
Ciências Biológicas

RICHARD EDGAR MORETTO

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

RICHARD EDGAR MORETTO

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

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO JOSÉ VON ZUBEN

CO-ORIENTADOR: ME. GUILHERME GOMES

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 bacharel em Ciências Biológicas

Rio Claro
2011

595.7 Moretto, Richard Edgar
M844e Efeito de Citalopram no desenvolvimento larval de
Chrysomya megacephala (F.) (Diptera: Calliphoridae) para
uso forense / Richard Edgar Moretto. - Rio Claro : [s.n.], 2011
31 f. : il., figs., gráfs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e
bacharelado - Ciências Biológicas Integral) - Universidade
Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Claudio José Von Zuben
Co-Orientador: Guilherme Gomes

1. Inseto. 2. Entomologia forense. 3. Decomposição. 4.
Varejeiras. 5. Moscas. 6. Dietas artificiais. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Sumário

RESUMO.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Coleta do Material.....	12
3.2. Manutenção dos espécimes sob condições experimentais.....	13
3.3. Preparação experimental.....	14
3.4. Análise estatística dos dados.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5. CONCLUSÃO.....	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
ASSINATURAS.....	33

Resumo

Chrysomya megacephala (Fabricius) é um díptero da família Calliphoridae, introduzido recentemente no Brasil, de forma acidental. Esta espécie possui grande importância médico-sanitária por ser veiculadora de enteropatógenos como vírus, bactérias e helmintos; causar miíases facultativas; além de ser de fundamental importância na entomologia forense pelo fato de poder ser utilizada na estimativa do tempo de decomposição de cadáveres humanos, conhecido como intervalo pós-morte (IPM), ou na descoberta da causa da morte. Sabe-se que análises toxicológicas das larvas destes insetos podem detectar traços de substâncias lícitas ou não que se encontravam nos tecidos do cadáver, ingeridos antes da morte deste. Trabalhos recentes têm demonstrado que a presença de toxinas nos tecidos em decomposição pode alterar a taxa de desenvolvimento de insetos que utilizam-se destes como local de oviposição. Assim, testes preliminares utilizando dietas artificiais em laboratório são necessários para a criação de um banco de dados como padrão para investigar e quantificar as possíveis alterações no desenvolvimento de insetos coletados da cena criminal, para não gerar dados imprecisos sobre o IPM. No estágio larval, as moscas varejeiras competem ativamente por recursos alimentares. Nesse período, o substrato alimentar pode estar contaminado por substâncias químicas. O presente trabalho visa conhecer quais os possíveis efeitos da droga Citalopram, um antidepressivo que vem sendo utilizado em larga escala em casos de suicídio, sobre o tempo de desenvolvimento larval de *C. megacephala* até a pupação, frente a diferentes dosagens que serão utilizadas, além da obtenção de dados envolvendo porcentagem de emergência e razão social para os adultos emergidos, para cada um dos diferentes tratamentos.

1. Introdução

Entomologia Forense é a área de investigação científica que faz uso de insetos, dentre outros artrópodes, associados à fauna em decomposição, buscando obter informações importantes e relevantes que auxiliem em procedimentos legais, casos litigiosos, ou ainda dentro de uma cena criminal (BENECKE, 2001).

As primeiras pesquisas em que insetos foram aplicados a procedimentos legais, como vestígios diretos em um crime, datam do ano de 1235, na China, com o pesquisador e filósofo Sung Tz'u (CATTS & HASKELL, 1991). Desde então vêm sendo aplicadas até hoje em ampla escala e para diversos fins no âmbito forense (GOMES *et. al*, 2003).

Tomando como base a ampla gama de artrópodes visitantes de cadáveres em decomposição, o grupo de insetos da ordem Diptera merece atenção especial, uma vez que eles geralmente são os primeiros a colonizarem as carcaças e pelo fato de que muitos deles apresentarem hábitos necrófagos, possuindo, portanto, receptores químicos capazes de reconhecer o odor da carne putrefata a grandes distâncias (SOUZA & LINHARES, 1997).

A ordem Diptera, de maneira geral, desperta grande interesse para estudos científicos devido principalmente ao grande número de espécies descritas, 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 para a população de modo geral (PESSOA & MARTINS, 1988; MARCONDES, 2001; STONEHOUSE *et al.*, 2004).

As moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Família: Calliphoridae) têm grande importância médico-sanitária, principalmente pelo fato de serem agentes veiculadores de enteropatógenos como vírus, bactérias e helmintos (FURLANETTO *et al.* 1984), podendo até causar miíases facultativas em animais, incluindo o homem (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES *et*

al., 1983). Moscas desse tipo são ainda de fundamental importância no ramo da entomologia forense por serem, dentre outros aspectos, boas indicadoras do tempo de decomposição de cadáveres, comumente referido como Intervalo *Post Morte*, o IPM (WELLS & GREENBERG 1992; VON ZUBEN *et al.* 1996; GOMES *et al.* 2003).

O gênero *Chrysomya* é característico por seus representantes apresentarem coloração metálica, típica da família dos califorídeos, variando de tons de verde até negro-azulados, além de apresentarem faixas ou bandas transversais opacas e enegrecidas no ápice dos segmentos abdominais. (TRIPLEHORN & JOHNSON, 2010; CARVALHO & MELLO-PATIU, 2008). O tamanho médio de um díptero adulto da família Calliphoridae varia entre 4 e 16mm de comprimento (AMAT *et. al.*, 2008).

O histórico conhecido de *Chrysomya* é de que três espécies deste gênero, originárias da África e Australásia, foram introduzidas acidentalmente no continente americano provavelmente por meio de navios (GUIMARÃES *et al.*, 1978, 1979). Em 1975, *Chrysomya megacephala* (Fabricius), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann), foram descobertas na região Sudeste do Brasil, sendo encontradas até hoje com ampla distribuição neotropical (IMBIRIBA *et al.*, 1977; GUIMARÃES *et al.*, 1978).

Chrysomya megacephala está entre as espécies mais perigosas de dípteros veiculadores de enteropatógenos, sendo que na Malásia é o principal vetor de disseminação de ovos de helmintos parasitas (SULAIMAN *et al.*, 1988, 1989). Contrapondo-se a isso, *C. megacephala* também é um importante polinizador de mangueiras da Austrália (ANDERSON *et al.*, 1982), além de ser de fácil criação sob condições laboratoriais para a utilização como fonte de criação/alimentação de animais como sapos, rãs, lagartos, pombas e peixes (ROY AND DASGUPTA, 1971).

Devido a sua importância médico-veterinária, sua fácil criação laboratorial, e a sua grande distribuição espacial, estudos com *C. megacephala* ainda merecem uma atenção extra.

Dentre as diversas associações supracitadas com outros organismos que *C. megacephala* apresenta, o que mereceu destaque no presente trabalho é o uso de dípteros dessa espécie como indicadores do intervalo de tempo entre a morte de um indivíduo e a descoberta do corpo, comumente chamado de IPM (WELLS & GREENBERG 1992; VON ZUBEN *et al.* 1996; GOMES *et al.* 2003). É possível inferir tal intervalo analisando, principalmente, a entomofauna (tanto matura, em forma de adultos alados, quanto de imaturos, em forma de larvas e/ou pupas) encontrada nos arredores da carcaça observada.

A figura 1 ilustra o ciclo de vida de *C. megacephala*, mostrando todas as formas que podem ser encontradas em um desenvolvimento holometábolo, típico de dípteros.

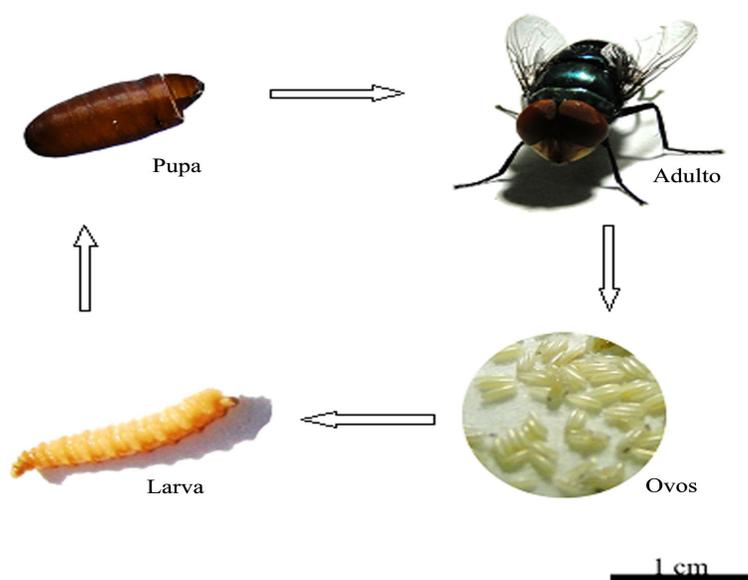


Figura 1. Ciclo de vida de *Chrysomya megacephala* (Fabricius), mostrando os estágios de larva, pupa, adulto e detalhe dos ovos recém ovipostos.

