

ANÁLISE HISTOLÓGICA DE LARVAS DE *Chrysomya megacephala* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) (FABRICIUS, 1794) TRATADAS COM IBUPROFENO®.

Enrique Yamakawa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ronaldo Roberto Tait Caleffe (Coorientador), Helio Conte (Orientador)

e-mail: ra116859@uem.br - Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas - Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas: Subárea: Biologia Geral

Palavras-chave: entomologia forense, anti inflamatório, desenvolvimento larval.

Resumo: A Entomologia Forense utiliza insetos e outros artrópodes como ferramenta auxiliar em investigações criminais. Diversos estudos tem mostrado que os insetos encontrados nas cenas de crime são capazes de metabolizar drogas presentes nos tecidos em decomposição, podendo levar a alterações na taxa de desenvolvimento do inseto. O objetivo desse estudo foi avaliar alterações no desenvolvimento de larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera; Calliphoridae) tratadas com Ibuprofeno®. As observações foram feitas a cada 24 horas, medindo-se peso, comprimento e tempo de desenvolvimento. Larvas em 3º instar foram submetidas a cortes histológicos e colorações de hematoxilina/eosina, observando o sistema digestório com microscópio de luz. Os resultados indicaram resultado significativo perante ao medicamento Ibuprofeno®, tendo efeito no tempo de desenvolvimento, comprimento (mm) e peso (mg) e evidenciaram morte imatura das larvas, elevando a mortalidade durante o experimento.

Introdução

A Entomologia Forense utiliza insetos e outros artrópodes como ferramenta auxiliar na medicina-legal em investigações criminais. O entomologista coleta e estuda esses animais para avaliar o intervalo pós-morte (IPM), período entre a morte e a identificação do cadáver (MACEDO, 2019). Os primeiros dípteros a colonizar o corpo são as moscas da família Calliphoridae. Antibióticos podem levar a redução no desenvolvimento e na sobrevivência larval. Tranquilizantes levam ao aumento do desenvolvimento larval e atrasam a pupação e emergência da mosca adulta. O Ibuprofeno® é um anti-inflamatório não-esteróide, que inibe a produção de prostaglandinas, gerando ação anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Ele é derivado do ácido iso-butil-propanoico-fenólico (nome químico alfa-metil-[4-(2-metilpropil) fenil] ácido propanoico) (CAMMAERTS, CAMMAERTS, 2018).

O objetivo desse estudo foi avaliar alterações no desenvolvimento de larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera; Calliphoridae) tratadas com Ibuprofeno®.

Materias e métodos

Insetos:

Larvas de *C. megacephala* recém eclodidas, foram coletadas de forma aleatória da criação mantida no Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos na UEM (23°25'30" S e 51°56'20" O). As larvas foram mantidas durante todo o experimento em estufa do tipo BOD Tecnal TE-401, com temperatura de 26 ± 2 °C, fotoperíodo de 12:12 horas (D:N) e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, sendo oferecido dieta artificial contendo Ibuprofeno®.

Ibuprofeno:

Ibuprofeno®, da marca Prati-Donaduzzi, com registro de N°1057305790012, foi utilizada na forma de comprimido com concentração de 600 mg. Os bioensaios foram: 0 mg (controle), 50 mg, 100 mg, 300 mg, 400 mg e 600 mg. Sendo acrescentados à dieta artificial ainda líquida para se processar a mistura do medicamento.

Desenvolvimento pós-embrionário:

As observações foram feitas em triplicata a cada 24h consistindo em amostragem destrutiva. Antes das medições, as larvas foram mortas por imersão em água aquecida (80 °C/ 30 s). O comprimento foi calculado com auxílio de paquímetro Mitutoyo e nas pesagens utilizamos balança semi-analítica Shimadzu UX620H.

Microscopia de luz:

Larvas inteiras de terceiro instar da *C. megacephala* (72h e 96h) foram fixadas em Bouin alcoólico por 24 h em temperatura ambiente de 28 °C. As amostras foram desidratadas em série crescente de álcool, diafanizadas em xilol, incluídas em parafina, seccionadas à 6 µm em micrótomo Leica RM 2250 sendo coradas com hematoxilina e eosina (H/E). Em seguida as lâminas foram observadas em Microscópio de Luz Olympus e documentadas fotograficamente.

