

---

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

---

**FERNANDA VECK DOS SANTOS**

**EFEITO DE ANTICONCEPCIONAL HUMANO NO  
DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *CHRYSOMYA  
MEGACEPHALA* (FABRICIUS) (DIPTERA:  
CALLIPHORIDAE) PARA USO FORENSE**



Rio Claro  
2013

FERNANDA VECK DOS SANTOS

EFEITO DE ANTICONCEPCIONAL HUMANO NO DESENVOLVIMENTO  
LARVAL DE *CHRYSOMYA MEGACEPHALA* (FABRICIUS) (DIPTERA:  
CALLIPHORIDAE) PARA USO FORENSE

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO JOSÉ VON ZUBEN

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Instituto de Biociências da Universidade  
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -  
Campus de Rio Claro, para obtenção do grau  
de bacharela em Ciências Biológicas

Rio Claro  
2013

595.7 Santos, Fernanda Veck  
S237e Efeito de anticoncepcional humano no desenvolvimento larval de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) para uso forense / Fernanda Veck Santos. - Rio Claro, 2013  
29 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Cláudio José Von Zuben

1. Inseto. 2. Entomologia forense. 3. Decomposição. 4. Moscas-varejeiras. 5. Larva. 6. Dieta artificial. I. Título.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por me ajudarem em todos os momentos que precisei, me dando força, coragem pra seguir em frente, por causa Deles, eu tenho a certeza de que nunca estarei sozinha, Eles sempre vão me acompanhar por todos os meus caminhos.

Agradeço também aos meus pais: Augustinho dos Santos e Maria de Lourdes Veck dos Santos e irmãos: Rafael, Juliana e Denise, por todo o apoio moral, amoroso e financeiro durante a minha formação acadêmica e em todas as minhas decisões. Eles sempre me entenderam, fizeram o possível e o impossível para me ajudar, abrindo mão de alguns momentos, de algumas prioridades para nos deixar um dos mais valiosos presentes: a educação. Meus pais sempre se esforçaram muito para que eu e meus irmãos tivéssemos uma ótima criação, e tenho certeza de que eles conseguiram atingir o objetivo. Tudo o que tenho eu devo a vocês!! Vocês são exemplos de conduta, honestidade, responsabilidade, respeito, caridade e muitas outras qualidades. Ademais, minha querida mãe me ajudou nos experimentos de madrugada, os quais foram uma aventura! E sem ela, não teria sido a mesma coisa.

Não sei o que seria do meu trabalho, se não fosse a orientação de meu orientador Cláudio J. Von Zuben, um ser humano muito profissional, gentil, inteligente, humilde, sábio, o qual abriu as portas pra mim, sempre me dando conselhos e fazendo de tudo pra me ajudar. Obrigada de coração.

Agradeço, e muito, a ajuda de Richard E. Moretto, o qual sempre foi muito companheiro, competente e prestativo, me explicando como fazer os experimentos, me passando artigos, me ajudando nas coletas das varejeiras, me guiando em inscrições de cursos, me ajudando na elaboração do meu trabalho de conclusão de curso, te agradeço imensamente, Frodo! Também sou grata aos colegas do Laboratório de Entomologia do Jacarezário, os quais foram muito prestativos, me dando conselhos, ovos das moscas varejeiras de estudo, estando sempre disponíveis para qualquer ajuda, muito obrigada.

Por fim, e não menos importante, agradeço ao Eduardo Yuichi Yoshioka, por ter sido meu companheiro, namorado, amigo fiel na maioria do tempo da minha graduação, por me aguentar em momentos difíceis e por ficar feliz comigo nos momentos de realizações, sempre me dando muita atenção, força, carinho, amor, conselhos. Você sempre será especial para mim, Du.

## Resumo

A Entomologia Forense é a ciência que aplica o estudo dos insetos, dentre outros artrópodes, a procedimentos legais, estando subdividida em três sub-áreas principais: Entomologia Urbana, Entomologia de Produtos Estocados e Entomologia Médico-Legal ou Médico-Criminal. A fauna entomológica cadavérica no Brasil apresenta uma ampla diversidade de espécies que se sucedem na carcaça, pois o processo de decomposição oferece condições ideais principalmente ao desenvolvimento dos dípteros, dentre outros insetos. A sucessão ecológica em carcaças ocorre em ondas de colonização, também denominada de sucessão ecológica de colonização de carcaças. A primeira onda, que é a mais importante para o presente estudo, inclui principalmente as moscas-varejeiras; dentre elas, merece destaque a espécie *Chrysomya megacephala* (Fabricius), um díptero da família Calliphoridae, que utiliza a carcaça para oviposição ou para alimentação dos adultos. Dos ovos eclodem as larvas, que se alimentam dos tecidos em decomposição, se desenvolvem e empupam no solo, nos arredores do cadáver, sendo assim possível estimar, a partir de evidências entomológicas, o tempo decorrido desde a morte até a descoberta de cadáveres humanos, ou seja, o intervalo pós-morte ou IPM, além de permitir obter informações do local onde possivelmente o crime tenha ocorrido, causa da morte, entre outros aspectos. Alguns trabalhos têm demonstrado que vários fatores podem afetar a determinação do IPM, tornando a investigação criminal mais difícil e, quando não forem levados em consideração, conduzem a erros no cálculo do IPM. Dispersão larval pós-alimentar, competição, predação, parasitismo, condições ambientais, e a presença de toxinas/drogas no corpo devem ser analisados em conjunto, de modo que erros na estimativa do IPM sejam minimizados tanto quanto possível. Deste modo, testes preliminares utilizando dietas artificiais em laboratório são necessários para a criação de um banco de dados padrão para investigar e quantificar as possíveis alterações no desenvolvimento de insetos coletados da cena criminal, reduzindo as chances de dados errôneos por desconhecimento de seus efeitos na taxa de crescimento dos insetos, o que poderia produzir um IPM incorreto. O presente trabalho objetivou conhecer os efeitos da droga anticoncepcional Ciclo 21, um medicamento utilizado por mulheres para evitar a gravidez, o qual vem sendo muito utilizado nos dias de hoje, sobre o tempo de desenvolvimento larval de *C. megacephala*, frente a diferentes dosagens utilizadas (0,003 g, 0,03 g e 3,0 g). Foram utilizadas no total 1000 larvas, com densidades de 250 larvas em cada pote das diferentes dosagens (controle,

0,003 g, 0,03 g e 3,0 g), e estas foram pesadas em balança analítica a cada 8 horas, sendo selecionadas aleatoriamente 20 larvas de cada tratamento para cada uma das pesagens. No que se refere à média de massas, esta foi menor durante todo o desenvolvimento para a dosagem de 3,0 gramas. Diferenças significativas foram observadas entre o tratamento de 3,0 g e os outros tratamentos, uma vez que as dosagens iniciais causaram uma leve aceleração no processo de crescimento, pelo menos nas horas iniciais, encurtando o tempo de empupação, enquanto que a dosagem mais alta retardou tal crescimento. Após a emergência dos adultos, também foram obtidos dados envolvendo a razão sexual e a taxa de sobrevivência de machos, fêmeas e total para cada um dos diferentes tratamentos, além da medição das asas de 30 indivíduos de cada tratamento.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....               | 6  |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....                | 14 |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....      | 15 |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....   | 19 |
| <b>5 CONCLUSÕES</b> .....               | 29 |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> ..... | 30 |

## 1 Introdução

A Entomologia Forense é a ciência que aplica o estudo dos insetos, dentre outros artrópodes, a procedimentos legais. As informações sobre a biologia, ecologia e distribuição espacial/temporal dos insetos já contribuíram para a solução de inúmeros crimes, indicando a identidade do morto, causa da morte, o lugar onde ocorreu, o assassino e, principalmente, o intervalo de tempo entre a morte e a data em que o cadáver foi encontrado (OLIVEIRA – COSTA, 2003).

Os insetos podem ser usados como evidência na solução de crimes e em alguns casos podem estar no centro de disputas judiciais, ao causarem danos a produtos armazenados ou estruturas (KEH, 1985). Outras aplicações da Entomologia Forense incluem: a determinação de indícios de movimentação de cadáver; a relação entre o suspeito e a cena do crime (PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008); a identificação de autoria do crime por meio do DNA obtido do sangue ingerido por insetos hematófagos capturados na cena do crime (REPOGLE et al. 1994; MUMCUOGLU et al. 2004); a detecção de drogas, venenos, medicamentos e metais pesados em imaturos, adultos, pupários, exúvias e fezes de insetos (AMENDT; KRETTEK; ZEHNER, 2004); a confirmação de hipótese de abandono de menores e maus tratos a idosos (BENECKE & LESSIG, 2001; BENECKE et al. 2004); a determinação das circunstâncias de abusos e estupros (GOMES, 2010) e a localização de região produtora de drogas com consequente identificação da rede de distribuição (CROSBY et al. 1986).

A primeira aplicação da entomologia forense está descrita em um Manual Legal Chinês do Século XIII. Foi um caso de homicídio em que um lavrador apareceu degolado por uma foice. Para resolver o caso, todos os lavradores da região foram obrigados a depositar suas foices no solo, ao ar livre. As moscas pousaram em apenas uma delas, atraídas pelos restos de sangue que ainda estavam aderidos à lâmina. A conclusão foi de que aquela era a foice do assassino (BENECKE & LESSIG, 2001).