Baseado na interpretação precisa de dados encontrados, Catts & Haskell (1991) afirmam que a determinação de um IPM preciso se dá de duas formas: a primeira delas ocorre pela deposição de ovos por dípteros no substrato analisado poucas horas após o início do processo de putrefação, podendo-se saber o IPM analisando 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; já a segunda delas se dá pela sucessão da fauna de artrópodes colonizando o cadáver, indo desde insetos da ordem Diptera até aracnídeos ou outros artrópodes.

Porém, a determinação do intervalo entre a morte e o encontro do corpo (IPM) não depende exclusivamente da decomposição realizada pela entomofauna presente. Diversos fatores, bióticos e abióticos, causam alterações na taxa de decomposição cadavérica, modificando o IPM (CATTS & HASKELL, 1991). Tais fatores podem alterar não só o tempo de chegada dos insetos (adiantando ou atrasando a colonização), mas também podem alterar a taxa metabólica dessa entomofauna.

Dentre tais fatores, podemos citar:

Clima: principalmente relacionado com umidade e temperatura do ar. Como insetos são animais pecilotérmicos, eles dependem de fontes termais externas (EDWARDS et. al., 1987), sendo que quando a temperatura diminui, o metabolismo também tende a diminuir, atrasando assim o desenvolvimento.

Luminosidade: a luminosidade é um fator que interfere principalmente no processo de oviposição (GREENBERG, 1990), pois estudos comprovam que moscas varejeiras têm preferência por ovipor em condições de baixa luminosidade.

Sobreposição de gerações: algumas espécies de moscas-varejeiras permanecem colonizando o cadáver por mais de duas gerações, o que pode induzir erros na hora de se estimar o IPM (JÍRON & CARTIN, 1981).

Calor metabólico: é fato comprovado que aglomerados de massas larvais em regiões específicas da carcaça fazem com que a temperatura nesses pontos seja muito superior, quando comparada com as demais temperaturas onde não há tais aglomerados.

Efeito de drogas: determinadas substâncias químicas alteram a taxa de desenvolvimento larval para diversas espécies de moscas-varejeiras, atrasando ou adiantando o desenvolvimento e causando, portanto, uma alteração na estimativa do IPM (INTRONA *et al* 2001). A área de estudo dos efeitos de tais substâncias no desenvolvimento de insetos é denominada de Entomotoxicologia.

A Entomotoxicologia, uma área recente ligada à Entomologia Forense, vem mostrando que certas substâncias, especialmente aquelas ligadas à alimentação, podem afetar a taxa de desenvolvimento de insetos necrófagos, uma vez que estes ingerem os tecidos com essas substâncias, que são então introduzidas no seu organismo (INTRONA *et al* 2001). Desse modo, a investigação dos efeitos causados por certas substâncias no desenvolvimento de insetos deve ser levada em conta, visto que, se este fator for desconsiderado, irá gerar dados imprecisos sobre a sua idade, podendo prejudicar a estimativa do intervalo pós-morte (IPM), quando esta é baseada no aspecto biológico, ou seja, no período de desenvolvimento dos insetos.

Não há dúvida de que testes preliminares são cruciais para investigar e quantificar esses efeitos, assim como a criação de um banco de dados que mostre a taxa de desenvolvimento larval sob o efeito de diversas dosagens de drogas, para diferentes espécies de importância forense, banco de dados este que permitirá assim fazer comparações de desenvolvimento larval sob os efeitos de diferentes substâncias químicas, em relação ao desenvolvimento na ausência destas.

Moscas de importância forense, também conhecidas como 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 em decomposição ou dietas especiais (ZUBEN, 2003).

As dietas artificiais para criação e manutenção de insetos em laboratório, têm aplicações tanto na pesquisa básica quanto na aplicada. Na literatura são encontrados diferentes tipos de dietas artificiais para mais de 1300 espécies de insetos, sendo que mais de 200 referem-se somente à criação de dípteros de importância agrícola (SINGH & MOORE 1985). Entretanto, o número de trabalhos destacando o desenvolvimento e o aperfeiçoamento das dietas artificiais é pequeno, principalmente para alguns grupos de insetos que apresentam dificuldade natural para serem mantidos em criações no laboratório (D'ALMEIDA & OLIVEIRA, 2002).

É muito comum na ciência forense o caso de morte de pessoas pelo consumo excessivo de drogas lícitas ou ilícitas e isso normalmente dificulta a investigação criminal pelo perito responsável, uma vez que estas drogas atuam na decomposição do corpo, modificando o modo e o tempo para que ela ocorra, tendo interferência direta no ritmo de desenvolvimento de larvas de insetos necrófagos (PANNELL *et al.*, 2001; ALUNNI-PERRET *et al.*, 2003).

Surge assim mais uma nova aplicação da entomologia forense: estudos que procurem analisar os possíveis efeitos de diferentes substâncias químicas na taxa de desenvolvimento das formas larvais de insetos necrófagos (Diptera em especial), estimando com maior precisão o intervalo pós-morte (IPM), sendo, este, representado pelo intervalo de tempo, mínimo e máximo, entre a morte e a descoberta do corpo (CATTS, 1992).

Outro fato que vem sendo estudado ultimamente refere-se aos efeitos de diferentes dosagens destas drogas na dieta, fazendo referência às possíveis dosagens toxicológicas nos corpos humanos, pela análise do desenvolvimento larval destes dípteros (SADLER *et al.*, 1995; CARVALHO *et al.*, 2001; HÉDOIN *et al.*, 2001).

Efeitos no comportamento destes insetos de importância forense praticamente não são relatados na literatura, sendo analisadas apenas mudanças no tempo de pupação das espécies, interferindo assim na estimativa do IPM nestes estudos.

Analisando casos recentes de suicídio, pode-se verificar que um dos principais medicamentos encontrados na grande maioria deles é o “Citalopram”, um antidepressivo relativamente novo recomendado para pessoas com altos níveis de depressão (JONASSON & SALDEEN, 2002), comercializado em mais de 70 países, sendo prescrito para mais de 30 milhões de pacientes em todo o mundo, principalmente aqueles que sofrem de uma ampla gama de distúrbios psiquiátricos, embora seja utilizado principalmente como antidepressivo (NEMEROFF, 2003).

O princípio ativo “Citalopram” atua no corpo humano fazendo a recaptção da serotonina (neurotransmissor que atua na liberação de alguns hormônios e na regulação do ciclo circadiano). Em geral, os indivíduos depressivos têm níveis baixos de serotonina no sistema nervoso central. Neste caso, deve-se administrar inibidores da recaptção de serotonina pelos neurônios, como a fluoxetina, resultando em maior disponibilidade deste neurotransmissor na fenda sináptica (MCELROY *et.al*, 2003).

Desta forma, ele é muito estudado pelo fato de ser a quarta droga mais encontrada em casos de suicídio por overdose de medicamentos, sendo que de cada quatorze mortes por esta causa, cinco delas foram estritamente causadas pelo Citalopram, contribuindo ainda nas restantes (JONASSON & SALDEEN, 2002).

Um estudo feito baseado nas concentrações de Citalopram no sangue em casos de suicídios mostra que elas variam entre 2,0 e 6,2 µg/g em casos que o Citalopram foi a única droga utilizada para a overdose, e entre 0,6 e 5,2 µg/g naqueles que ele foi acompanhado de outros medicamentos, enquanto o nível terapêutico recomendado varia entre 0,03 e 0,06 µg/g (WORM *et. al*, 1998; JONASSON & SALDEEN, 2002).

2. Objetivos

Além de contribuir diretamente para o início de formação do aluno como entomólogo forense, o objetivo principal deste trabalho foi procurar contribuir para um melhor conhecimento de efeitos de substâncias químicas que atuem nos mais diversos sistemas corporais e conseqüentemente no comportamento de moscas, buscando observar a ocorrência de mudanças no desenvolvimento larval para diferentes dosagens de Citalopram, usado como medicamento em humanos, a fim de complementar os bancos de dados relacionados à Entomologia Forense voltada à área de Entomotoxicologia, permitindo assim uma melhor estimativa do IPM pelos profissionais da área.

O padrão de desenvolvimento larval no período alimentar de pré-pupação em *C. megacephala*, considerando os efeitos causados nesta por uma substância química, são objeto de estudo central do presente trabalho, e a sua investigação é fundamental para se prever como esta droga atua na taxa de crescimento da espécie em questão, no tempo de empupação e na taxa de fecundidade dos adultos resultantes.

