s 21h10min.ite de sexta-feira. N-feira. N **Fungos cadavéricos como ferramenta para a estimativa do intervalo *post mortem* (IPM): estudo de caso**

A micologia forense é um ramo das ciências forenses em ascensão. Possibilita fornecer evidências de rastreamento; estimar o tempo transcorrido desde a morte (intervalo *post* *mortem*); determinar o tempo de inumação de um cadáver; investigar causa de morte, alucinações ou envenenamentos; verificar a localização de cadáveres enterrados; e guerra biológica (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011).

Em relação ao cálculo do intervalo *post mortem* (IPM), que se torna progressivamente mais desafiador conforme aumenta o intervalo, o emprego da micologia tem apresentado um interesse crescente na última década, apesar de críticas à credibilidade da prática e da escassa literatura (MENEZES; KANCHAN; LOBO, 2008; HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011).

O presente estudo de caso tem como objetivo explorar a interface entre a micologia e a medicina legal, no que tange à estimativa do IPM.

O caso consiste no exame cadavérico de um homem de 65 anos, viúvo, com história de alcoolismo, depressão e cardiopatia, o qual foi encontrado em óbito no interior da própria residência, sem sinais de violência. Não havia informações sobre a possível data ou hora do óbito. Trajava blusa de lã, camisa e calça. Apresentava hipóstases dorsais arroxeadas, perda do *rigor mortis*, circulação póstuma de Brouardel e mancha verde abdominal, caracterizando putrefação na fase de coloração. O exame de necropsia evidenciou uma cardiopatia isquêmica crônica como causa de óbito.

O cadáver apresentava, adicionalmente, material algodonoso de coloração enegrecida sobre as pálpebras, escleras oculares e córneas, e material algodonoso branco nas cavidades nasal e oral.

Foram colhidos três suabes: um do olho direito, um das narinas e um do conteúdo algodonoso da boca, os quais foram inoculados em uma placa de petri contendo meio de cultura ágar Sabouraud, utilizando-se a técnica de semeadura por estria simples.

Os meios de cultura foram mantidos a 25ºC e acompanhados durante 45 dias. As lâminas foram montadas em água sem a utilização de corantes, e a observação dos fungos encontrados se deu mediante observação das estruturas sob microscópio ótico (1000×). A identificação seguiu conforme Zheng et al. (2007) e a classificação segundo Hoffmann et al. (2013).

Não houve diferença expressiva no crescimento fúngico entre as amostras da boca, nariz ou olhos. As colônias de *Rhizopus* apresentaram seu auge de crescimento entre os dias 04 e 06, apresentando em seguida lenta redução. Após 17 dias de observação, os meios de cultura apresentavam apenas resquícios do fungo e algumas poucas colônias bacterianas (não identificadas). Nenhuma outra colônia fúngica foi detectada ao longo dos 45 dias de observação.

Registros meteorológicos (INMET, 2017) indicam que no dia do exame e nos três dias que o precederam houve variação de temperatura média de 14,5oC a 18,6oC, umidade do ar de 68% a 81%, e precipitação em apenas um dos dias (1,7mm).

Os tufos brancos (conteúdo algodonoso), comumente descritos como mofos ou bolores, presentes no cadáver referem-se a *Rhizopus* *stolonifer* (Ehrenb.) Vuill (Rhizopodaceae), um Zygomycota de rápido crescimento e principalmente relacionado à decomposição de frutas e alimentos processados (WEBSTER; WEBER, 2007), tendo algumas espécies do gênero relacionadas à patogenicidade em humanos (i.e., CHINN; DIAMOND, 1982; OLIVEIRA, 2014). A espécie é caracterizada por apresentar colônias brancas na parte central e enegrecidas nas bordas, esporangióforos amarronzados ligados por estolões, solitários ou em grupos de até cinco, e logo abaixo destes localizam-se os rizoides claramente ramificados, apófise evidente, e esporangiósporos principalmente ovoides, 5–13 × 5–11 µm. Dados que estão de acordo com o exposto por Zheng et al. (2007).

Espécies de *Rhizopus* são comumente encontradas no solo e os esporangiósporos liberados no ar em grande quantidade. Em cultivo e sob temperatura ideal, colônias de *Rhizopus* *stolonifer* podem crescer até 9,0 cm de diâmetro em três a quatro dias (ZHENG et al., 2007). Janaway, Percival e Wilson (2009) relatam que bolores geralmente aparecem na superfície do corpo na primeira semana após a morte.