Em 1855, o médico francês Bergeret estimou o IPM usando insetos pela primeira vez para solucionar um caso sobre a autoria da morte de um recém-nascido (BENECKE, 2001), e em 1894, foi publicado o primeiro livro na área, “*La faune dès*

*cadavres: application de l'entomologie a La medecine legale*”, escrito por Mégnin (CATTS & GOFF, 1992; PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008).

Edgard Roquette Pinto e Oscar Freire, respectivamente nos Estados do Rio de Janeiro e da Bahia, iniciaram a Entomologia Forense no Brasil em 1908 (PUJOL-LUZ et al. 2008). Até hoje, muitos trabalhos acadêmicos nessa área vêm sendo realizados e aplicados em grande escala, em conjunto com a polícia.

Segundo Lord & Stevenson (1986), a Entomologia Forense foi classificada em três subáreas: - (1) Urbana: relativa às ações cíveis envolvendo a presença de insetos em bens culturais, imóveis ou estruturas. Um caso típico seria o do comprador de um imóvel que, pouco tempo depois da compra, descobre que ele se encontra infestado por cupins e responsabiliza o vendedor pelo seu prejuízo. A questão a ser respondida pela Entomologia Forense é o tempo de infestação e se ocorreu antes ou depois da compra; - (2) Produtos armazenados: diz respeito à contaminação, em pequena ou grande extensão, de produtos comerciais estocados. O comprador do lote de alimento infestado por insetos pragas pode exigir do vendedor uma compensação pelo prejuízo. O desafio para a Entomologia Forense seria determinar quando ocorreu a infestação; - (3) Médico-legal: refere-se a casos de morte violenta (crime contra a pessoa, acidentes de massa, genocídios, etc.). A principal contribuição da Entomologia Forense, nesses casos, é a estimativa do intervalo pós-morte. A estimativa do momento em que ocorreu a morte se deve à quantidade de insetos necrófagos no corpo ou próximo dele, e do quão desenvolvidos estão os insetos (ovos, larvas, pupas e os adultos). Desse modo, conhecendo a biologia do inseto e a duração do seu ciclo de vida, se consegue chegar a uma conclusão aproximada acerca de quanto tempo o corpo se encontra no local. Deve-se levar em conta também os fatores abióticos, como a temperatura do cadáver, a temperatura do ambiente, da massa de larvas, a umidade, dentre outros.

A ordem Diptera compreende aproximadamente 150.000 espécies descritas em 158 famílias (THOMPSON, 2006), sendo uma das ordens mais abundantes da Classe Insecta ou Hexapoda. Os dípteros despertam grande interesse nos estudos científicos devido ao grande número de espécies descritas, grande distribuição geográfica de algumas espécies, fácil manutenção sob condições experimentais, rápida produção de grande número de descendentes, importância agrícola por causarem danos econômicos à fruticultura, e interesse como vetores de doenças, tendo, desta forma, importância

médico/veterinária de modo geral (PESSOA & MARTINS, 1988; MARCONDES, 2001; STONEHOUSE et al. 2004). Adicionalmente, algumas espécies de interesse forense alimentam-se de restos de animais mortos, atuando assim na decomposição e ciclagem da matéria orgânica (GOMES, 2010).

Após alguns anos de avanços nas ciências forenses, os pesquisadores da área e investigadores reconheceram a importância dos insetos necrófagos, e a entomologia forense ganhou maior importância e atualmente representa uma área em expansão, entretanto, marcada pela carência de profissionais qualificados. É interessante notar que há mais de 700 anos já se sabia do potencial dos insetos em investigações criminais, mas somente nas últimas décadas a ciência forense consolidou-se como um campo de estudo em medicina criminal e legal (GOMES, 2010).

A fauna entomológica cadavérica no Brasil apresenta uma ampla diversidade de espécies que se sucedem na carcaça, pois o processo de decomposição oferece condições ideais ao desenvolvimento dos dípteros, principalmente (HOBSON, 1932; KEH, 1985). Essa sucessão ecológica em carcaças ocorre em ondas de colonização, ou seja, no processo de decomposição das carcaças ocorre uma sucessão sequencial de diferentes espécies necrófagas. Tal sucessão ecológica depende do estágio de decomposição da carcaça, tamanho do corpo, condições climáticas, sazonalidade e condições abióticas, como o tipo de solo (GOMES, 2010).

Os primeiros insetos a localizarem e colonizarem o cadáver em decomposição são principalmente as moscas-varejeiras, dentre elas, merece destaque a espécie *Chrysomya megacephala* (Fabricius), um díptero da família Calliphoridae. Quando uma fonte alimentar apropriada é localizada, se as moscas adultas tiverem acesso adequado, elas logo começam a ovipor ou a se alimentar da fonte proteica para mais tarde ovipor. Em cadáveres sem feridas, os sítios preferenciais de oviposição serão, geralmente, os orifícios naturais do corpo (olhos, orelhas, nariz, boca e, quando expostos, ânus e genitálias). Os ferimentos ou sangue poderão fornecer sítios preferenciais de oviposição, embora essa atração seja variável conforme as espécies de moscas envolvidas e o grau de ferimento (GOFF & LORD, 1994). Por outro lado, se o corpo for oculto ou submerso, o processo de colonização pode ser dificultado (CATTS & GOFF, 1992), já que a detecção dos odores da decomposição é dificultada e as moscas, exceto algumas

espécies de Phoridae, não são capazes de se estabelecerem no corpo enterrado em uma profundidade superior a 30 cm (CAMPOBASSO, VELLA, INTRONA, 2001).

Muitas espécies de moscas-varejeiras depositam seus ovos ou larvas em substratos discretos, constituindo unidades separadas e pequenas, tais como fezes, carcaças, frutos, fungos e vegetais em decomposição (DE JONG, 1979; ATKINSON & SHORROCKS, 1981, 1984; HANSKI, 1987), entre as quais se incluem espécies do gênero *Chrysomya* (Robineau-Desvoidy) como *C. megacephala*, que procria principalmente em carcaças e fezes (GUIMARÃES; PRADO; LINHARES, 1978; BAUMGARTNER & GREENBERG, 1984; GUIMARÃES, 1984). Estes substratos são considerados discretos por constituírem unidades separadas no espaço, e são caracterizados como efêmeros em virtude das mudanças sucessivas e rápidas que neles ocorrem (ATKINSON & SHORROCKS, 1981; SHORROCKS, 1991), havendo na maioria dos casos, tempo suficiente para apenas uma geração de cada espécie de inseto procriar antes da completa exaustão dos recursos (ATKINSON & SHORROCKS, 1981; IVES, 1988).

Até pouco antes de 1980, o gênero *Chrysomya* estava restrito aos trópicos do Velho Mundo onde são as moscas-varejeiras mais abundantes e economicamente importantes. Em 1975, grande número de exemplares de *Chrysomya putoria* (Wiedemann) foi encontrado em Curitiba, sul do Brasil a cerca de 110 km da costa (IMBIRIBA et al. 1977). Um pouco mais tarde, Guimarães e colaboradores (1978) reportaram *C. putoria* (Wiedemann), *C. albiceps* (Wiedemann) e *C. megacephala* (Fabricius) em Campinas e Santos, no estado de São Paulo. Essas três espécies foram provavelmente introduzidas no Brasil através de navios, por volta de 1975 com o influxo de portugueses refugiados da África e se espalharam rapidamente por aqui (GUIMARÃES; PRADO; LINHARES, 1978; GUIMARÃES; PRADO; BURALLI, 1979; LAURENCE, 1981).

Dípteros do gênero *Chrysomya* apresentam coloração metálica, típica dos califorídeos, verde até negro-azulado, além de apresentarem faixas ou bandas transversais opacas e enegrecidas no ápice dos segmentos abdominais (TRIPLEHORN & JOHNSON, 2010; CARVALHO & MELLO-PATIU, 2008). Além disso, *C. megacephala* é distinguível das outras espécies do gênero principalmente pela coloração do espiráculo anterior, que é acastanhada, antenas e *genae* marron-avermelhadas, tamanho grande da cabeça em relação ao tamanho do corpo, e extremidade inferior dos

olhos dos machos com uma área de facetas menores que a da extremidade inferior dos mesmos (na forma sinantrópica da espécie, que apresenta ampla distribuição geográfica) (GUIMARÃES; PRADO; LINHARES, 1978).

*Chrysomya megacephala* é conhecida como mosca-de-latrina na região Oriental, pelo seu hábito de frequentar latrinas, banheiros públicos e procriar extensamente em fezes humanas (NORRIS, 1965; GUIMARÃES, 1984). A capacidade de localização do alimento nessas moscas deve-se a órgãos sensitivos altamente adaptados para a detecção de odores (REED-JR, 1958; BRAACK, 1987).