Assim, os objetivos gerais foram:

- Observar se a presença da substância química Citalopram altera o padrão de desenvolvimento larval e, se isso ocorrer, se ela atua como aceleradora ou retardadora de ganho de massa por tempo de desenvolvimento;
- Se concentrações diferentes da substância em questão atuam de maneiras distintas no padrão de desenvolvimento para uma mesma espécie.

As justificativas para o tipo de escolha neste trabalho são:

- Os espécimes de dípteros que serão utilizados neste trabalho (*C. megacephala*) têm importância na entomologia forense e são considerados pragas do ponto de vista

médico/sanitário/veterinário; desta forma são necessários trabalhos que procurem compreender melhor sua biologia para auxiliar em seu controle.

- Há a necessidade, por parte de peritos, de se obter estimativas mais precisas do IPM, uma vez que drogas podem vir a atuar no desenvolvimento larval, acelerando ou retardando tal processo.

Desta forma, com o conhecimento do efeito da droga Citalopram em insetos utilizados para fins forenses, haverá uma maior precisão na estimativa do IPM quando for detectada a presença desta droga, evitando, assim, possíveis erros devidos a um desconhecimento de seus efeitos na colonização de corpos em decomposição.

3. Material e Métodos

O trabalho como um todo foi realizado basicamente em três etapas: uma realizada no campo, para a coleta do material (dípteros parentais), uma segunda realizada no laboratório, na coleta de dados, observando assim quais os possíveis efeitos da droga em questão sobre a taxa de desenvolvimento larval, e ainda uma terceira etapa com a análise estatística dos dados; envolvendo, assim, os diferentes tópicos abordados no presente projeto.

3.1 Coletas do material

Foram coletados exemplares parentais adultos de ambos os sexos de *C. megacephala* (Figura 2) a partir de populações naturais no Instituto de Biociências da UNESP, em Rio Claro, SP. Iscas de carne bovina moída em estado inicial de putrefação expostas ao ar livre foram usadas como meio de atração para as moscas. As coletas foram realizadas com o auxílio de redes entomológicas, comumente chamados de “puçás”.

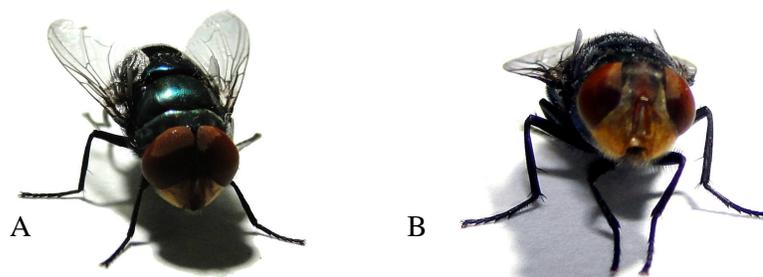


Figura 2. Foto da espécie estudada (*Chrysomya megacephala*).

A- Macho; B- Fêmea

3.2 Manutenção dos espécimes sob condições experimentais

Os exemplares coletados foram devidamente transferidos para gaiolas teladas próprias para tal fim (Figura 3), e mantidos em sala climatizada ($27 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e $70 \pm 10\%$ de UR) para obtenção da primeira geração (F_1). Os parentais coletados foram diariamente alimentados à base de açúcar e água.



Figura 3. Detalhe de uma gaiola de criação especializada.

Fígado bovino picado foi utilizado como fator de maturação dos folículos ovarianos (LINHARES, 1988), sendo colocado durante um período de aproximadamente cinco dias, suficiente para que os folículos ovarianos maturassem. Quando as fêmeas já estavam prontas para ovipor, carne bovina moída crua foi disposta em pequenos frascos plásticos para a obtenção dos ovos.

Quatro frascos contendo carne foram colocados em cada uma das gaiolas de parentais, durante um período de duas a três horas, sob temperatura de 27 °C e sob a ausência de luz, condições essas consideradas ideais para a coleta de oviposição experimental (geração F₁).

Os ovos depositados pelas fêmeas na carne foram encontrados em forma de aglomerados de pequenas massas contendo aproximadamente 100 ovos cada. Estes foram retirados da carne moída com o auxílio de pincel e pinça de ponta fina, colocados em placas de Petri com papel filtro úmido e mantidos em câmaras climáticas, sob temperatura de 27 °C e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, até o momento da eclosão das larvas (de 10 a 12 horas após a oviposição, sob tais condições experimentais). Após a eclosão, as larvas foram contadas e colocadas em dietas contendo diferentes dosagens para a droga utilizada no presente estudo.

A droga utilizada foi o Citalopram (comprimidos de 20mg – Alcytam[®], laboratório TORRENT), um antidepressivo relativamente novo recomendado para pessoas com altos níveis de depressão.

3.3 Preparação experimental

Para a realização do experimento, foram utilizadas 1.500 larvas no total, sendo 300 delas destinadas para cada um dos tratamentos propostos: controle [C], 20 mg [D], 40 mg [2D], 60 mg [3D] e 560 mg [28D] (Tabela 1). Foram pesadas 20 larvas de cada tratamento, coletadas aleatoriamente em cada um dos frascos, em intervalos de tempo regulares de 6 horas.

TABELA 1 - Descrição dos tratamentos realizados

Denominação do tratamento	Substrato alimentar larval		Correspondência à dose humana
C	125 g de dieta (Leal <i>et al.</i> , 1982)	Sem adição de Citalopram	Placebo
D	125 g de dieta (Leal <i>et al.</i> , 1982)	Adição de 0,3mg de citalopram em 125g de dieta	1 comprimido/adulto 70Kg
2D	125 g de dieta (Leal <i>et al.</i> , 1982)	Adição de 0,6mg de citalopram em 125g de dieta	2 comprimido/adulto 70Kg
3D	125 g de dieta (Leal <i>et al.</i> , 1982)	Adição de 0,9mg de citalopram em 125g de dieta	3 comprimido/adulto 70Kg
28D	125 g de dieta (Leal <i>et al.</i> , 1982)	Adição de 8,3mg de citalopram em 125g de dieta	28 comprimido/adulto 70Kg

C: Controle; **D:** dose de 20mg/diária; **2D:** 40mg/diária; **3D:** 60mg/diária; **28D:** 560mg/diária., sendo que cada comprimido corresponde à uma dose de 20mg.

Como substrato alimentar para desenvolvimento larval, foram preparadas dietas alimentares seguindo a receita proposta por LEAL *et al.*(1982), a qual possui fontes de proteínas e carboidratos, extremamente necessárias para o desenvolvimento destas larvas de dípteros. Cada frasco de tratamento recebeu a mesma quantidade de base alimentar: 125g (Figura 4).



Figura 4. Frascos contendo 125g de dieta cada.

Foram feitas quatro diferentes dosagens da droga para verificar qual é o efeito da mesma sob diferentes concentrações sobre o desenvolvimento larval de *C. megacephala*, expressas na tabela acima (Tabela 1). Todos os cinco frascos foram mantidos em BOD a 27 °C, até o último instar larval (período pré-pupal).

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 a pesagem dos 20 indivíduos de cada um dos tratamentos, os mesmos foram devolvidos a seus respectivos frascos, mantendo desta forma a densidade inicial constante e evitando, assim, problemas na taxa de desenvolvimento quando há alteração na densidade larval (IRELAND & TURNER, 2006; VON ZUBEN, 1995).

Após o término das pesagens, marcado a partir do momento em que as larvas começam a apresentar comportamento inicial de dispersão pós-alimentar (locomover-se intensamente por todo o frasco em busca de um local adequado para a empupação), cada um dos frascos foi colocado dentro de potes maiores contendo serragem (Figura 5), para que as larvas utilizem-na como substrato de empupação. Após os potes serem vedados com tecido elástico telado, foram mantidos em BOD à 27°C até a emergência dos adultos.



Figura 5. Detalhe do pote plástico contendo serragem e do frasco de vidro com as larvas em seu interior

No momento em que todos os adultos já tinham emergido, eles foram anestesiados em baixas temperaturas e contados visualmente, fazendo, assim, um levantamento de dados sobre a proporção de indivíduos machos e fêmeas.

3.4 Análise estatística dos dados

Para uma análise estatística, a fim de se comparar cada um dos tratamentos levando em consideração qual seria o tempo de empupação para cada um dos tratamentos em que as larvas foram submetidas, foram utilizados programas de modelagem estatística como o SAS[®] *proc glm, one way*. A análise de variância foi analisada por testes de ANOVA e testes de Comparação Múltipla de Duncan, com nível de significância de 5%, comparando as médias da variável chave (massa) dos indivíduos para cada um dos tratamentos propostos.

Os resultados foram apresentados sob a forma de gráficos e tabelas de desenvolvimento larval para cada um dos tratamentos.