De acordo com Hawksworth e Wiltshire (2011), os primeiros pesquisadores a observar que o crescimento de fungos exercia um papel na determinação do tempo de morte foram Voorde e Dijck (1982), na Bélgica. Nesse caso teriam sido isoladas as espécies *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum candidum* Link, *Hormodendron* sp., *Mortierella* sp., e *Penicillium chrysogenum* Thom (as *P. notatum* Westling), cujas características no cadáver sugeriram, e provaram estar correto, um intervalo de 18 dias.

Na Inglaterra, Wiltshire (2005) contrariou achados anatômicos e sugeriu que as evidências micológicas favoreciam um tempo de morte entre três e cinco semanas antes do encontro de um cadáver, estimativa que mostrou-se precisa ao final da investigação.

Hawksworth e Wiltshire (2011) ressaltam que colônias fúngicas sobre, ou associadas, a corpos humanos podem indicar o IPM baseado em taxas de crescimento de várias espécies. Contudo, a aplicabilidade do método está diretamente relacionada com a precisão da identificação dos fungos, métodos de armazenagem dos cadáveres, e a disponibilidade de dados sobre a umidade e temperatura locais. Isso implica em uma análise ainda mais minuciosa por parte dos peritos na obtenção de dados do local de onde foi encontrado o cadáver. Hawksworth e Wiltshire (2011) esclarecem que, como ainda há poucos dados precisos sobre diversas espécies fúngicas e suas taxas de crescimento sobre cadáveres humanos (especialmente sob diferentes condições ambientais), é preciso uma série de experimentos buscando uma maior aproximação dos parâmetros ambientais, principalmente se espelhando nos fatos reais.

No presente caso, a putrefação em fase de coloração sugere de maneira imprecisa cerca de 36 a 48h de óbito (HERCULES, 2005). Os autores não mediram o tamanho das colônias encontradas sobre o cadáver, não realizaram a observação direta das estruturas fúngicas no momento da coleta, tampouco encontraram publicações sobre a taxa de crescimento do fungo que permitissem estabelecer uma correlação precisa. Entretanto, acreditam que esse relato reforce a importância da correta coleta de material fúngico e multiplicação em meios de cultura para estudos posteriores. Acreditam ainda que o refinamento dessas técnicas pode trazer valorosa contribuição às ciências forenses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**1.** CHINN, R.W.; DIAMOND, R.D. Generation of Chemotactic Factors by *Rhizopus oryzae* in the Presence and absence of serum: Relationship to hyphal damage mediated by human neutrophils and effects of hyperglycemia and ketoacidosis. **Infection and Immunity**. v. 38, p.1123-1129, 1982.

**2.** HAWKSWORTH, D.L.; WILTSHIRE, P.E.J. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigation. **Forensic Science International**. v. 206, p.1-11, 2011.

**3.** HERCULES, H.C. **Medicina legal:** texto e atlas. São Paulo: Atheneu, 2005. 714 p.

**4.** HOFFMANN, K. et al. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia - Molecular phylogey and evolution of fungi**. v. 30, n. 1, p.57-76, 30 jun. 2013.

**5.** INMET - Instituto Nacional de Meteorologia: estação meteorológica de observação de superfície automática. 2017. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>. Acesso em: 11 jul. 2017.

**6.** JANAWAY, R.C.; PERCIVAL, S.L.; WILSON, A.S. Decomposition of human remains. In: PERCIVAL, S.L. **Microbiology and aging:** clinical manifestations. New York: Springer Science+business Media, 2009. Cap. 14. p. 313-334.

**7.** MENEZES, R.G.; KANCHAN, T.; LOBO, S.W. Cadaveric fungi: Not yet an established forensic tool. **Journal of Forensic and Legal Medicine.** v. 15, p.124-126, 2008.

**8.** OLIVEIRA, J.C. **Tópicos em micologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2014. 229 p.

**9.** VOORDE, H.; DIJCK, P.J. Determination of the time of death by fungal growth. **Zeitschrift Für Rechtsmedizin.** v. 89, n. 2, p.75-80, out. 1982.

**10.** WEBSTER, J.; WEBER, R.W.S. **Introduction to Fungi.** 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. 841p.

**11.** WILTSHIRE, P.E.J. Estimated Time of Death of a Corpse on a Railway Line at Ruislip Station, Report for British Transport Police, London. 2005.

**12.** ZHENG, R.Y. et al. A monograph of *Rhizopus*. Sydowia: an international journal of mycology. v. 59, p.273-372, 2007.