As moscas *C. megacephala*, dentre outras do gênero, são uma espécie de “relógio biológico” indireto, tendo fundamental importância no ramo da entomologia forense por indicarem o tempo de decomposição de cadáveres, comumente referido como Intervalo *Post Morte*, o IPM (WELLS & GREENBERG 1992; VON ZUBEN et al. 1996; GOMES; VON ZUBEN; SANCHES, 2003). A determinação do IPM requer conhecimento sobre os hábitos e biologia das espécies necrófagas (VON ZUBEN, 2001; OLIVEIRA-COSTA, 2003). Os vestígios entomológicos podem ser coletados por peritos bem treinados, porém é imprescindível que a identificação dos insetos seja acurada, o que dependerá de um entomologista experiente (CATTS & HASKELL, 1991).

Catts & Haskell (1991) discriminaram duas maneiras de determinação do IPM utilizando dados entomológicos: uma dada pela oviposição de dípteros no substrato, poucas horas depois do início do processo de putrefação, ao determinar a idade da prole coletada no local, com o espécime mais velho correspondendo ao menor intervalo de tempo entre a colonização e a descoberta do corpo; e outra com a previsível sequência na sucessão da fauna de artrópodes colonizando o cadáver, indo desde insetos da ordem Diptera até besouros, aracnídeos e/ou outros artrópodes.

Vários fatores podem afetar a determinação do IPM, tornando a investigação criminal mais difícil e, quando não forem levados em consideração, conduzem a erros no cálculo do IPM. Dispersão larval pós-alimentar, competição, predação, parasitismo, condições ambientais, e a presença de toxinas/drogas no corpo devem ser analisados em conjunto, de modo que erros na estimativa do IPM sejam minimizados tanto quanto possível (AMENDT; KRETTEK; ZEHNER, 2004).

Nos últimos tempos, o uso de diversas substâncias (lícitas ou não) vem aumentando muito por parte de homens e mulheres, e por consequência, sua presença em cadáveres também. Desta maneira tem havido uma tendência no estudo dos efeitos que drogas e toxinas exercem no desenvolvimento larval (Entomotoxicologia), pois a aceleração ou retardo nesta taxa podem interferir na estimativa do intervalo pós-morte (IPM) quando baseada na biologia desses insetos (GOFF; BROWN; OMORI, 1992; CARVALHO; LINHARES; TRIGO, 2001; GRELLA & THYSSEN, 2008).

Entomotoxicologia trata da análise de insetos para determinar se uma pessoa consumiu drogas ou foi envenenada, a partir da coleta de insetos que se alimentaram do cadáver, principalmente larvas de moscas (GOMES, 2008). Isto é especialmente útil quando não há mais vestígios de sangue, urina ou em casos nos quais tecidos e órgãos internos estão em estado avançado de putrefação, servindo os insetos como fonte alternativa segura para tais análises (INTRONA, CAMPOBASSO, GOFF, 2001; PIEN et al. 2004).

Essa área de pesquisa surgiu na década de 1970, quando Sohal e Lamb conduziram suas pesquisas demonstrando o acúmulo de ferro e zinco em adultos de *Musca domestica* (Linnaeus) (Diptera: Muscidae) e, mais tarde, a presença de mercúrio em larvas, pupários e adultos de califorídeos que se alimentaram de peixe contaminado (NUORTEVA, NUORTEVA, 1982; INTRONA, CAMPOBASSO, GOFF, 2001). Em 1980, a determinação qualitativa de drogas em insetos e cadáveres começou a ser investigada. Nos anos 90, alguns estudos revelaram traços de drogas em larvas de moscas-varejeiras que se alimentavam de corpos em decomposição. Coletadas e levadas ao laboratório, as larvas revelaram a presença de cocaína e morfina em seus tecidos, uma prova de que as pessoas haviam consumido essas drogas (GOMES, 2008).

Além de serem facilmente coletadas e criadas, as larvas das moscas-varejeiras contêm menos contaminantes do que os tecidos de cadáveres comumente utilizados para análises toxicológicas (KINTZ; TRACQUI; MANGIN, 1990). Varejeiras são facilmente criadas em laboratório, confinadas em gaiolas especiais teladas, e mantidas com água e açúcar. Para o desenvolvimento das larvas, pode-se utilizar carne bovina em decomposição ou dietas especiais (VON ZUBEN, 2003).

Estudos sobre a influência das drogas no desenvolvimento dos insetos podem ser feitos através de dietas artificiais, acrescentando concentrações conhecidas de droga ou toxina ou, ainda, serem administradas oralmente ou por infusão num modelo animal vivo, sendo os tecidos de tal vertebrado utilizados posteriormente como fonte de alimento para as larvas de insetos, permitindo que tais drogas ou toxinas sejam metabolizadas pelo vertebrado antes de sua ingestão pelo inseto (GOFF & LORD, 2001). Deve-se levar em conta que a não detecção de uma substância em larvas que se alimentam da carcaça não implica, necessariamente, na ausência da mesma na fonte alimentar (CAMPOBASSO et al. 2004).

No Brasil muitas pesquisas têm sido realizadas com diferentes tipos de drogas, tentando elucidar as relações entre estas e o ciclo de vida das diferentes espécies de dípteros de interesse forense (FERRARI et al. 2008). Entre essas substâncias podemos citar o fenobarbital, benzodiazepínicos, anfetamínicos, escopolamina, esteróides anabólico-androgênicos, cocaína e maconha (CARVALHO, LINHARES, TRIGO, 2001; GRELLA, ESTRADA, THYSSEN, 2007; FERRARI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SOUZA, THYSSEN, LINHARES, 2011). Outro fator que também vem sendo estudado ultimamente é quais os efeitos destas drogas para diferentes dosagens das mesmas na dieta, fazendo referências às possíveis dosagens toxicológicas nos corpos humanos, pela análise do desenvolvimento larval destes dípteros (SADLER et al. 1995; CARVALHO; LINHARES; TRIGO, 2001; HÉDOIN et al. 2001).

Um exemplo de substância que vem sendo muito utilizada nas últimas décadas é o anticoncepcional. Em maio de 2012, a pílula completou 50 anos, e este medicamento é um dos métodos contraceptivos mais procurados em quase todo o mundo nos dias de hoje, de acordo com o Ministério da Saúde. A pílula é feita à base de estrogênio e progesterona (hormônios que impedem a ovulação), e é usada por muitas mulheres para adiar os planos da maternidade.

Um modelo experimental com moscas da espécie *C. megacephala* foi desenvolvido na Tailândia por um grupo de pesquisadores para testar os efeitos do anticoncepcional humano (Microgest®, Tailândia), dose baixa: 0,036 mg / mL e alta: 0,072 mg / mL, na reprodução e prole das varejeiras. Os resultados obtidos provaram que ocorrem alterações celulares, uma diminuição na produção de ovariólos e menor número de ovariólos completamente maduros nas gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>, quando os machos e as

fêmeas são alimentados com a dose alta do medicamento. Tal informação fornece conhecimento científico que pode ser aplicado em estratégia de controle da mosca no futuro (CHAIWONG et al. 2011).

Por outro lado, este medicamento ainda não foi testado para análise do desenvolvimento das moscas e possível implicação na estimativa do IPM. Em virtude disso, este trabalho estudou os efeitos de um anticoncepcional humano no desenvolvimento larval de *C. megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) para fins forenses, reduzindo as chances de dados errôneos por desconhecimento de seus efeitos na taxa de crescimento dos insetos, o que poderia produzir uma estimativa de IPM incorreta.

## 2 Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi procurar contribuir para um melhor conhecimento dos efeitos de hormônios (progesterona e estrogênio) no desenvolvimento larval de moscas-varejeiras, mais especificamente analisar a ocorrência de mudanças neste desenvolvimento em larvas de *C. megacephala*, para diferentes concentrações do anticoncepcional utilizado em humanos, quando adicionado a um substrato de criação, compilando o maior número de informações a fim de complementar os bancos de dados relacionados à Entomologia Forense, voltada à área de Entomotoxicologia, para que os profissionais da área possam utilizar a Entomologia como técnica confiável e precisa em suas investigações, permitindo assim uma estimativa do IPM mais acurada.

A motivação e a justificativa para este tipo de escolha são as seguintes:

- Os dípteros que foram utilizados neste trabalho (*C. megacephala*) têm importância na entomologia forense devido a seu hábito necrófago e grande presença em corpos de animais e pessoas em decomposição aqui no Brasil, sendo esta espécie considerada praga do ponto vista médico/sanitário/veterinário; desta forma são necessários trabalhos que procurem compreender melhor sua biologia e auxiliar no seu controle;
- Uma vez que drogas podem atuar no desenvolvimento larval, seja acelerando ou retardando o processo, isto pode interferir nas estimativas do Intervalo Pós-Morte (IPM) a partir de dados entomológicos coletados;
- Pelo crescente uso humano da pílula anticoncepcional, utilizada para evitar a gravidez indesejada.

### 3 Materiais e Métodos

Inicialmente, espécimes adultos de ambos os sexos de *C. megacephala* (Figura 1) foram coletados com o auxílio de uma rede entomológica, mais conhecida como puçá, utilizando-se carne bovina moída em início de putrefação, exposta ao ar livre, como isca para atração das moscas-varejeiras, dentro do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Rio Claro, São Paulo, Brasil.