O presente trabalho contou com duas repetições para cada tratamento, realizadas em intervalos de tempo diferentes, visando, assim, aumentar a confiabilidade do experimento em questão.

A figura abaixo (Figura 6) ilustra de forma resumida toda a metodologia utilizada para a realização do trabalho.

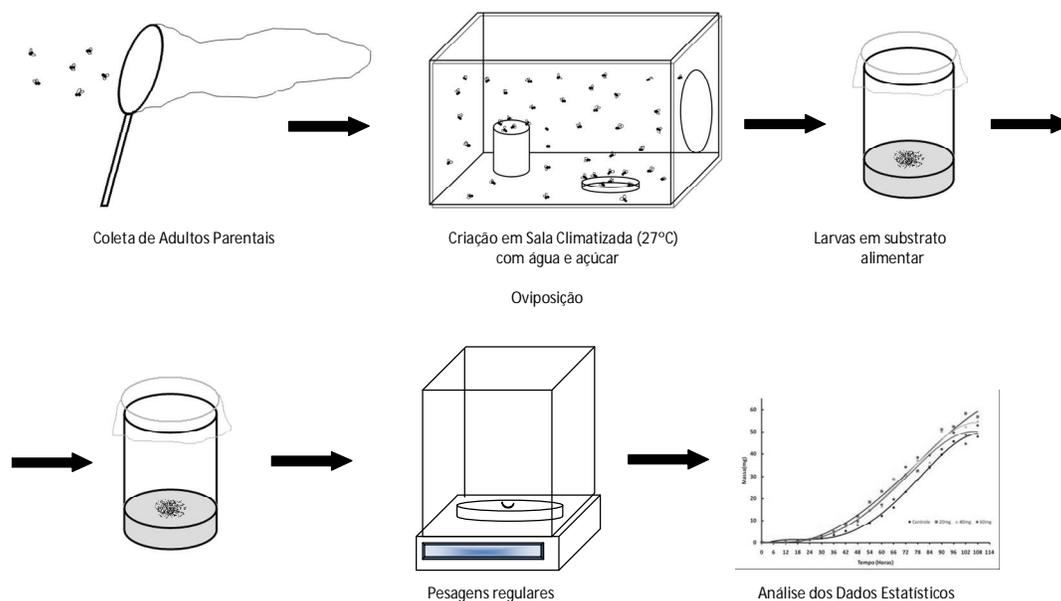


Figura 6. Esquema de toda metodologia utilizada na realização do experimento.

4. Resultados e Discussão

A análise estatística dos dados mostrou que há diferença significativa na taxa de desenvolvimento larval em *C. megacephala* entre os diferentes tratamentos e o controle ($F=42,21$; $p<0,0001$; $n= 3198$), comprovando que Citalopram causa algum tipo de efeito sobre o desenvolvimento das larvas.

Já havia sido observado através de trabalhos anteriores que drogas causam algum tipo de modificação no padrão de desenvolvimento larval, não só para *C. megacephala*, mas também para outros insetos visitantes de carcaças em decomposição. Isto já foi observado, por exemplo, por GOMES, em 2006, no qual foi verificado que o ansiolítico Diazepam causou uma alteração no padrão de desenvolvimento larval para *C. megacephala*, de modo a retardar tal processo. CLARK *et. al.* (2006), constataram as mesmas alterações na duração do desenvolvimento larval, causadas por substâncias tóxicas, para *Lucilia sericata*, outro díptero de importância forense.

Quando são observados os dados relativos a cada uma das dosagens realizadas, encontra-se como resultado que nem todas agem da mesma forma sobre o padrão de desenvolvimento para a espécie citada, uma vez que foi observado que dosagens baixas da substância retardam o desenvolvimento, enquanto que uma dosagem muito alta acelera o desenvolvimento, em relação à curva controle.

Isso quer dizer que o princípio ativo Citalopram causa alteração no tempo de desenvolvimento larval para *C. megacephala*, tanto nas doses iniciais (20, 40 e 60mg), como para a dosagem considerada letal para humanos (560mg).

Tomando como base comparativa cada um dos tratamentos, os testes mostram que não há diferença significativa entre os tratamentos de 20, 40 e 60mg, mas sim quando comparados com o controle e a dosagem máxima de 560, uma vez que as dosagens iniciais retardam o processo de crescimento e o tempo de empupação, enquanto que a dosagem alta acelera o mesmo.

Tal resultado foi alcançado através dos testes *a posteriori* de Duncan, em que os tratamentos de 20mg, 40mg, e 60mg foram agrupados em um único grupo [C], enquanto que o Controle e a dosagem máxima de 560mg foram agrupados em grupos distintos [A] e [B], comprovando que as dosagens iniciais não diferem entre si, mas diferem significativamente quando comparadas ao controle e à dosagem superior. A tabela abaixo (Tabela 2) ilustra os resultados do teste de Duncan:

Tabela 2. Resultados do teste *a posteriori* de Duncan, mostrando os agrupamentos [A, B e C] segundo índices de significância.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	0.0274358	640	560mg
B	0.0244937	640	Controle
C	0.0220842	640	20mg
C	0.0212964	638	40mg
C	0.0210700	640	60mg

É bom destacar que tanto a dosagem inicial de 20mg de princípio ativo, quanto a de 40mg, são dosagens prescritas normalmente para pacientes necessitados de tal medicação (WORM, 2008). Já a dosagem de 60mg, utilizada também no experimento, é prescrita somente em casos extremos da necessidade do medicamento, representando três comprimidos/dia (comprimidos comuns geralmente apresentam 20mg/comprimido).

Ainda com relação aos testes de Duncan, tem-se que, através do programa de monitoramento estatístico SAS[®], categorias alfabéticas (A, B, C...) foram atribuídas para cada uma das horas em cada um dos tratamentos, comparando, assim, quais são, e onde estão as reais diferenças significativas durante o desenvolvimento larval em cada um dos tratamentos utilizados. Dessa forma, pode-se verificar numericamente quais são os pontos em que há diferença significativa de massa de uma hora a outra, tornando observável quando as larvas estavam realmente se desenvolvendo.

A tabela abaixo (Tabela 3) ilustra estas categorias alfabéticas para o teste de Duncan, sendo que a presença de letras iguais para horas diferentes significa o não crescimento relativo larval, uma vez que isso mostra que não houve diferença significativa entre essas horas conjugadas. Já quando as letras são diferentes entre as horas, as larvas estão passando

por um processo de crescimento, uma vez que o teste mostra que está ocorrendo diferença significativa nesses casos.

Tabela 3. Categorias alegóricas para o teste de Duncan, mostrando quando há e quando não há diferenças significativas para cada uma das horas e cada um dos tratamentos.

Horas	Teste de Duncan para tratamento*hora				
	Controle	20mg	40mg	60mg	560mg
0	I	I	I	H	K
6	I	I	I	H	K
12	I-H	I	I	H	K
18	I-H	I	I	H	K
24	H	I-H	I-H	H-G	K-J
30	G	I-H	I-H-G	H-G	J-I
36	G	H-G	H-G-F	G-F	I-H
42	G-F	G	F	E-F	H
48	F	F	F	E	G
54	E	E	E	D	F
60	D	D	D	C	E
66	C	D-C	C	B	D
72	B	C-B	C	B	C
78	A	B-A	B	A	B
84	A	B-A	B-A	A	A
90	A	A	A	A	A

Estudos recentes de casos de suicídios em que o princípio ativo Citalopram foi encontrado dentre os medicamentos principais da causa da morte, reportam que quantidades muito altas desta droga são necessárias para causar a morte de uma pessoa, variando em torno de 10 vezes a quantidade prescrita diária para tratamentos terapêuticos (JONASSON & SALDEEN, 2002). Estudos de concentrações de sangue mostram que a quantidade fatal de Citalopram varia entre 2.0 e 6.2 microgramas por grama de massa corporal, em casos que ele foi utilizado sozinho como meio de suicídio por overdose química (WORM, 1998). Desta forma, os resultados do tratamento feito com essa dosagem extrapolada de 560mg, proporcionalmente àquela descrita nos casos de suicídio por overdose de Citalopram, mostram que essa dosagem letal para humanos causa um aceleração significativo no que diz respeito ao desenvolvimento larval de *C. megacephala*.

Estes resultados nos mostram que, mesmo em se tratar de um medicamento relativamente comum no que condiz ao uso público, as alterações temporais no desenvolvimento larval de um díptero de alta importância forense existem quando na presença desta substância acelerando ou retardando tal. Sabendo-se, assim, quais são essas alterações para cada uma das dosagens acima citadas (terapêuticas ou dosagem de overdose), pode-se inferir com uma precisão muito maior o Intervalo *Post-Morte* de um determinado ser, uma vez que os resultados mostraram que há diferença significativa entre os todos os tratamentos e o controle.