Análises estatísticas:

As análises estatísticas dos dados obtidos foram realizadas através da análise ANOVA e comparações múltiplas de Tukey, pelo software Statistica.

Resultados e Discussão

Nos dados obtidos nas larvas de *C. megacephala* tratadas com Ibuprofeno®, foram identificadas alterações no desenvolvimento larval comparado ao controle. As larvas tratadas, demonstraram um ciclo de vida mais lento, prolongando a emergência dos adultos. Conforme aumentamos a concentração do medicamento, o tempo de desenvolvimento foi retardado (Fig. 1A). Este

medicamento demonstrou resultado significativo no peso médio (g) e no tempo de desenvolvimento larval.(Figs.1A e B)

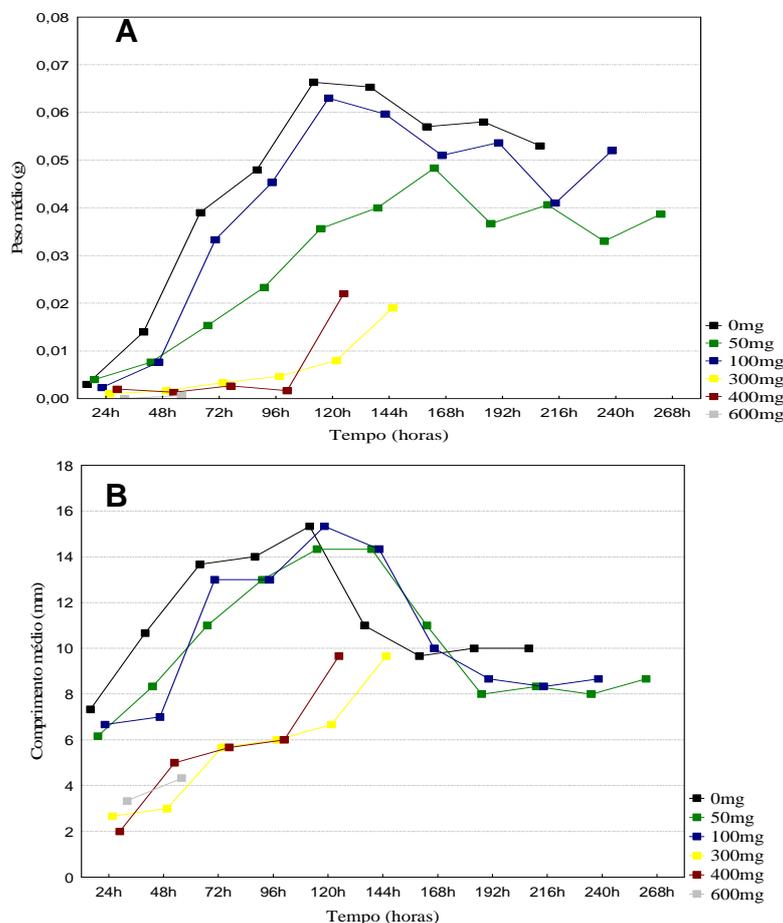


Figura 1. (A) Tempo de desenvolvimento relacionado ao peso médio de *C. megacephala* (B) Tempo de desenvolvimento comparado ao comprimento médio (mm) frente os tratamentos com o Ibuprofeno®.

As larvas de *C. megacephala* atingiram maior comprimento nos tratamentos do controle e de 100mg, enquanto nas concentrações de 300,400, e 600 mg não conseguiram desenvolver e nem obtiveram tamanho maior que 10 milímetros. Quando colocados em alta concentração a taxa de mortalidade total das larvas foi elevada, na concentração final pode se observar 100% na mortalidade (Fig. 2). Em outros experimentos com a utilização do buscopan, não demonstrou diferenças significativas em relação do tratamento com a droga para o controle segundo Oliveira et al., (2009), divergindo do presente estudo realizado com o Ibuprofeno®, que obteve resultados com diferenças significativas em suas taxas.