**Figura 1.** Foto da espécie estudada: *Chrysomya megacephala*. Indivíduo do sexo masculino. (Fotografia de Guilherme Gomes)



As moscas capturadas foram transferidas para gaiolas teladas (Figura 2) e mantidas em sala com temperatura controlada ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. Foram fornecidos água e açúcar refinado *ad libitum* aos insetos, os quais foram considerados como geração parental do presente estudo. Além de açúcar e água, fígado bovino picado também foi oferecido, sendo este destinado ao fornecimento proteico necessário para o desenvolvimento ovariano das fêmeas adultas (LINHARES, 1988).

**Figura 2.** Detalhe de uma gaiola telada, onde foram mantidos os indivíduos adultos na sala climatizada. (Fotografia de Richard Edgar Moretto)



Após o desenvolvimento ovariano completo das fêmeas, para estimular a oviposição, carne bovina moída crua foi colocada na gaiola por algumas horas, a qual foi utilizada como substrato para a postura de ovos das fêmeas grávidas; estes ovos foram utilizados para a produção da geração F<sub>1</sub>. Posteriormente, todo este processo foi repetido até a obtenção de ovos de geração F<sub>2</sub>. Somente a geração F<sub>2</sub> foi utilizada nos experimentos, por ser progênie de uma que teve todo o seu desenvolvimento sob condições experimentais.

Os ovos da geração F<sub>2</sub> foram retirados da carne moída com pincel e pinça de ponta fina, colocados em placas de Petri com papel filtro úmido e mantidos em câmaras climáticas, sob temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, até o momento da eclosão das larvas. Assim, as larvas foram contadas e colocadas em dietas artificiais (preparadas segundo Leal et al. 1982), contendo diferentes dosagens para a droga utilizada no presente estudo.

A substância utilizada foi o anticoncepcional Ciclo 21<sup>®</sup> (cada comprimido com etinilestradiol (hormônio estrogênio) 0,03 mg + levonorgestrel (um tipo de progesterona sintética) 0,15 mg - Laboratório União Química Farmacêutica Nacional S/A).

Para a realização do experimento, foram utilizadas 1.000 larvas, no total, sendo 250 delas para cada pote de tratamento. Todos os potes receberam a mesma quantidade de dieta (125g) (Figura 3). O pote controle [C] possuiu apenas a dieta, enquanto os outros potes contiveram dosagens diferentes da substância testada dissolvidas na dieta para observação dos efeitos no desenvolvimento das larvas frente a diferentes tratamentos (controle [C]; 0,003 g [D1]; 0,03 g [D2] e 3,0 g [D3]). Depois de preparados os potes com as larvas, estes foram colocados em uma B.O.D., com temperatura controlada de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e em intervalos de 8 horas, 20 larvas de cada pote foram coletadas aleatoriamente e em seguida pesadas individualmente em balança analítica.

**Figura 3.** Potes de dieta contendo os diferentes tratamentos propostos. (Fotografia de Richard Edgar Moretto)



Após a pesagem, as mesmas foram devolvidas aos seus respectivos potes de tratamento para que se mantivesse um número constante na densidade populacional do pote, evitando qualquer alteração no desenvolvimento das mesmas (VON ZUBEN, 1995; IRELAND & TURNER, 2006).

Para as pesagens, foi utilizada balança analítica Ohaus do laboratório de Entomologia Forense do Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Rio Claro.

Após o término de todas as pesagens e atingido o tempo de pupação (momento em que as larvas começam a ficar mais escuras e a apresentar comportamento de se locomoverem intensamente pelo pote, em busca de um local adequado para empupação (GOMES; VON ZUBEN; SANCHES, 2003), cada pote com as larvas foi colocado dentro de outros potes maiores contendo serragem e fechado com organza, para que as larvas empupassem. Após os potes serem vedados com tecido elástico telado, foram mantidos em BOD a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  até a emergência dos adultos (Figura 4). Após este momento, também foram coletados dados acerca da taxa de sobrevivência, razão sexual de machos e fêmeas emergidos, além da medição das asas de 30 indivíduos de cada tratamento (sendo 15 machos e 15 fêmeas, coletados aleatoriamente). Para tanto, os indivíduos foram mortos em baixas temperaturas.

**Figura 4.** Na BOD, potes maiores contendo serragem e no seu interior, os potes menores com as larvas prestes a empuparem.

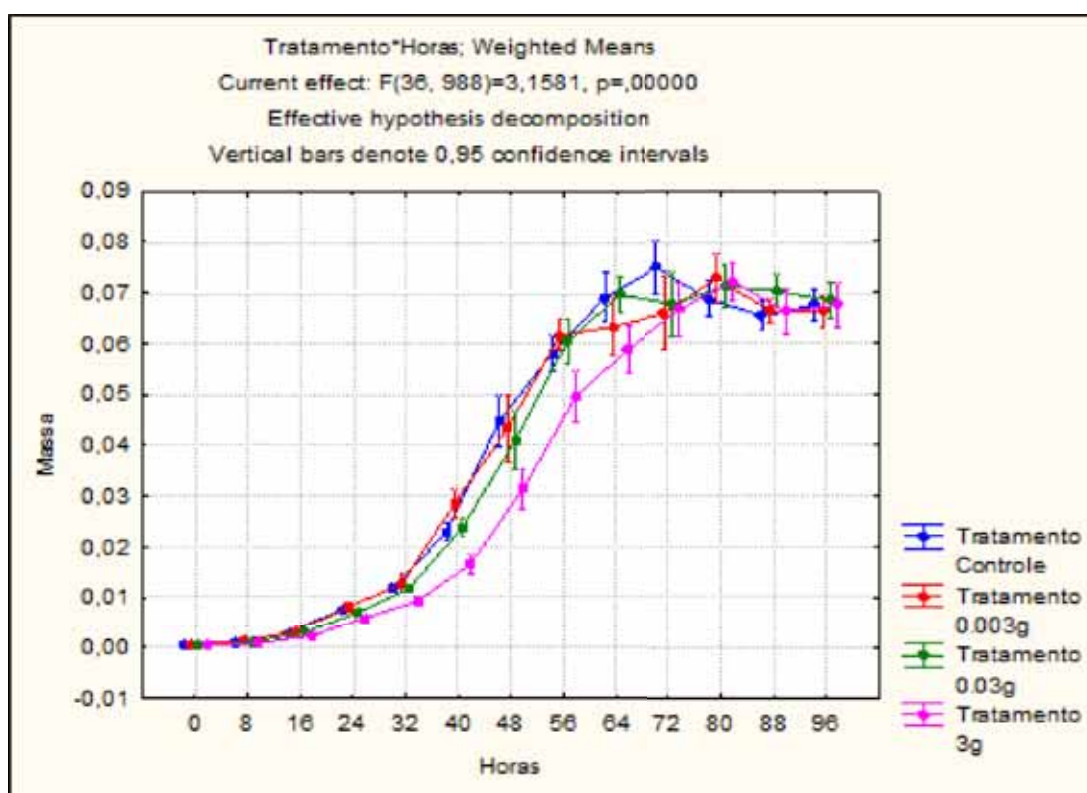


Com o objetivo de se comparar os dados entre todos os tratamentos, as análises dos dados obtidos foram realizadas através de modelos estatísticos (*SAS<sup>®</sup> procglm, oneway* para análise de variância e *STATISTICA<sup>®</sup>* para o teste de ANOVA). Os resultados foram apresentados sob a forma de gráficos e tabelas de desenvolvimento larval para cada um dos tratamentos.

#### 4 Resultados e Discussão

Observando os dados referentes a cada dosagem do remédio, chegou-se à conclusão de que o anticoncepcional Ciclo 21 no substrato alimentar (dieta artificial) causou mudanças no tempo de desenvolvimento larval de *C. megacephala* nas diferentes dosagens e na comparação destas com o controle. Quanto maior a dose de anticoncepcional Ciclo 21 nas dietas, maior o retardo no tempo de desenvolvimento das larvas de *C. megacephala*, e consequentemente maior é o retardo no período de empupação. Enquanto isso, tratamentos com dosagens menores aceleram o desenvolvimento. Este fato fica muito evidente no período que se estende de 32 horas até 64 horas, como pode ser visto na Figura 5.

**Figura 5.** Padrão de desenvolvimento larval de *C. megacephala* frente a diferentes tratamentos.



A Figura 5 mostra o que realmente ocorreu durante as 96 horas de experimento, para todos os tratamentos propostos (controle, 0,003g; 0,03g e 3,0g). É claramente observável que a curva do tratamento de maior dosagem (em rosa) apresenta um atraso visível com relação aos demais, sobressaltado principalmente até 72 horas, ponto este

em que marca o início do momento de empupação, começando os valores de massa a ficarem próximos daqueles dos demais tratamentos.

A análise do desenvolvimento larval de *C. megacephala* mostrou diferenças estatísticas significativas ( $F = 3,988$ ;  $p < 0,0005$ ) entre os diferentes tratamentos e o controle, comprovando que o anticoncepcional humano Ciclo 21<sup>®</sup> causa algum tipo de efeito sobre o desenvolvimento das larvas.

A literatura vinculada à Entomotoxicologia referente a trabalhos que enfocam o estudo de esteroides é restrita (FORNARI, A.R.S.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X., 2010). Foram avaliados até hoje quatro fármacos pertencentes a esta classe: a hidrocortisona (MUSVASVA et al., 2001), a testosterona de uso veterinário (FERRARI et al., 2008), além da testosterona de uso humano (FORNARI, A.R.S.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X., 2010) e da progesterona (DA SILVA, VILLET, 2006).