Comparando-se agora a média das massas durante o desenvolvimento, verificou-se que as médias de massa final para a dosagem de 560mg e para o frasco controle foram relativamente maiores, quando comparadas com dosagens inferiores de 20, 40 e 60mg. Ainda nesse caso, é interessante notar que não há um padrão fixo de pesos médios finais para nenhuma das três dosagens baixas, sendo que as médias de massa das dosagens de 20 e 60mg ficaram bem abaixo quando comparadas com os outros três tratamentos (controle, 40 e 560mg). Isso nos mostra que, teoricamente, os adultos deveriam apresentar tamanhos diferentes também, mas tal hipótese não foi foco para este trabalho. As médias das massas e os respectivos desvios padrões estão apresentados na Tabela 4 a seguir:

Tabela 4. Média das massas individuais (mg) e Desvios Padrões de 40 indivíduos pesados por intervalo de tempo utilizado (6 horas), para todos os tratamentos propostos

Horas	Tratamentos									
	Controle		20mg		40mg		60mg		560mg	
	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.
0	0,09	0,06	0,09	0,06	0,10	0,08	0,10	0,09	0,04	0,06
6	0,10	0,08	0,10	0,08	0,11	0,13	0,12	0,13	0,05	0,08
12	0,74	0,40	0,67	0,57	0,39	0,29	0,78	0,60	1,32	1,05
18	1,03	0,30	1,20	0,43	0,83	0,36	1,05	0,38	1,22	0,38
24	2,63	0,81	2,28	1,22	1,68	0,63	2,43	1,19	2,63	1,02
30	4,22	1,33	4,02	1,90	3,84	1,27	4,12	1,64	5,96	8,08
36	7,74	1,64	7,37	3,05	6,89	2,32	6,78	2,77	8,45	1,77
42	11,11	3,34	9,97	3,47	9,32	3,33	10,75	4,05	11,56	2,97
48	13,76	6,20	15,77	6,84	12,11	5,83	13,27	6,09	19,13	6,16
54	24,15	10,77	27,51	12,03	20,49	11,11	25,40	14,10	34,93	8,58
60	35,45	11,74	38,75	7,02	28,71	16,30	32,89	18,04	39,70	0,06
66	48,54	12,13	43,87	18,59	40,26	16,50	38,58	22,28	53,41	14,46
72	55,44	12,11	46,65	21,82	44,44	19,88	43,62	16,32	59,29	15,79
78	61,64	11,36	50,87	21,96	55,05	20,78	52,55	18,96	67,61	7,85
84	63,16	10,15	49,54	18,61	56,91	23,55	51,67	16,90	70,37	6,55
90	62,14	10,80	54,72	11,65	61,66	1,94	53,02	14,88	63,30	7,82

Ainda relacionado à média de massas, os resultados mostram que as médias de massa começam a aumentar rapidamente em tempos distintos (início do ponto de inflexão no gráfico), ocorrendo de forma muito mais rápida para o tratamento de 560mg do que para os demais tratamentos, com menores quantidades da substância.

Foi feita ainda uma análise da diferença de massas entre um período e seu respectivo anterior, buscando observar quais eram os períodos em que as larvas estavam ganhando mais peso. A Tabela 5 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 5. Ganho de massa para cada um dos tratamentos, entre diferenças de intervalos de tempo regulares.

Horas	Tabela de Ganho de Massas				
	Tratamentos				
	Controle	20mg	40mg	60mg	560mg
0-6	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
6-12	0,64	0,57	0,28	0,66	1,27
12-18	0,29	0,54	0,45	0,27	-0,10
18-24	1,60	1,08	0,85	1,38	1,42
24-30	1,59	1,74	2,16	1,70	3,33
30-36	3,52	3,35	3,05	2,66	2,49
36-42	3,37	2,60	2,43	3,97	3,12
42-48	2,66	5,81	2,80	2,52	7,57
48-54	10,39	11,74	8,38	12,13	15,80
54-60	11,30	11,24	8,22	7,49	4,77
60-66	13,09	5,13	11,55	5,69	13,72
66-72	6,90	2,78	4,18	5,04	5,88
72-78	6,20	4,22	10,61	8,93	8,31
78-84	1,52	-1,33	1,86	-0,88	2,77
84-90	-1,01	5,19	4,75	1,36	-7,07

Analisando a Tabela acima, vemos que o período de maior ganho de massa para a grande maioria dos tratamentos se deu entre 48 e 66 horas do desenvolvimento, sendo que, a partir desse intervalo, tal ganho era menor, não significando que não estavam ganhando massa. Os pontos negativos na Tabela 5 demonstram os horários em que as larvas começaram a perder massa, devido ao fato de cessarem o processo de alimentação ou de ficarem “rodando” no pote, fato este que marca o período em que elas já querem começar a dispersar para empupar.

O gráfico abaixo (Figura 7) complementa a tabela de ganho de massa anteriormente apresentada, ilustrando cada um dos intervalos e seus respectivos ganhos de massa:

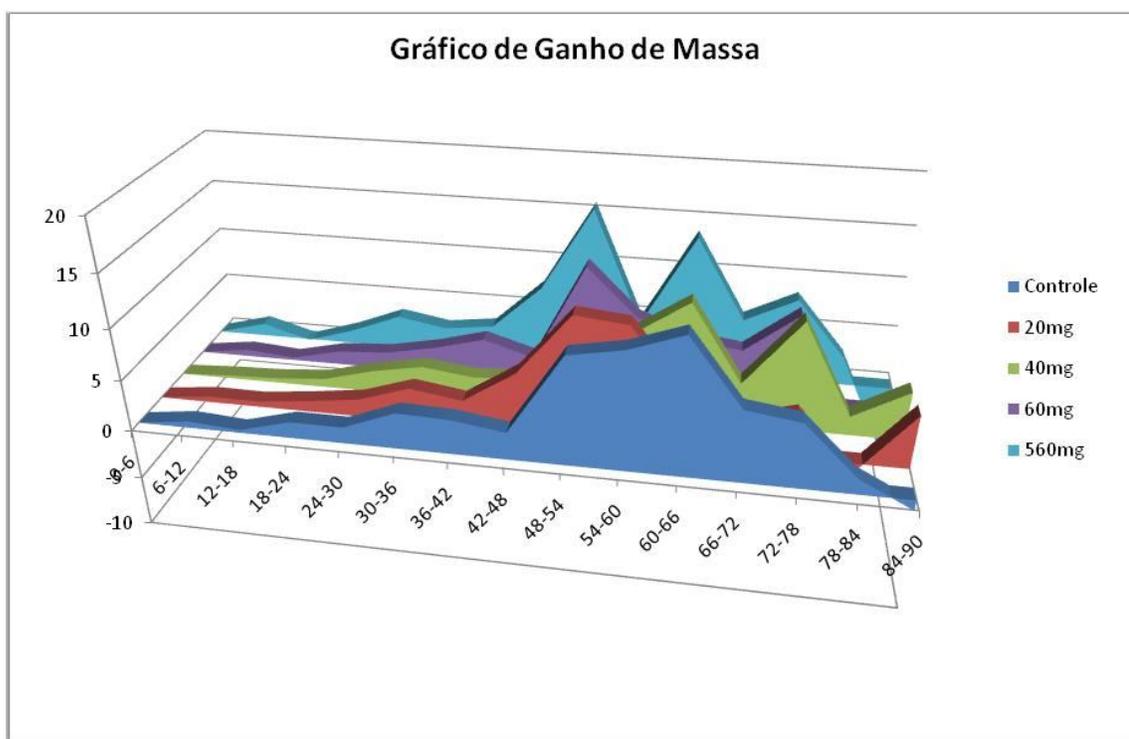


Figura 7. Ganho de massa em cada um dos cinco tratamentos, por intervalos de tempo.

O gráfico acima nos mostra em que períodos ocorreu a aceleração do crescimento larval em cada uma das curvas de desenvolvimento (período de inflexão gráfica), períodos esses onde os ganhos de massa conceberam os maiores valores. LEVOT *et. al.* (1979), observou que o período de rápido crescimento larval se dá aproximadamente entre 42 e 72 horas para tratamentos controles (sem adição de moduladores, como por exemplo substâncias químicas).

Os resultados apresentados acima comprovam tal citação, sendo que, dependendo do tratamento utilizado, tal intervalo de crescimento acelerado pode diminuir ou aumentar.

Quando se analisa a média das massas para cada um dos tratamentos, verifica-se que não há uma diferença tão marcante entre os experimentos, uma vez que todos apresentam um mesmo padrão, que se inicia com um crescimento lento, seguido de um período de crescimento rápido e acelerado, até um ponto em que as massas começam a se estabilizar, momento esse quando o ganho de massa se torna quase nulo.