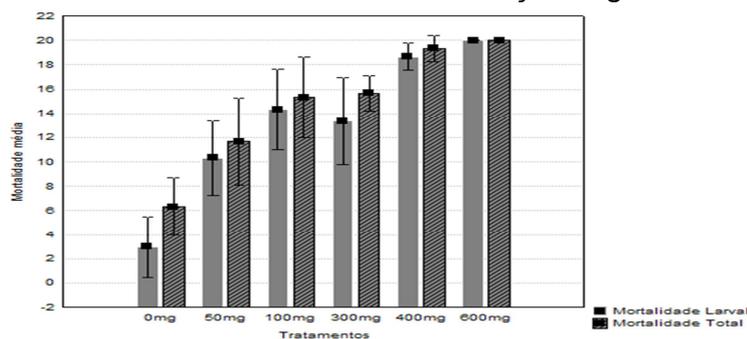


Figura 2. Taxa de mortalidade larval e pupal de *C. megacephala* frente os tratamentos com o Ibuprofeno®.

O sistema digestório de *C. megacephala* é dividido em anterior, médio e posterior. O intestino anterior inicia-se na cavidade bucal e se prolonga até o médio pelo esôfago, contando com um divertículo chamado de papo. O intestino médio começa no proventrículo e apresenta células cuboide com borda em escova, além de ser revestido pela membrana peritrófica. A ligação do médio com o posterior é identificada pela presença dos túbulos de Malpighi (Fig. 3).

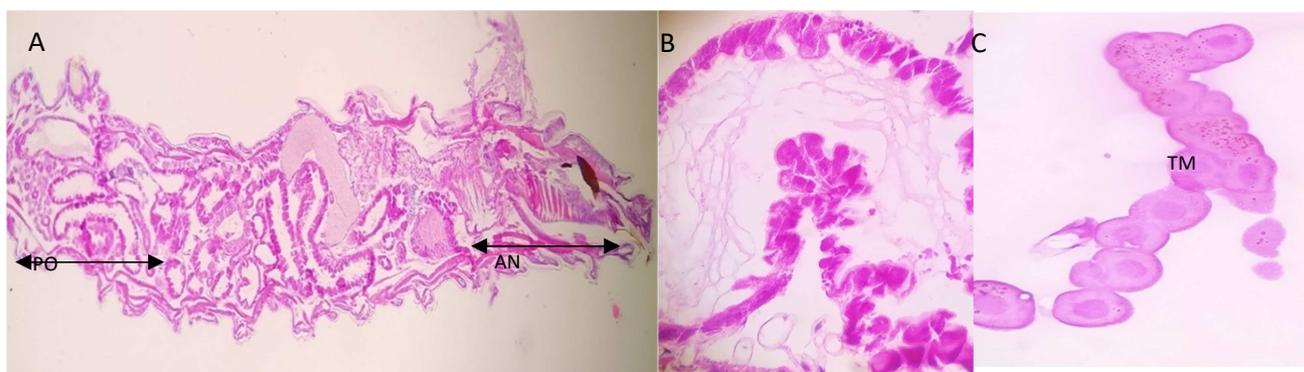


Figura 3. Histologia de larvas de *C. megacephala* coradas com hematoxilina / eosina. (A) Visão lateral da larva inteira. (B) Intestino médio. (C) Túbulos de Malpighi. PO=posterior; AN=anterior; LU=lúmen; CB=célula cuboide; MP=membrana peritrófica; TM=túbulo de Malpighi.

Conclusões

O medicamento Ibuprofeno® é uma droga que demonstrou alterações no desenvolvimento pós-embrionário de *C. megacephala* com efetividade no ciclo larval alterando comprimento, peso e taxa de mortalidade total.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Referências

CAMMAERTS, M.C., CAMMAERTS, R. Ethological and Physiological Effects of Ibuprofen, the Recently Most Used Analgesic; a Study on Ants as Models. **Pharmacology and Toxicology**. v. 6(4). p. 251-267. 2018.

MACEDO, I.F. **Os últimos 10 anos de Entomologia Forense no Brasil: Avanços e perspectivas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2019.

OLIVEIRA, H.G., GOMES, G., MORLIN JR. J.J., ZUBEN, C.J.V., LINHARES, A.X. The Effect of Buscopan on the Development of the Blow Fly



Chrysomya megacephala (F.) (Diptera: Calliphoridae). **American Academy of Forensic**. v. 54(1). 2009.