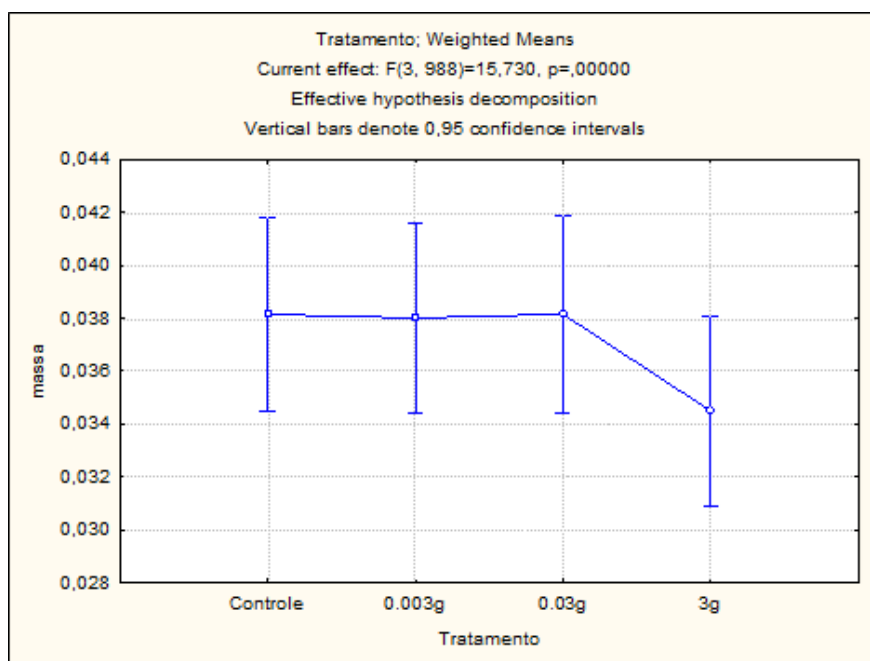
Para a hidrocortisona, um esteróide utilizado comumente no tratamento de quadros inflamatórios, apesar de ter sido observado que o tempo de desenvolvimento larval foi acelerado e o tempo de pupariação foi atrasado, não foi encontrada relação entre a concentração dessa droga e o tempo de desenvolvimento de imaturos de *Sarcophaga (Curranee) tibialis* (Macquart) (Diptera: Sarcophagidae) (MUSVASVA et al., 2001).

Ferrari e colaboradores (2008) não encontraram diferença no tempo de desenvolvimento dos imaturos de *C. albiceps* expostos à testosterona de uso veterinário (Androgenol®, Hertape, Brasil), considerando a variação de concentração e o grupo mantido sem a presença deste composto. Os resultados apresentados por *C. albiceps* e *C. putoria* para a ação da testosterona de uso humano, indicaram a ausência de interferência da droga no desenvolvimento das espécies avaliadas (FORNARI, A.R.S.; THYSSEN, P.J.; LINHARES, A.X., 2010).

Já no caso da progesterona, hormônio encontrado no anticoncepcional humano utilizado no presente estudo, Da Silva e Villet (2006) verificaram em suas pesquisas, não haver interferência de diferentes concentrações da mesma no desenvolvimento da espécie *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann), indicando que a presença do hormônio progesterônico em um cadáver não irá afetar a estimativa do IPM. Porém, no presente estudo, o resultado não foi o mesmo encontrado para *C. megacephala*.

Comparando-se cada um dos tratamentos, os testes estatísticos mostram que não há diferença significativa entre os tratamentos controle, 0,003 g e 0,03 g, mas sim quando esses são comparados com a dosagem máxima de 3,0 g, uma vez que as dosagens iniciais causam uma leve aceleração no desenvolvimento, pelo menos nas horas iniciais do mesmo e no tempo de empupação, enquanto que a dosagem alta retarda o crescimento e amplia o tempo necessário para empupação (Figura 6). As linhas verticais indicam as médias de massas do total de 20 indivíduos, com o desvio padrão máximo e mínimo para as massas durante as 96 horas, não levando em consideração cada um dos intervalos de tempo medidos individualmente.

**Figura 6.** Comparação massa x tratamento e suas diferenças significativas



Visando maximizar a discussão acerca da comparação massa x tratamento, a tabela a seguir (Tabela 1) mostra onde realmente ocorreram as diferenças significativas para os tratamentos. Os valores destacados em vermelho na tabela mostram que os resultados são significativamente diferentes na comparação de tais tratamentos, enquanto que os demais (pretos) não apresentam diferenças significativas em sua comparação.

**Tabela 1.** Comparação dos tratamentos mostrando que a dose mais alta (3,0 g) é significativamente diferente de todas as outras doses menores e do controle.

| Tratamentos | Controle | 0.003g   | 0.03g    | 3.0g     |
|-------------|----------|----------|----------|----------|
| Controle    |          | 1,000000 | 1,000000 | 0,000000 |
| 0.003g      | 1,000000 |          | 1,000000 | 0,000000 |
| 0.03g       | 1,000000 | 1,000000 |          | 0,000000 |
| 3.0g        | 0,000000 | 0,000000 | 0,000000 |          |

Atualmente, aproximadamente 100 milhões de mulheres utilizam a pílula anticoncepcional no mundo, segundo dados informados pelo Instituto Guttmacher, organização de saúde sexual dos Estados Unidos e, no Brasil, 10,4 milhões de mulheres usam a pílula, segundo dados de 2006, da Pesquisa por Amostragem de Domicílios (Pnad), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Devido a essa crescente busca pelo medicamento, este trabalho teve o interesse de analisar seus efeitos nas larvas de *C. megacephala*, para inferir com uma maior precisão o Intervalo *Post-Morte*, em situações em que o medicamento pode ter sido consumido antes da morte da pessoa. Um exemplo de uma situação em que pode ocorrer o uso abusivo do medicamento é o de uma criança ingerir muitos comprimidos, os quais lembram balas de açúcar, sem a supervisão de um adulto. Mas por outro lado, a maior dose (3,0 g) extrapolou os valores que normalmente poderiam ser esperados em uma “overdose de anticoncepcional”. Diante disso, os resultados obtidos no presente estudo comprovam que há diferença significativa de todos os tratamentos e controle em relação à dose de 3,0 gramas, o que tem implicações em Entomotoxicologia.

Comparando-se a média das massas durante o desenvolvimento, verificou-se que durante todo o tempo, a média de massa para a dosagem de 3,0 gramas foi menor, quando comparada com as outras dosagens e o frasco controle. As médias das massas estão apresentadas na Tabela 2 a seguir:

**Tabela 2.** Média das massas individuais (mg) de 20 indivíduos pesados por intervalo de tempo utilizado (8 horas), para todos os tratamentos propostos.

| Horas | Tratamentos |        |        |        |
|-------|-------------|--------|--------|--------|
|       | Controle    | 0.003g | 0.03g  | 3g     |
| 0     | 0,655       | 0,54   | 0,485  | 0,375  |
| 8     | 1,105       | 1,295  | 1,09   | 0,9    |
| 16    | 2,925       | 3,335  | 2,975  | 2,41   |
| 24    | 7,675       | 8,235  | 6,99   | 5,97   |
| 32    | 12,035      | 12,795 | 11,955 | 9,375  |
| 40    | 23,075      | 28,485 | 23,86  | 16,71  |
| 48    | 44,855      | 43,345 | 40,985 | 31,49  |
| 56    | 58,06       | 61,625 | 60,62  | 49,71  |
| 64    | 69,115      | 63,425 | 69,675 | 58,99  |
| 72    | 74,94       | 65,79  | 67,635 | 66,61  |
| 80    | 68,625      | 72,7   | 71,125 | 72,23  |
| 88    | 65,34       | 66,41  | 70,3   | 66,17  |
| 96    | 67,475      | 66,145 | 68,345 | 67,505 |

Analisando a Tabela 2, pode-se observar que logo nas primeiras horas, há diferença entre os três primeiros tratamentos e o último (3,0 g). É importante destacar alguns horários em que tal diferença é nítida, como a 40 e 48 horas, em que a média de massa para o tratamento de maior dosagem é quase metade do valor médio para os demais tratamentos.