A sequência de figuras abaixo (Figuras 8, 9, 10, 11 e 12) compara o crescimento sigmóide 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 a massa mínima e máxima dos 40 indivíduos pesados para cada uma das horas, somando-se as duas repetições.

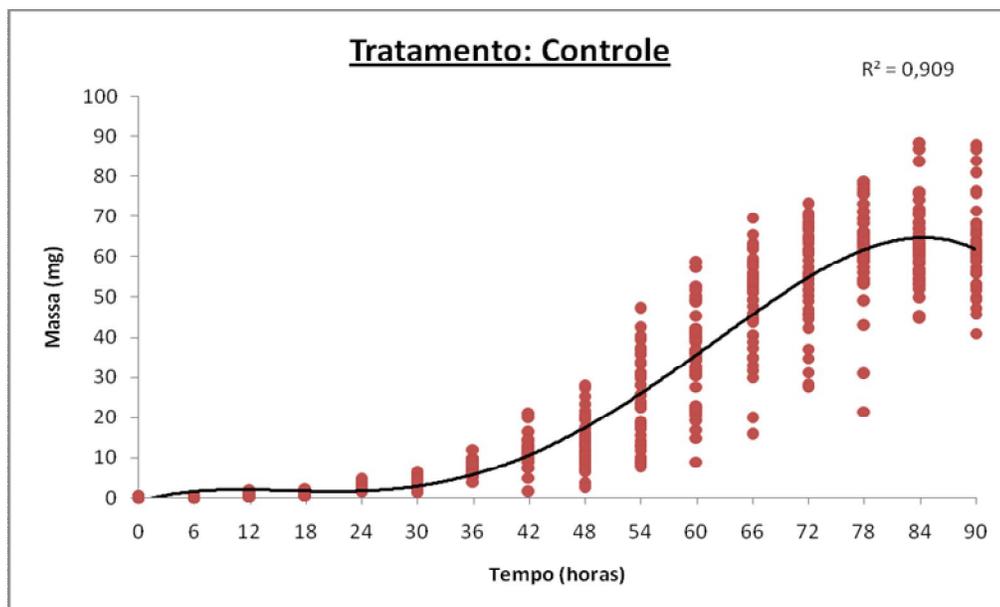


Figura 8. Gráfico mostrando os dados obtidos para as pesagens do grupo controle. Cada ponto em vermelho indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.

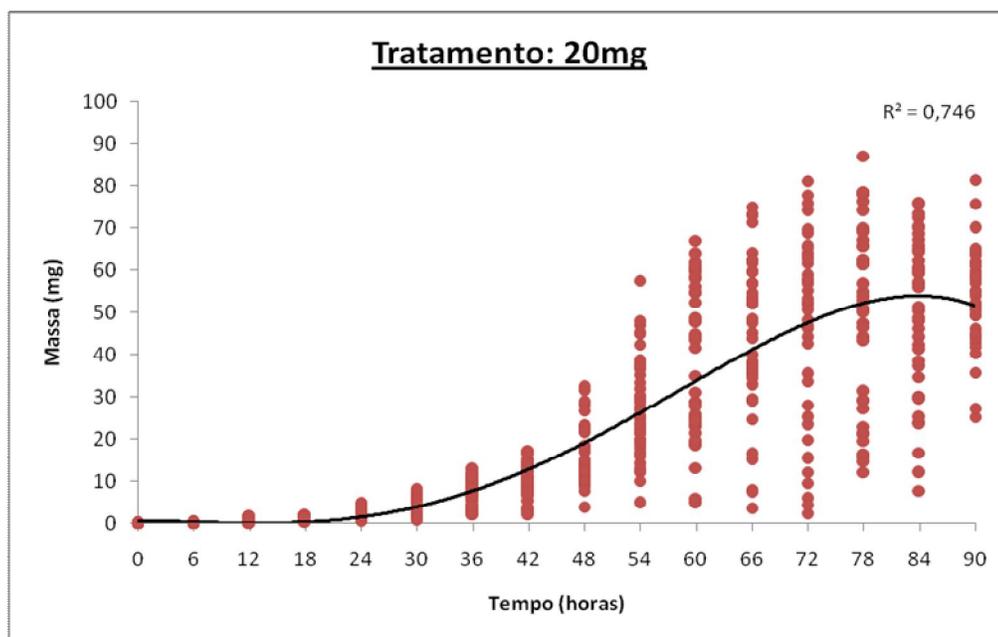


Figura 9. Dados obtidos para as pesagens do tratamento com 20mg. Cada ponto em vermelho indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.

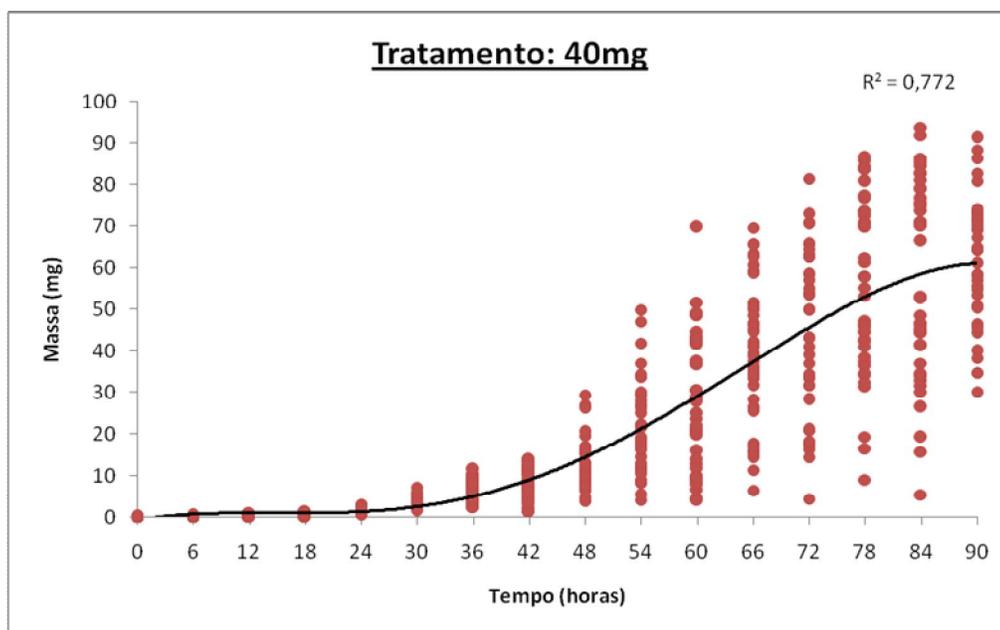


Figura 10. Dados obtidos para as pesagens do tratamento com 40mg. Cada ponto em vermelho indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.

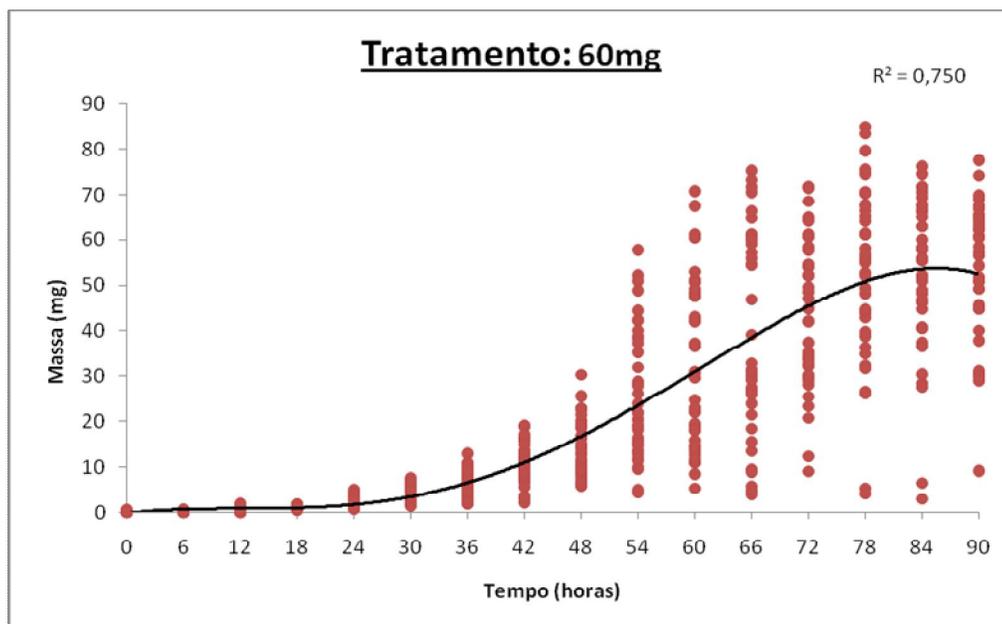


Figura 11. Dados obtidos para as pesagens do tratamento com 60mg. Cada ponto em vermelho indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.

