C. Heo, The Importance of Habitat in the Ecology of Decomposition on Rabbit Carcasses in Malaysia: Implications in Forensic Entomology, *Journal of Medical Entomology* 52(1) (2015) 9-23.
- [37] V. Lawai, N.A.A. Rahim, Z. Ngaini, Blowfly Larval Tissues as a Secondary Detector for Determining Paraquat-Related Death in Rabbit Carcass, *Journal of Forensic Sciences* 60(6) (2015) 1620-1624.
- [38] J. Oliveira-Costa, *Insetos "Peritos": A Entomologia Forense no Brasil*, Millennium Editora, Campinas, São Paulo, BRA, 2013.
- [39] R.R. Azevedo, R.F. Kruger, The influence of temperature and humidity on abundance and richness of Calliphoridae (Diptera), *Iheringia Ser. Zool.* 103(2) (2013) 145-152.
- [40] B. Greenberg, J.C. Kunich, *Entomology and the law: flies as forensic indicators*, Cambridge University Press 2002.
- [41] K. Gunatilake, L.L. Goff, Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae, *Journal of Forensic Science* 34(3) (1989) 714-716.

# ANEXO 01 – Submissão e confirmação da Forensic Science International

Seguro | <https://ees.elsevier.com/fisi/default.asp> | [Outros favoritos](#)

**Forensic Science International** | [Contact us](#) | [Help ?](#) | [Maintenance outage on 19 February 2017 - more](#) | [Scopus access for Editors and Reviewers - more](#)

[home](#) | [main menu](#) | [submit paper](#) | [guide for authors](#) | [register](#) | [change details](#) | [log out](#) | Username: [cavalcante.ks@gmail.com](#) | Switch To: [Author](#) | Go to: [My EES Hub](#) | Version: EES 2017.1

**Submissions Being Processed for Author Keison Cavalcante**

Page: 1 of 1 (1 total submissions) | Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
<a href="#">View Submission</a>		Evaluation Of The Diazinon Effect On The Composition And Succession Of Calliphoridae Assemblies On Carcasses Of Domestic Rabbits	Feb 13, 2017	Feb 13, 2017	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions) | Display 10 results per page.

[<< Author Main Menu](#)

[Help](#) | [Privacy Policy](#) | [Terms and Conditions](#) | [About Us](#) | Copyright © 2017 Elsevier B.V. All rights reserved. Cookies are set by this site. To decline them or learn more, visit our [Cookie page](#).



### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 52371-1	Data da Emissão: 13/05/2016 15:30	Data para Revalidação*: 12/06/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Raimundo Nonato Picanço Souto	CPF: 163.521.492-00
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARÇAÇAS DE <i>Oryctolagus cuniculus</i>	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amapá	CNPJ: 34.868.257/0001-81

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Projeto de Dissertação	01/2016	02/2017

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.bama.gov.br">www.bama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Kelson de Souza Cavalcante	Orientando	006.225.112-03	426728 POLITEC-AP	Brasileira
2	Ricardo Marcelo dos Anjos Ferreira	Colaborador	595.006.892-00	290.050 SEGUP-AC	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	MACAPA	AP	Campus Marco Zero da Universidade Federal do Amapá	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Calliphoridae

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 62747596







UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

**CERTIFICADO**

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na reunião de 30 de junho de 2016, o parecer referente ao protocolo no. **002/2016** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado "**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARÇAÇAS DE *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758)**" coordenado por **Keison de Souza Cavalcante**, está de acordo com os princípios de ética e bem-estar animal.

**CERTIFICATE**

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 30 June 2016, the final decision about the Protocol **002/2016** and certify that the research project entitled "**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DIAZINON NA COMPOSIÇÃO E SUCESSÃO DE ASSEMBLEIAS DE CALLIPHORIDAE EM CARÇAÇAS DE *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758)**" coordinated by **Keison de Souza Cavalcante**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 30 de junho de 2016

  
Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho  
Presidente CEUA-UNIFAP  
Port. No. 1733/2014