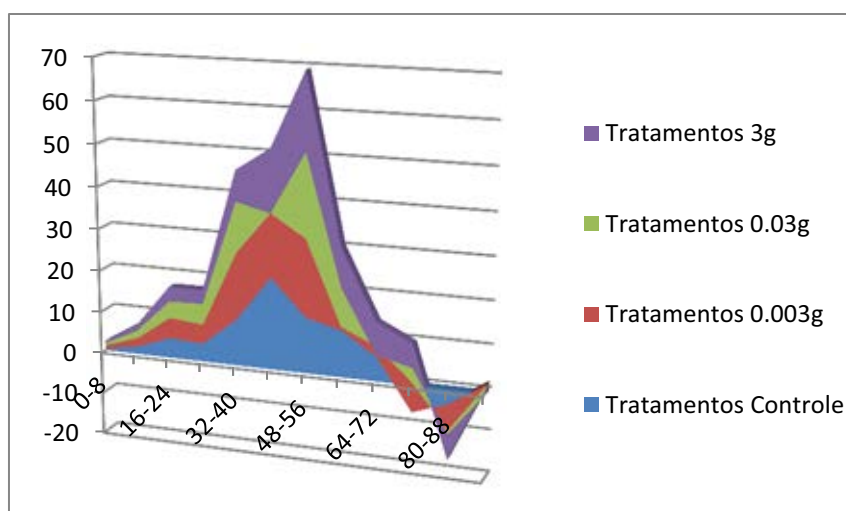
Além disso, foi feita uma análise da diferença de massas entre um período e seu imediatamente anterior, com o intuito de observar quais foram os períodos em que as larvas estavam ganhando mais peso. A Tabela 3 mostra o ganho de massa para cada um dos períodos do experimento, feita subtraindo-se a média das massas para cada uma das horas pela média das massas da hora anterior:

**Tabela 3.** Ganho de massa (mg) para cada um dos tratamentos, entre diferenças de intervalos de tempo regulares.

| Horas | Tratamentos |        |        |       |
|-------|-------------|--------|--------|-------|
|       | Controle    | 0.003g | 0.03g  | 3g    |
| 0-8   | 0,45        | 0,755  | 0,605  | 0,525 |
| 8-16  | 1,82        | 2,04   | 1,885  | 1,51  |
| 16-24 | 4,75        | 4,9    | 4,015  | 3,56  |
| 24-32 | 4,36        | 4,56   | 4,965  | 3,405 |
| 32-40 | 11,04       | 15,69  | 11,905 | 7,335 |
| 40-48 | 21,785      | 14,86  | 17,125 | 14,78 |
| 48-56 | 13,205      | 18,28  | 19,635 | 18,22 |
| 56-64 | 11,055      | 0,8    | 9,055  | 9,28  |
| 64-72 | 5,825       | 2,365  | -2,04  | 7,62  |
| 72-80 | -6,315      | 6,91   | 3,49   | 5,62  |
| 80-88 | -3,285      | -6,29  | -0,825 | -6,06 |
| 88-96 | 2,135       | -0,265 | -1,955 | 1,335 |

Analisando-se a Tabela 3, pode-se verificar que o período de maior ganho de massa para os tratamentos se deu entre 32 e 56 horas do desenvolvimento (período próximo ao ponto de inflexão das curvas da Figura 7), sendo que, a partir desse intervalo, tal ganho era menor ou inexistente quando comparado com seu imediatamente anterior. Os pontos negativos na tabela demonstram os horários em que possivelmente as larvas começaram a se preparar para o processo de empupação, se alimentando menos ou cessando tal processo. A Figura 7 ilustra os dados apresentados na Tabela 3.

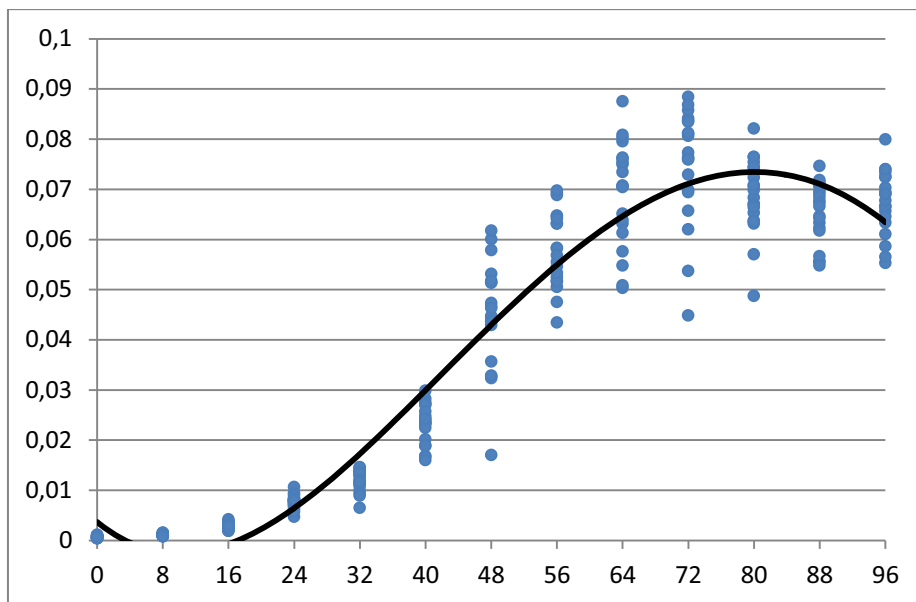
**Figura 7.** Ganho de massa em cada um dos cinco tratamentos, por intervalos de tempo.



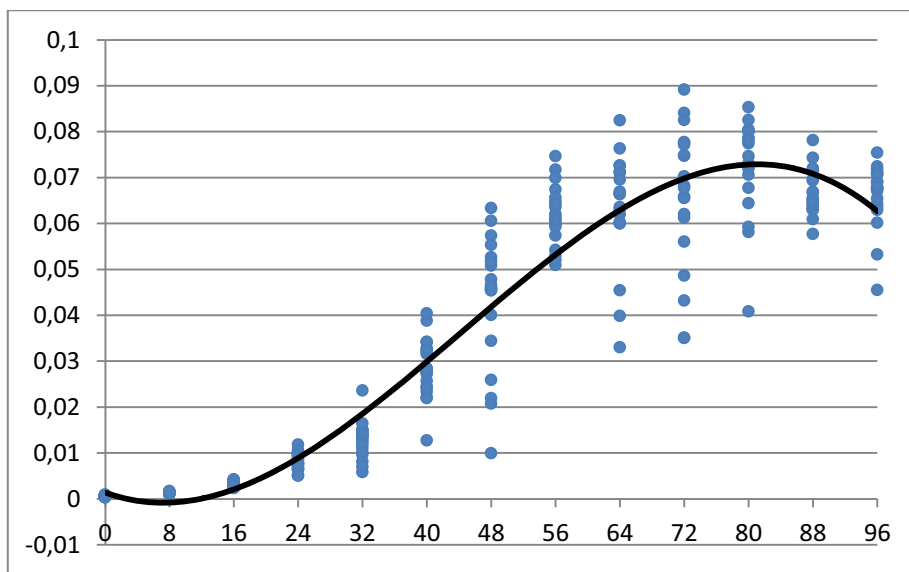
As figuras 8 a 11 comparam o crescimento sigmoide para cada um dos tratamentos, mostrando tanto a curva de crescimento para cada uma delas (em preto), quanto a

variação de massa para cada hora, mostrando os diferentes valores de massa dos 20 indivíduos pesados para cada uma das horas.

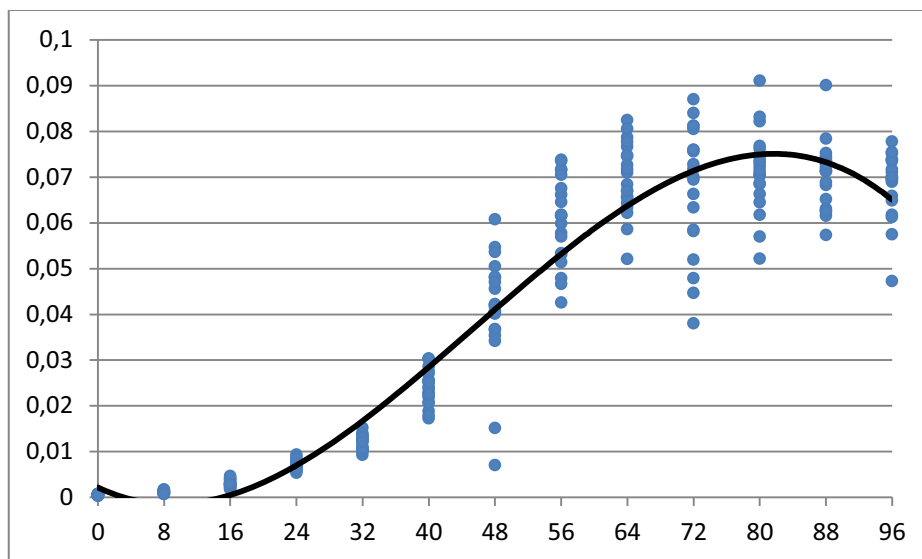
**Figura 8.** Curva de crescimento larval do grupo Controle, relacionando a massa corpórea (g) com o tempo de desenvolvimento (horas). Cada ponto indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.