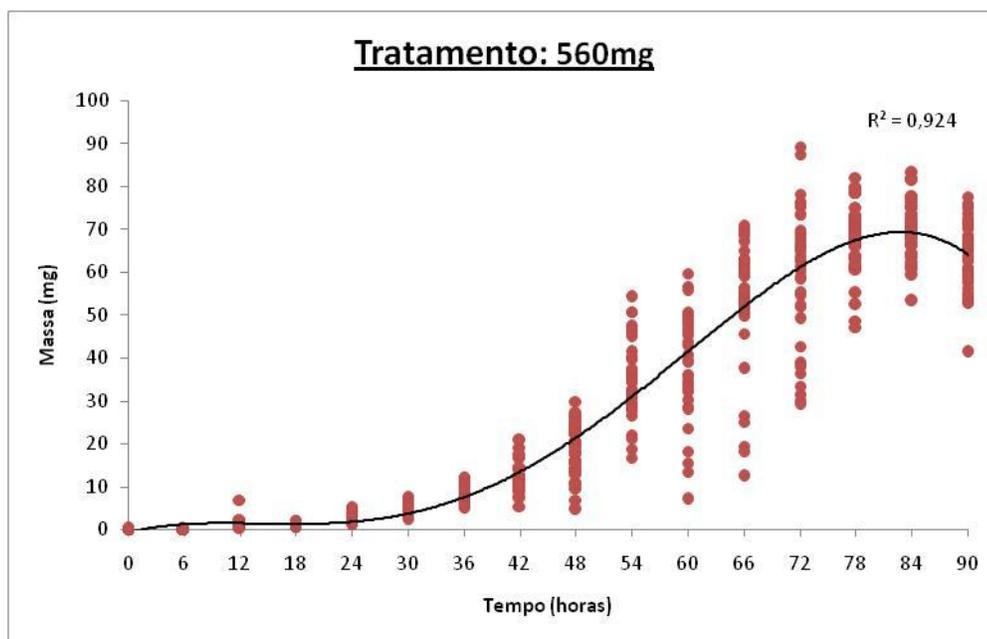


Figura 12. Dados obtidos para as pesagens do tratamento com 560mg. Cada ponto em vermelho indica o peso anotado de uma larva para aquele momento.

Após a empupação e emergência dos adultos, os mesmos foram contados para se obter a razão sexual de machos e fêmeas, além do cálculo da taxa de sobrevivência de machos, fêmeas e total para cada um dos tratamentos.

A Tabela 6 mostra os dados numéricos obtidos através da contagem de machos e fêmeas emergidos para cada um dos tratamentos, obtendo-se assim a razão sexual:

Tabela 6. Razão Sexual (em porcentagem) de machos e fêmeas emergidos para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Machos	Fêmeas
Controle	42,20%	57,80%
20mg	38,75%	61,25%
40mg	49,20%	50,80%
60mg	52%	48%
560mg	39,10%	60,90%

Com a análise da Tabela 6, verifica-se que há diferenças entre a proporção de machos e fêmeas para os cinco tratamentos, em relação ao que seria esperado (50% para cada um dos sexos). O interessante é notar que na grande maioria dos tratamentos, a porcentagem de fêmeas emergidas foi maior do que a de machos emergidos, mas isso não quer dizer necessariamente que tal fato foi efeito do Citalopram em si, dependendo de outros fatores como alterações ambientais e competição intra-específica (ZUBEN, 2003).

Quando observamos a taxa de sobrevivência (Tabela 7), verificamos que o número de sobreviventes foi muito maior no frasco denominado controle, em que não havia a presença da droga, do que nos outros quatro frascos, e que mais uma vez, a porcentagem de fêmeas sobreviventes é maior do que a de machos sobreviventes, possivelmente porque a quantidade de fêmeas emergidas também fora maior.

Tabela 7. Porcentagem de sobrevivência de machos e fêmeas para cada um dos tratamentos e taxa de sobrevivência total.

Tratamento	Machos	Fêmeas	Sobrevivência
Controle	20,3% (122)	27,8% (167)	48,10%
20mg	13,5% (81)	21,3% (128)	34,80%
40mg	20% (120)	20,6% (124)	40,60%
60mg	6,5% (39)	6% (36)	12,50%
560mg	11,6% (70)	18,1% (109)	29,80%

As possíveis causas dessas diferenças são, possivelmente, em decorrência da substância Citalopram, que levou a uma taxa de morte considerável, quando comparada com o Controle. Outros fatores podem também ser levados em conta, e entre eles, merece destaque o fato de ter havido 300 larvas para cada 125 gramas de dieta alimentar, fato esse que pode vir a gerar competição entre elas por alimento, podendo ocasionar morte de parte dos indivíduos (OLIVEIRA-COSTA, 2007). Outro fato que merece ser lembrado é que uma porcentagem não estimada de larvas permaneceu na dieta mesmo após o tempo de empupação ter passado e grande parte das demais terem emergido. Estas, não conseguindo empupar por motivos não mensurados, morreram aglomeradas ainda dentro dos potes com dietas. Assim, não se deve atribuir o número alto de morte exclusivamente à presença de droga na dieta alimentar das larvas, mas sim levar em conta outros fatores ao longo do estudo.

Como resultado final experimental, para mostrar que a substância química Citalopram causa interferência no padrão de crescimento larval, foi construído um gráfico sobrepondo todos os valores obtidos através de todas as pesagens, apresentado abaixo (Figura 13)

Padrão de Desenvolvimento larval de *Chrysomya megacephala*

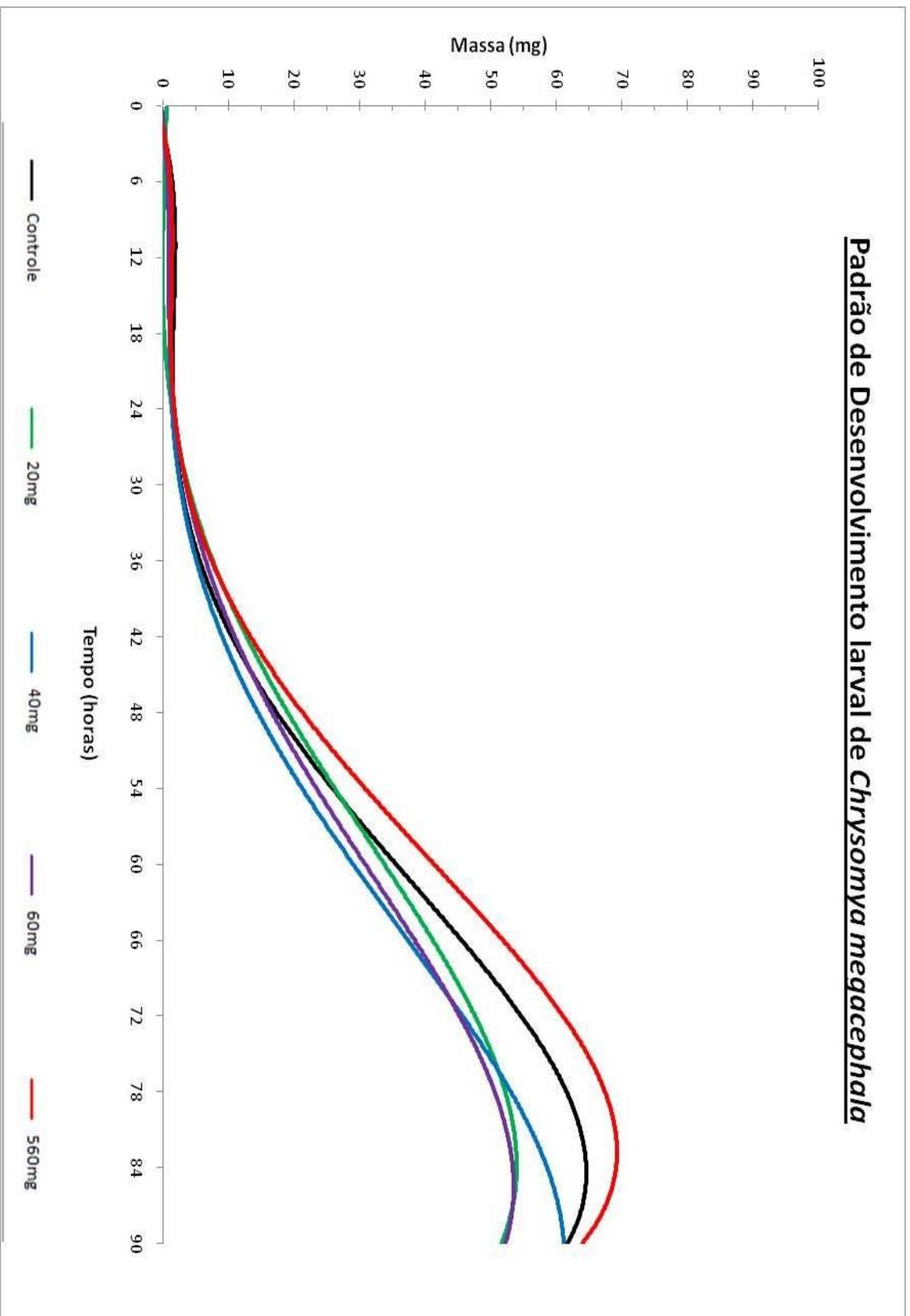


Figura 13. Gráfico mostrando o padrão de crescimento larval de *Chrysomya megacephala* para os cinco tratamentos propostos: Controle, 20, 40, 60 e 560mg de Citalopram.