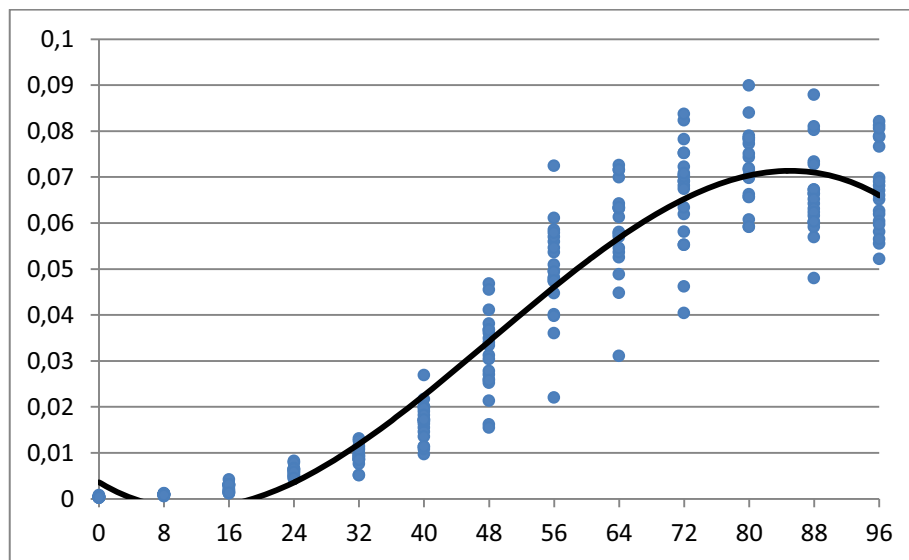
**Figura 9.** Curva de crescimento larval do grupo com 0,003g de anticoncepcional, relacionando a massa corpórea (g) com o tempo de desenvolvimento (horas). Cada ponto indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.



**Figura 10.** Curva de crescimento larval do grupo com 0,03g de anticoncepcional, relacionando a massa corpórea (g) com o tempo de desenvolvimento (horas). Cada ponto indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.



**Figura 11.** Curva de crescimento larval do grupo com 3g de anticoncepcional, relacionando a massa corpórea (g) com o tempo de desenvolvimento (horas). Cada ponto indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.



Analisando os valores de massa obtidos no experimento (Figuras 8, 9, 10 e 11) pode-se perceber que realmente houve diferenças discretas nas massas obtidas nas pesagens entre os tratamentos no decorrer do tempo, sendo que todos eles apresentaram um crescimento sigmoide, que se inicia com um crescimento baixo (lento), seguido de um período acelerado de aumento de massa (momento da primeira inflexão nos

gráficos) e depois um período em que os valores de massa param de aumentar e tendem a “estabilizar” até os indivíduos empuparem.

Após a emergência dos adultos, os mesmos foram contabilizados para a obtenção dos dados referentes à razão sexual (relação numérica entre machos e fêmeas) (Tabela 4) e taxa de sobrevivência de machos, fêmeas e total para cada um dos tratamentos (Tabela 5).

**Tabela 4.** Razão Sexual (em porcentagem) de machos e fêmeas emergidos para cada um dos tratamentos.

| Tratamentos | Machos | Fêmeas |
|-------------|--------|--------|
| Controle    | 48,44% | 51,56% |
| 0,003g      | 48,74% | 51,26% |
| 0,03g       | 44,87% | 55,13% |
| 3g          | 42,94% | 57,05% |

No referente à proporção de indivíduos de cada sexo, não foi observada nenhuma grande alteração em relação à proporção esperada (50% para cada um dos sexos), sendo que o tratamento que apresentou maior diferença foi o de 3,0 gramas (42,94% de machos contra 57,05% de fêmeas). O fato mais interessante a ser destacado é que em todos os tratamentos, a porcentagem de fêmeas emergidas foi maior do que a de machos emergidos, mas isso não quer dizer que tal fato foi efeito do anticoncepcional Ciclo 21 apenas, e pode ter sido efeito de outros fatores bióticos e abióticos, como alterações no microambiente e competição intraespecífica (VON ZUBEN, 1995).

**Tabela 5.** Número de indivíduos após a eclosão, porcentagem de sobrevivência de machos e fêmeas para cada um dos tratamentos e taxa de sobrevivência total.

| Tratamentos | Total inicial de indivíduos | Sobreviventes machos | Sobreviventes fêmeas | Sobrevivência Total |
|-------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| Controle    | 250                         | 12,4% (31)           | 13,2% (33)           | 25,60%              |
| 0,003g      | 250                         | 23,2% (58)           | 24,2% (61)           | 47,60%              |
| 0,03g       | 250                         | 28% (70)             | 34,4% (86)           | 62,40%              |
| 3g          | 250                         | 28% (70)             | 37,2% (93)           | 65,20%              |

Com estes dados de taxas de sobrevivência (Tabela 5), pode-se notar que houve uma alta mortalidade das larvas do grupo controle em relação aos grupos tratados com

anticoncepcional. Esse mesmo fato ocorreu durante o experimento com testosterona de uso veterinário de FERRARI et al. (2008), em que os autores não obtiveram uma explicação para o ocorrido. Contudo, eles não descartaram a hipótese de que a testosterona, ao promover um efeito anabólico no desenvolvimento das larvas, possa evitar a mortalidade de larvas que poderia ser esperada mesmo em situações laboratoriais controladas.

Analisando esses resultados, pode-se observar também que a porcentagem de fêmeas sobreviventes em todos os tratamentos é maior do que a de machos sobreviventes.

Além disso, o fato que mais chamou atenção no presente trabalho é que o tratamento de 3,0 g, além de apresentar a maior tendência na razão sexual a favor das fêmeas, apresentou a maior taxa de sobrevivência de todos os tratamentos realizados. Desse modo, mais estudos devem ser realizados para se chegar a uma explicação mais embasada para este fato, caso o mesmo se repita.

Por fim, no que se refere à análise do comprimento das asas dos adultos de todos os tratamentos, a diferença entre machos e fêmeas não é significativa ( $F = 1,118$ ;  $p = 1,000$ ), nos indicando que matematicamente não há diferença entre o tamanho das asas dos machos e das fêmeas.

Já quando analisamos os tratamentos individualmente, vemos que ocorre diferença significativa entre eles, independente do sexo do indivíduo mensurado ( $F = 13,344$ ;  $p < 0,0005$ ), nos indicando que há alteração no tamanho das asas conforme os tratamentos são alterados, de forma que há uma gradação de aumento do comprimento das asas, conforme se diminui a dosagem nos tratamentos apresentados no experimento.

## 5 Conclusões

Analisando os resultados dos testes estatísticos, é possível concluir que realmente existe um efeito causado pelo anticoncepcional Ciclo 21<sup>®</sup> no crescimento das larvas da espécie *C. megacephala*, sendo que o tratamento com a maior concentração do medicamento (3,0 g) resultou na diminuição da massa dos indivíduos em comparação ao tratamento Controle, para a maioria dos intervalos de hora analisados. Porém, essa alta concentração extrapolou valores que podem ser encontrados em um ser humano adulto.

Também é possível concluir que o anticoncepcional Ciclo 21 pode ter causado um efeito positivo na taxa de sobrevivência para esta espécie, havendo uma quantidade alta de sobreviventes nos tratamentos com a presença da droga, quando comparado com sua ausência (tratamento controle), afetando assim, a densidade populacional de *C. megacephala*.

Por fim, verificou-se que existe uma variação do efeito causado pelo medicamento nas larvas, relacionado à diferença de concentração no substrato alimentar, sendo que as baixas dosagens testadas não deram resultados significativamente divergentes do controle, mas uma alta concentração apresentou um efeito de retardo de crescimento, sendo necessários mais estudos a fim de se conseguir definir qual a concentração mínima para que o medicamento afete o desenvolvimento das larvas de *C. megacephala*.

## Referências bibliográficas

AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R. Forensic Entomology. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 51-65, 2004.

ATKINSON, W. D.; SHORROCKS, B. Competition on a divided and ephemeral resource: a simulation model. **Journal of Animal Ecology**, v. 50, p. 461-471, 1981.

ATKINSON, W. D.; SHORROCKS, B. Aggregation of larval Diptera over discrete and ephemeral breeding sites: the implications for coexistence. **The American Naturalist**, v. 124, n. 3, p. 336-351, 1984.

BAUMGARTNER, D. L.; GREENBERG, B. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the New World. **Journal of Medical Entomology**, v. 21, n. 1, p. 105-113, 1984.

BENECKE, M. A Brief History of Forensic Entomology. **Forensic Science International**, v. 120, p. 2-14, 2001.

BENECKE, M.; LESSIG, R. Child Neglect and forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 120, p. 155-159, 2001.

BENECKE, M.; JOSEPHI, E.; ZWEIHOFF, R. Neglect of the elderly: forensic entomology cases and considerations. **Forensic Science International**, v. 146, p. 195-199, 2004.

BRAACK, L. E. O. Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical African woodland. **Oecologia**, v. 72, n. 3, p. 402-409, 1987.

CAMPOBASSO, C. P.; VELLA, G. D.; INTRONA, F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International**, v. 120, p. 18-27, 2001.

CAMPOBASSO, C. P.; GHERARDI, M.; CALIGARA, M.; SIRONI, L.; INTRONA, F. Drug analysis in blow fly larvae and in human tissues: a comparative study. **International Journal of Legal Medicine**, v. 118, p. 210-214, 2004.

CARVALHO, C. J. B. & MELLO-PATIU, C. A. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America – **Rev. Bras. Entomol.**, v. 52, n. 3, p. 390-406, setembro 2008.

CARVALHO, L. M. L.; LINHARES, A. X.; TRIGO, J. R. Determination of drug levels and the effect of Diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in Southeastern Brazil. **Forensic Science International**, v. 120, p. 140-144, 2001.

CATTS, E. P. & GOFF, M. L. Forensic entomology in criminal investigations. **Annual Review of Entomology**, v. 37, p. 253-272, 1992.

CATTS, E. P. & HASKELL, N. H. Entomology and death: a procedural guide. **Clemson: Joyce's Print Shop**, 1991.

CHAIWONG, T.; SUKONTASON, K. L.; CHAISRI, U.; KURAHASHI, H.; SANFORD, M. & SUKONTASON, K. Effects of human contraceptive on reproduction and offspring in *Chrysomya megacephala*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 4, p. 259-265, 2011.

CROSBY, T. K.; WATT, J. C.; KISTEMAKER, A. C.; NELSON, P. E. Entomological identification of the origin of imported *Cannabis*. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 26, n. 1, p. 35-44, 1986.

DA SILVA, C.; VILLET, M. H. Effects of prophylactic progesterone in decomposing tissues on the development of *Chrysomya chloropyga* (Wiedeman) (Diptera: Calliphoridae). **African Entomology**, v. 14, n. 1, p. 199-202, 2006.

DE JONG, G. The influence of the distribution of juveniles over patches of food on the dynamics of a population. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 29, p. 33-51, 1979.

FERRARI, A. C.; SOARES, A. T. C.; GUIMARÃES, M. A.; THYSSEN, P. J. Efeito da testosterona no desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedman) (Diptera: Calliphoridae). **Medicina (Ribeirão Preto)**; v. 41, n. 1, p. 30-34, 2008.

FORNARI, A.R.S. O efeito de testosterona adicionada ao substrato alimentar na taxa de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann), *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera:

**Calliphoridae), moscas de importância forense.** Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 2010.

GOFF, M. L. & LORD, W. D. Entomotoxicology – A new area for forensic investigation. **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 15, n. 1, p. 51-57, 1994.

GOFF, M. L. & LORD, W. D. Entomotoxicology: Insects as toxicological indicators and the impact of drugs and toxins on insect development. **In:** Byrd JH, Castner JL (eds) **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations.** CRC, Boca Raton, Fla., p. 331-334, 2001.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A. & OMORI, A. I. Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on the estimations of postmortem interval. **Journal of Forensic Sciences**, v. 37, n. 3, p. 867-872, 1992.

GOMES, L. **Fechando o cerco – Ciência Forense: Polícia técnica tem novas “armas” para investigar crimes e preparar laudos periciais.** *Ciência Hoje*, v. 41, n. 246, p. 63-64, 2008.

GOMES, L. **Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais.** 1. ed. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010.

GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J. & SANCHES, M. R. Estudo da dispersão larval radial pós- alimentar em *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). **Rev. Bras. Entomol.**, v. 47, p. 229- 234, 2003.

GRELLA, M. D. & P. J. THYSSEN. Qualitative analysis of the effect of oxycodone (opioid analgesic) on the development rate of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and its importance for estimating of the post-mortem interval in Brazil. **Annals of XXIII International Congress of Entomology**, Durban, Africa, 2008.

GRELLA, M. D.; ESTRADA, D. A.; THYSSEN, P. J. The effect of scopolamine on the development of *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) and its importance for the post mortem interval estimate. **Entomología Mexicana**, v. 6, p. 870-873, 2007.

GUIMARÃES, J. H. Considerações gerais sobre moscas do gênero *Chrysomya* no Brasil. **Agroquímica (Ciba-Geigy)**, v. 24, p. 8-12, 1984.

GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; BURALLI, G. M. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). **Rev. Bras. Entomol.**, v. 23, n. 4, p. 245-255, 1979.

GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). **Rev. Bras. Entomol.**, v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.

HANSKI, I. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. **Ecological Entomology**, v. 12, n. 3, p. 257-266, 1987.

HOBSON, R. P. Studies on the nutrition on the blowfly larvae. III. The liquefaction of muscle. **The Journal of Experimental Biology**, v. 9, p. 359-365, 1932.

IMBIRIBA, A. S.; IZUTANI, D. T.; MILHORETTO, I. T.; LUZ, E. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). **Arq. Biol Tecnol.**, v. 20, p. 35-39, 1977.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L. Entomotoxicology, **Forensic Science International**, v. 120, p. 42-47, 2001.

IRELAND, S. & TURNER, B. The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. **Forensic Science International**, v. 159, n. 2, p. 175-181, 2006.

IVES, A. R. Aggregation and the coexistence of competitors. **Ann. Zool. Fennici**, v. 25, p. 75-88, 1988.

KEH, B. Scope and applications of forensic entomology. **Annual Review of Entomology**, v. 30, p. 137-154, 1985.

KINTZ, P.; TRACQUI, A.; MANGIN, P. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 30, p. 243-246, 1990.

LAURENCE, B. R. Geographical expansion of the range of *Chrysomya* blowflies. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, p. 130-131, 1981.

LEAL, T. T. S.; PRADO, A. P. & ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedemam) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. **Rev. Bras. Zool.**, v. 1, p. 41 – 44, 1982.

LINHARES, A.X. The gonotrophic cycle of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory. **Rev. Bras Entomol.**, v. 32, p. 383 – 392, 1988.

LORD, W. D. & STEVENSON, J. R. Directory of forensic entomologists. 2 ed. **Armed Forces Pest Management Board**, Washington, D.C, p. 42, 1986.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**, Editora Atheneu, São Paulo, p. 432, 2001.

MUMCUOGLU, K. Y.; GALLILI, N.; RESHEF, A.; BRAUNER, P. & GRANT, H. Use of human lice in forensic entomology. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 4, p. 803–806, 2004.

MUSVASVA E., K.A.WILLIAMS, W.J. MULLER AND M.H. VILLET. Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of *Sarcophaga (Curranella) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), and implications for estimating post mortem interval. **Forensic Sci. Intern.**, v. 120, p. 37-41. 2001.

NORRIS, K. R. The bionomics of blowflies. **Annual Review of Entomology**, v. 10, p. 47-68, 1965.

NUORTEVA, P.; NUORTEVA, S. L. The fate of mercury in sarcosaprophagous flies and in insects eating them. **Ambio**, v. 11, p. 34-37, 1982.

OLIVEIRA - COSTA J. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. Campinas: Millennium, 2003.

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). **Journal of Forensic Sciences**, v. 54, n. 1, p. 202-206, 2009.

PESSOA, S. B. & MARTINS A. V. **Parasitologia Médica**. Editora Guanabara, 11ª edição, Rio de Janeiro, p. 872, 1988.

PIEN, K.; LALOUP, M.; PIPELEERS-MARICHAL, M.; GROOTAERT, P.; DE BOECK, G.; SAMYN, N.; BOONEN, T.; VITS, K. & WOOD, M. 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**, v. 118, p. 190-193, 2004.

PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTES, L. C.; CONSTANTINO, R. Cem anos de Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). **Rev. Bras. Entomol.**, v. 52, n. 4, p. 485-492, 2008.

REED Jr, H. B. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. **American Midland Naturalist**, v. 59, n. 1, p. 213-245, 1958.

REPOGLE, J.; LORD, W. D.; BUDOWLE, B.; MEINKING, T. L. & TAPLIN, D. Identification of host DNA by amplified fragment length polymorphism analysis: preliminary analysis of human crab louse (Anoplura: Pediculidae) excreta. **Journal of Medical Entomology**, v. 31, n. 5, p. 686-690, 1994.

SADLER, D. W.; FUKU, C.; COURTE, F. & POWDER, D. J. Drug accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae. **Forensic Science International**, v. 71, p. 191-197, 1995.

SHORROCKS, B. Competition on a divided and ephemeral resource: a cage experiment. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 43, n. 3, p. 211-220, 1991.

SOUZA, C. M.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. The effect of nandrolone decanoate on the development of three species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae),

flies of forensic importance from Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, p. 111-117, 2011.

STONEHOUSE, J.; MUMFORD, J.; POSWAL, A.; MAHMOOD, R.; MAKHDUM, A. H.; CHAUDHARY, Z. M.; BALOCH, K. N.; MUSTAFA, G. & MCALLISTER, M. The Accuracy And Bias Of Visual Assessments Of Fruit Infestation By Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). **Crop Protection**, v. 23, n. 4, p. 293–296, 2004.

THOMPSON, F. C. **Nomenclator Status Statistics**. Beltsville, Maryland: 2006. The Diptera site. The BioSystematic Database of World Diptera. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm>> Acesso em 05 mar. 2013.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects**. – Ed. Cengage Learning, p.731-732, 2010.

VON ZUBEN, C. J. **Competição larval e efeitos sobre a dinâmica populacional de *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae)**. Tese de Doutorado, UNESP, Rio Claro, p. 132, 1995.

VON ZUBEN, C. J. Zoologia Aplicada: recentes avanços em estudos de entomologia forense. **Entomologia y Vectores**, v. 8, n. 2, p. 173-183, 2001.

VON ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; REIS, S. F.; GODOY, W. A. C. & V. ZUBEN, F. J. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. **Journal of Applied Entomology**, v. 120, n. 3, p. 379-382, 1996.

WELLS, J. D. & B. GREENBERG. Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. **Bull. Entomol. Res.**, 82: 133-137, 1992.

**Assinaturas**

---

Orientador: Prof. Dr. Claudio José Von Zuben

---

Aluna: Fernanda Veck dos Santos