5. Conclusão

Com base na análise estatística dos resultados, tanto gráfica quanto numérica, pode-se concluir que o princípio ativo Citalopram (Alcytam®) tem efeito no desenvolvimento larval de *C. megacephala*, de modo a acelerar o crescimento larval em baixas concentrações e retardar o mesmo em concentrações elevadas.

Também é possível concluir que a substância Citalopram causa um efeito negativo na taxa de sobrevivência para esta espécie, havendo uma quantidade baixa de sobreviventes nos tratamentos com a presença de droga, quando comparado com sua ausência, afetando assim, a densidade populacional de *C. megacephala*.

Assim, verifica-se que o estudo dos efeitos da substância química Citalopram é fundamental para estudos forenses, pois com ele comprovou-se que altas concentrações (560mg) sanguíneas da droga fazem com que ocorra um aceleração no processo de desenvolvimento larval para *C. megacephala*, enquanto que em dosagens baixas (dosagens homeopáticas – 20, 40 e 60mg) ocorre o inverso, com relação ao tratamento controle.

6. Referências Bibliográficas.

ALUNNI-PERRET, V., OHAYON, P., DUVAL, H.P. & QUATREHOMME, G. **Acute Fatalpoisoning With Cyamemazine**. Forensic Sci. Int., 137: 13-15, 2003.

AMAT, E.; VÉLEZ, M.C.; &WOLFF,M. **Clave ilustrada para la identificación de los generos y las especies de califóridos (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) de Colombia**. Caldasia 30(1): 231-244, 2008.

ANDERSON, D.L., SEDGLEY, M., SHORT, J.R.T., ALLWOOD, A.J., **Insect Pollination Of Mango In Northern Australia *Mangifera indica*, Includes *Apismellifera***. Aust. J. Agr. Res. 33 (3), 541–548, 1982.

BENECKE, M., **A brief history of forensic entomology**. Forensic Science International 120:2-14, 2001.

CARVALHO, C.J.B & MELLO-PATIU, C.A. **Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America** - Revista Brasileira de Entomologia 52(3): 390-406, setembro 2008

CARVALHO, L. M. L., LINHARES A. X. &TRIGO J. R. **Determination Of Drug Levels And Effects Of Diazepam On The Growth Of Necrophagous Flies Of Forensic Importance In Southeasten Brazil**. Forensic Science International: 120, 140-144, 2001.

CATTS, E. P. & GOFF, M. L. **Forensic entomology in criminal investigations**. Annu. Rev. Entomol. 37: 253-272, 1992.

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

CHAPMAN, R. F. **The Insects: Structure and Function**. Cambridge University Press, 4th edition, Cambridge, 770p, 1998.

CLARK, K; EVANS, L AND WALL, R. **Growth rates of the blowfly, *Lucila sericata*, on different body tissues**. Forensic Sci. Int.156 (2-3): 145-149, 2006.

D' ALMEIDA, J. M. & V. C. OLIVEIRA. **Dietas artificiais para a criação, em laboratório, de *Chrysomya* (*C. megacephala*, *C. albiceps* e *C. putoria*) (Diptera: Calliphoridae).** Entomologia y Vectores 9: 79-91, 1992.

DUHAM, E. W., SCHARF, M. E. & SIEGFRIED, B. D.. **Toxicity and Neurophysiological Effects of Fipronil and Its Oxidative Sulfone Metabolite on European Corn Borer Larvae (Lepidoptera: Crambidae).** Pesticide Biochemistry and Physiology: 71, p.97-106, 2001.

EDWARDS, R.; CHANEY, B; BERGMAN, M. BITS. **Pest & Crop Newsletter;** 2, p. 5-6, 1987.

FURLANETTO, S. M. P.; M. L. C. CAMPOS, C. M. HÁRSI; G. M. BURALLI & ISHIHATA, G.K. **Microrganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil.** Revista de Microbiologia: 15(3), p.170-174, 1984.

GODOY, W. A.C., FOWLER, H. G., VONZUBEN, C. J., ZITI, L., RIBEIRO, O. B. **Larval dispersion in *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* and *Cochliomyiamacellaria* (Diptera: Calliphoridae).** J. Appl. Entomol., v. 119, p.263-266, 1995.

GODOY, W. A.C., REIS S. F., VON ZUBEN, C. J. **Larval dispersal in *Chrysomyamegacephala*, *Chrysomyaputoria* and *Cochliomyiamacellaria*(Diptera: Calliphoridae): Ecological implications of aggregation behavior.** J. Appl. Entomol., v. 120, n. 4, p. 423-426, 1996.

GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J. & GOVONE, J. S. **Comportamento de dispersão larval radial pós alimentar em moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae): busca por novas fontes de alimento.** Entomologia y Vectores. Rio de Janeiro, 9, 115-132, 2002.

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

GOMES, G. **Processos Auto-Organizados: Efeito de substancias químicas que agem no sistema nervoso sobre o desenvolvimento e padrão de dispersão larval pós-alimentar de dípteros (Calliphoridae e Muscidae).** Dissertação de mestrado, 202 páginas, 2006.

GREENBERG, B. **Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and Muscidae (Diptera).** Ann. Entomol. Soc. Am: 83, p. 1210-1214, 1990.

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

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)**. Revta.bras. Ent., v.23, n. 4, p. 245-255, 1979.

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

INTRONA, F., C.P. CAMPOBASSO & M.L. GOFF. **Entomotoxicology**. Forensic Sci. Int. 120: 42-47, 2001.

IRELAND, S. & TURNER, T. **The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria***. Forensic Sci. Int., Volume 159, Issue 2 , Pages 175-181, 2 June 2006.

JIRÓN, L.F.CARTIN, V. M. **“Insect succession in the decomposition of a mammal in Costa Rica”**. *Journal of the New York Entomology Society*. 89, p. 158-165, 1981.

JONASSON, B. & SALDEEN, T. – **Citalopram in fatal poisoning cases**. Fosensic Science International 126 (2002) 1-6, 2002.

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.: 1: p.41 – 44, 1982.

MCELROY SL; HUDSON JI; MALHOTRA S; WELGE JA; NELSON EB; KECK PE. **Citalopram in the treatment of binge-eating disorder: a placebo-controlled trial**. J Psychiatry Neurosci, 25(3): 241-54, 2003

NEMEROFF, C.B. **Overview of the safety of Citalopram**. Pscopharmacol Bull; 37:96–121, 2003.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios**, 2ª Ed. Millenium Editora, 2007.

ROY, P., DASGUPTA, B. **Behavior Of *Chrysomya megacephala*(Fabr.) And *Hemipyrellialigurriens*(Wied) As Parasites Of Living Animals Under Experimental Conditions.** S. Afr. J. Med. Sci. 36 (4), 85–91, 1971.

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

SAS Institute Inc., **SAS User's Guide: Statistics**, Version, 8th Edition, Cary, NC, USA, 2001.

SINGH, P. & R. F. MOORE **Handbook of Insect Rearing.** Elsevier Publ, 600p, 1985.

SOUZA, A. M., LINHARES, A. X. **Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality.** Med. Vet. Entomol. 11: 8-12, 1997.

SULAIMAN, S., SOHADI, A.R., JEFFERY, J. **Human Helminth Parasite Burdens On Cyclorrhaphan Flies (Diptera) Trapped At An Aboriginal Settlement In Malaysia.** Bull. Ent. Res. 79 (4), 625–629,1989.

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: 23, p.293–296, 2004.

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

ULLYETT, G. C. **Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations.** Phil. Trans. R. Soc. Lond., v. B234, p. 77-174, 1950.

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

WORM, K., DRAGSHOLT, C., KRINGSHOLM, B., **Citalopram concentrations in samples from autopsies and living persons**, INT. J. LEG. MED. 111, 188-190. 2002

ZUMPT, F. **Myiasis in man and animals in the Old World**. London, Butterworths. 267 pp, 1965.

Assinaturas

Orientador: Prof. Dr. Claudio José Von Zuben

Co-orientador: Me. Guilherme Gomes

Aluno: Richard Edgar Moretto